

1994:42

**Kriteriedokument från  
Nordiska Expertgruppen  
1994**

*Redaktörer:*

*Brita Beije*

*Per Lundberg*

### Centrum för arbetsmiljöforskning

Arbetsmiljöinstitutet forskar, utbildar och informerar om arbetsmiljö. Institutet är Sveriges största centrum för forskning inom arbetsmiljöområdet. Forskning bedrivs inom ämnesområdena fysiologi, kemi, medicin, psykologi, teknik och toxikologi. Totalt arbetar 390 personer vid AI, varav drygt 300 med forskning. AI finns i Solna och Umeå.

Vid institutet bedrivs både tillämpad forskning och riktad grundforskning. Verksamheten sker i samarbete med bl a högskolor, företagshälsövård och yrkesmedicinska kliniker, både inom och utom Norden.

Institutets satsning på 90-talet är den goda arbetsmiljön. Satsningen sker genom fyra särskilda forskningsprogram som inriktar sig på ungdomar, äldre, yrkesförare samt anställda inom sjukvården. Sedan flera år prioriterar institutet forskning om problem som: belastningsskador, lungsjukdomar, cancer och genetiska skador, hudsjukdomar, olycksfall, datorn som hjälpmedel samt elektromagnetiska riskfaktorer.

De senaste forskningsrönen inom arbetsmiljöområdet presenteras bl a institutets vetenskapliga skriftserie *Arbete och Hälsa* samt i Undersökningsrapporter. Dessutom ges Utbildningsrapporter och Metodrapporter ut.

### Arbete och Hälsa

**Redaktör:** Anders Kjellberg.

**Redaktionskommitté:** Åsa Kilbom, Elisabeth Lagerlöf, Anders Colmsjö, och Nils Stjernberg.

**Grafisk produktion:** Eva Nilsson

© Arbetsmiljöinstitutet & författarna 1994  
Arbetsmiljöinstitutet,  
171 84 Solna, Sverige.

ISBN 91-7045-290-3  
ISSN 0346-7821  
Tryckt hos Graphic Systems

## Förord

Inom Nordiska Ministerrådets projekt för dokumentation av yrkeshygieniska gränsvärden har bildats en expertgrupp för att leda arbetet. Den består för närvarande av:

•Helgi Gudbergsson	Heilsuverndarstödin, Reykjavik
•Petter Kristensen	Statens Arbeidsmiljøinstitutt, Oslo
•Per Lundberg (ordf)	Arbetsmiljöinstitutet, Solna
•Vesa Riihimäki	Institutet för arbetshygien, Helsingfors
•Adolf Schaich Fries	Arbejdsmiljøinstituttet, København

Målsättningen för arbetet är att ge ett vetenskapligt underlag inför diskussion om yrkeshygieniskt gränsvärde. Underlaget syftar till att från publicerad vetenskaplig litteratur komma fram till ett dos-respons-/dos-effekt-förhållande och en kritisk effekt, så långt detta är möjligt. Det är däremot inte expertgruppens uppgift att ge direkta förslag till gränsvärden.

Det insamlade materialet värderas och ett dokumentförslag utarbetas av författare som föreslås av expertgruppen. Den nationelle ledamoten fungerar som referent. Förslaget diskuteras av expertgruppen och bearbetas därefter av författaren innan det blir antaget.

Redaktionell granskning sker vid gruppens sekretariat vid Arbetsmiljöinstitutet i Solna. Vetenskaplig sekreterare är Brita Beije.

Endast artiklar som bedömts vara pålitliga och av betydelse för just denna diskussion åberopas i detta dokument.

Biologiska halter är angivna i mol/l eller mg/kg, lufthalter i mg/m<sup>3</sup>. Om halterna i de refererade arbetena ej är uttryckta i dessa sorter är de såvitt möjligt omräknade med angivelse av den ursprungliga sorten inom parentes.

Denna volym består av en skandinavisk version av de dokument som under 1994 har publicerats på engelska. I innehållsförteckningen finns namnen på författarna samt det datum då respektive dokument godkänts av Nordiska Expertgruppen. Dokumenten är skrivna på danska, norska eller svenska.

Solna, december 1994

Brita Beije  
Sekreterare

Per Lundberg  
Ordförande

## INNEHÅLL

Dietylamin, Dietylenetriamin, Dimetylamin, Etylendiamin (24 februari, 1994) E. Andersson, B. Järholm	7
Industriella enzymer (14 juni, 1994) J. Brisman	59
2-Etylhexansyra (14 juni, 1994) V. Riihimäki	87
1,3-Butadien (13 juni, 1994) M. Sorsa, K. Peltonen	117
Kobolt og koboltförbindelser (21 oktober, 1994) U. Midtgård, M.L. Binderup	163
N-Metyl-2-pyrrolidon (15 juni, 1994) B. Åkesson	235
Sammanfattning	260
Summary	260
Appendix (Dokument som publicerats från Nordiska Expertgruppen)	261

# Dietylamin, Dietyltriemin, Dimetylamin och Etylendiamin

Eva Andersson  
Bengt Järholm

Yrkesmedicinska kliniken  
Sahlgrenska sjukhuset  
St. Sigfridsgatan 85  
S-412 66 Göteborg

## Innehållsförteckning

### Dietylamin

- 1 Fysikalisk-kemiska data
- 2 Användning, förekomst
- 3 Kinetik
- 4 Allmän toxicologi
- 5 Organeffekter
- 6 Immunotoxicitet och allergier
- 7 Mutagenitet, genotoxicitet
- 8 Carcinogenitet
- 9 Reproduktionstoxikologi
- 10 Samband mellan exponering, effekt och respons
- 11 Forskningsbehov
- 12 Diskussion och värdering
- 13 Referenser

### Dietyltriemin

- 1 Fysikalisk-kemiska data
- 2 Användning, förekomst
- 3 Kinetik
- 4 Allmän toxicologi
- 5 Organeffekter
- 6 Immunotoxicitet och allergier
- 7 Mutagenitet, genotoxicitet
- 8 Carcinogenitet
- 9 Reproduktionstoxikologi
- 10 Samband mellan exponering, effekt och respons
- 11 Forskningsbehov
- 12 Diskussion och värdering
- 13 Referenser

### Dimetylamin

- 1 Fysikalisk-kemiska data
- 2 Användning, förekomst
- 3 Kinetik
- 4 Allmän toxicologi
- 5 Organeffekter
- 6 Immunotoxicitet och allergier
- 7 Mutagenitet, genotoxicitet
- 8 Carcinogenitet
- 9 Reproduktionstoxikologi
- 10 Samband mellan exponering, effekt och respons
- 11 Forskningsbehov
- 12 Diskussion och värdering
- 13 Referenser

### Etylendiamin

- 1 Fysikalisk-kemiska data
  - 2 Användning, förekomst
  - 3 Kinetik
  - 4 Allmän toxicologi
  - 5 Organeffekter
  - 6 Immunotoxicitet och allergier
  - 7 Mutagenitet, genotoxicitet
  - 8 Carcinogenitet
  - 9 Reproduktionstoxikologi
  - 10 Samband mellan exponering, effekt och respons
  - 11 Forskningsbehov
  - 12 Diskussion och värdering
  - 13 Referenser
- Sammanfattning  
Appendix

# Dietylamin

## 1. Fysikalisk-kemiska data

Kemiskt namn:	Dietylamin (= DEA)
CAS-nummer:	109-89-7
Synonymer:	Etanamin, dietamin
Bruttoformel:	$C_4H_{11}N$
Strukturformel:	$H_3C - H_2C - NH - CH_2 - CH_3$
Molekylvikt:	73,14
Kokpunkt:	55 °C
Smältpunkt:	-38,9 °C
Ångtryck vid 20 °C:	25,9 kPa
Densitet vid 20 °C:	0,7074
pH (1 molar)	12,5 (24)
Flampunkt:	-26 °C (closed cup)
Luktröskel:	0,06-0,13 ppm (2, 19) (0,18-0,39 mg/m <sup>3</sup> )
Omräkningsfaktorer för lufthalter vid 20 °C, 101,3 kPa:	1 ppm = 3,03 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,33 ppm

DEA är en färglös alkalisk, lättantändlig vätska med ammoniaklukt, som är blandbar med vatten, alkohol och de flesta organiska lösningsmedel. Explosionsgränsen i luft ligger mellan 1,8 % och 10,1 %. Kontakt med starka oxidanter kan orsaka eldsvåda och explosioner. Vid eldsvåda kan toxiska gaser och ångor avges (1, 20).

## 2. Användning, förekomst

### 2.1. Användning

DEA används i kemisk och farmaceutisk industri (1, 26). Den ingår i färger och hartser, används som flotationsmedel och inom gummiindustrin som accelerator. I polymerisationsreaktioner används den som katalysator och inhibitor. Andra användningsområden är vid fotoframkallning, plätering, som korrosioninhibitor och i bekämpningsmedel. DEA finns i vissa livsmedel, som spenat, äpple, bönor och ärtor samt fisk (16). DEA kan förekomma i ytvatten.

### 2.2. Lufthalter i arbetsmiljö

Uppgifter saknas.

### 2.3. Metoder för analys av lufthalter

NIOSH anger en metod där DEA adsorberas på kiselgel med efterföljande analys på GC försedd med flamjonisationsdetektor alternativt kvävespecifik detektor (15). Derivatisering vid provtagning med 1-naftylisotiocyanat och analys med HPLC försedd med UV-detektor finns också beskrivet. Reagenset kan dels bäras av en adsorbent för aktiv provtagning eller utnyttjas i en diffusionsprovtagare (12). Derivatisering från fast fas i samband med HPLC-analysen har också beskrivits (9).

## 3. Kinetik

### 3.1. Upptag

Beard & Noe (3) anger att alifatiska och cykliska aminer lätt absorberas från tarm, luftvägar och hud, men anger inga empiriska data för sina slutsatser. LD<sub>50</sub> vid perkutan applikation är av samma storleksordning som vid oral tillförsel (23).

### 3.2. Distribution

Uppgifter saknas.

### 3.3. Biotransformation

Enzymerna monoaminoxidas och diaminoxidas finns i olika vävnader särskilt i lever, njure och tarm (27). Primära och sekundära aminer omvandlas huvudsakligen till motsvarande karboxylsyra och urinämne. Vid peroralt tillfört

dietylaminydroklorid (5 g i engångsdos) utsöndrades 86 % i oförändrad form i urinen hos människa (18). Detta tyder på en låggradig biotransformation.

### 3.4. Eliminering

I ett humanförsök utsöndrades 86% av peroralt tillfört DEA (5g i engångsdos) via urinen inom ett dygn (18).

### 3.5. Biologiska exponeringsindikatorer

Uppgifter saknas.

## 4. Allmän toxicologi

### 4.1. Verkningsmekanismer, in vitro-studier

DEA är ett starkt alkaliskt ämne som har frätande och irriterande egenskaper.

### 4.2. Faktorer som påverkar toxiciteten

DEA är, i koncentrerad form, starkt alkaliskt och dess irriterande effekt torde minska vid neutralisering.

### 4.3. Allmänna fynd

LC<sub>50</sub> var 12 139 mg/m<sup>3</sup> (4 000 ppm) vid inhalation under 4 timmar hos råttor (23). För peroralt givet DEA var LD<sub>50</sub> för råttor 450 mg/kg (23) och 500 mg/kg för mus (17). Vid hudapplikation på kanin var LD<sub>50</sub> 820 ml/kg (23). Inandning av mättad ånga (26 000 ppm, beräknat värde som ej finns i originalartikeln) dödade inom 5 minuter samtliga råttor (23). Inhalation av 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA 6,5 tim/dag, 5 dagar/vecka i 24 veckor orsakade försämrad viktökning hos råttor (14).

## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud och slemhinnor

Övre luftvägar och ögon irriteras av DEA. Smyth (22, 23) fann hos kanin att 0,01 ml DEA orsakade en hudirriterande effekt, lätt erytem, motsvarande endast grad 4, på en tiogradig skala där 10 är mest irriterande. I försöket applicerades koncentrerad DEA på huden hos en albino-kanin och djuret observerades under 24 tim (21).

En 1%-ig lösning orsakade nekros och opacitet i kaninhornhinna (5, 23). Kaniner som exponerades för 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) DEA under 7 tim/dag, 5 dagar/vecka under 6 veckor, fick multipla erosioner på hornhinnan (4).

### 5.2. Effekter på andningsorgan

Sju friska individer, en kvinna och sex män, deltog i inandningsförsök med DEA, i vilket effekter på nässlemhinnan studerades (13). Fyra vistades vid 76 mg/m<sup>3</sup> (25 ppm) i 15 min i en klimatkammare. Man fann inga förändringar i slemhinne-svullnad (mätt med akustisk rinometri) eller luftmotstånd (mätt med rhinometri). Det finns inga uppgifter om eventuella symptom hos dessa personer. Fem personer exponerades för ökande koncentrationer upp till 36 mg/m<sup>3</sup> (12 ppm) under en timma (tidsvägt medelvärde 10 ppm - 30 mg/m<sup>3</sup>) och hade då en irritation i ögon och näsa. Luktupplevelsen var måttlig och man fann en korrelation mellan näsirritation och luktupplevelse.

För att bedöma aminers irriterande effekt i övre luftvägarna mättes andningsfrekvensen hos möss utsatta för DEA under 15 min i koncentrationen 182-1 821 mg/m<sup>3</sup> (60-600 ppm). Vid 607 mg/m<sup>3</sup> (200 ppm) sjönk andningsfrekvensen till hälften, RD<sub>50</sub> (8). Damgård-Nielsen (6) fann med samma metod RD<sub>50</sub> vara 558 mg/m<sup>3</sup> (184 ppm) för DEA hos möss. Tröskelvärdet för sänkning av andningsfrekvensen vid nasal inhalation var 97 mg/m<sup>3</sup> (32 ppm).

Råttor som inandades 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA i 6,5 tim/dag, 5 dagar/vecka under 24 veckor, hade skador på nässlemhinnorna (14). Det respiratoriska epiteliet uppvisade skivepitelmetaplasi, dessutom förekom suppurativ rinit och lymfoid hyperplasi. Råttorna hade också under exponeringen rinnande ögon, nysningar och rodnad av nosen.

Kaniner som exponerades för 152 eller 303 mg/m<sup>3</sup> (50 eller 100 ppm) DEA i 7 tim/dag, 5 dagar per vecka under 6 veckor uppvisade inflammatoriska förändringar i luftvägarna med måttlig peribronkit, ökning av lymfocytära celler samt en lätt förtjockning av kärlväggarna (4). De kaniner som utsatts för den högsta koncentrationen uppvisade också cellinfiltration och bronkopneumonier. Det finns rapporterat förtjockning av interalveolära septa och ackumulering interstitiellt av sura mucopolysackarider hos råttor exponerade för 4,19 mg/m<sup>3</sup> (1,4 ppm) DEA i 3 månader (25 citerad i 14).

### 5.3. Effekter på lever

Kaniner exponerade för 303 mg/m<sup>3</sup> (100 ppm) DEA i 30 dagar uppvisade tydliga degenerativa förändringar i levern med cellregenerering, medan förändringen vid 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) bestod av enstaka foci med måttlig parenkymatös degeneration (4). Kaniner och råttor som fick DEA peroralt 6 mg/kg i upptill 7 månader uppvisade inte några förändringar i leverfunktionstest (11 citerad i 14).

Hanråttor fick DEA intraperitonealt och man registrerade histologiska leverförändringar och olika enzym i serum (ornitinkarbamyltransferas, sorbitoldehydrogenas, aspartataminotransferas, isocitratdehydrogenas, alaninamino-

transferas) (7). DEA var neutraliserad till pH 7,4 med saltsyra och gavs i engångsdoser om 250, 500 respektive 1 000 mg DEA/kg. Man studerade sedan enzymkoncentrationer och histologi efter 0, 2, 6, 12, 24 och 48 timmar. Leverförändringarna var graderade ifrån 0-4. Vid dosen 250 mg/kg sågs efter 2 timmar minimala förändringar, grad 1, med dilaterade sinusoider. Efter 6 timmar såg man förändringar, grad 2. Vid 500 mg/kg såg man efter 2 timmar förändringar, grad 2, och efter 6 timmar, grad 4, dvs en påtaglig degeneration med periportal nekros och hydropisk degeneration. Efter 12 timmar såg man förändringar, grad 1, och därefter inga förändringar. Vid 1 000 mg/kg såg man efter 2 timmar förändringar, grad 4, efter 6 timmar, grad 2, och efter 12 och 24 timmar, grad 1, för att efter 48 timmar vara försvunna. Det serumenzym som bäst motsvarade de histologiska förändringarna var ornitinkarbamyltransferas.

#### 5.4. Effekter på njurar

Kaniner exponerade för 303 mg/m<sup>3</sup> (100 ppm) DEA i 30 dagar hade en lätt nefrit och lätta tubulära förändringar medan några säkra njurförändringar inte kunde påvisas efter exponering för 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) under samma tid (4). Exponering för 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA i 120 dagar hos råttor gav förhöjda nivåer av BUN (blodurea-kväve) men man fann inte några histologiska tecken på njurskada (14).

#### 5.5. Effekter på mag-tarmkanalen

Uppgifter saknas.

#### 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl

Kaniner exponerade för 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) DEA (under 30 dagar, 7 tim/dag, 5 dagar/vecka) hade minimal tecken på hjärtmuskeldegeneration medan inga förändringar förelåg under samma förhållanden vid exponering för 303 mg/m<sup>3</sup> (100 ppm) (4). Lynch (14) undersökte råttor utsatta för 0, 76 respektive 759 mg/m<sup>3</sup> (0, 25 respektive 250 ppm) DEA under 6,5 tim/dag, 5 dagar/vecka under 24 veckor. Det förelåg inga tecken på kardiotoxicitet, varken vid EKG eller histologi.

#### 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ

Exponering av råttor för 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA 7 tim/dag, 5 dagar/vecka under 24 veckor orsakade inga förändringar av hemoglobin, hematokrit eller vid differentialräkning av vita blodkroppar (14).

#### 5.8. Effekter på centrala nervsystemet

Alifatiska aminer anges kunna ge upphov till huvudvärk, illamående och ångest hos människa, men närmare detaljer redovisas ej (3). 32 mg/kg DEA intraperitonealt orsakade somnolens hos möss (17).

#### 5.9. Effekter på perifera nervsystemet

Uppgifter saknas

#### 6. Immunotoxicitet och allergier

Uppgifter saknas.

#### 7. Mutagenicitet, genotoxicitet

Någon mutagen aktivitet av DEA kunde inte påvisas med Salmonellastammarna TA 100, TA 1535, TA 1537 och TA 98, med eller utan metabolisk aktivering (10, 28).

#### 8. Carcinogenicitet

##### 8.1. Humanstudier

Uppgifter saknas.

##### 8.2. Djurstudier

Det saknas carcinogenicitetsstudier. Råttor som inandades 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA under 6,5 tim/dag, 5 dagar/vecka under 24 veckor och som sedan histologiskt undersöktes, uppvisade skivepitelmetaplasi i respiratoriskt epitel i näslemhinnan (14). Inga sådana förändringar påvisades hos råttor utsatta för 0 eller 75,9 mg/m<sup>3</sup> (0 eller 25 ppm) under likartade förhållanden.

#### 9. Reproduktionstoxikologi

Hos hanmöss som utsatts för 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) DEA under 24 veckor förelåg i vissa fall tecken på nedsatt spermieproduktion, men då förändringarna oftast var ensidiga tolkades dessa inte som orsakade av DEA (14).



**Tabell 1.** Effekter av kortvarig exponering för DEA

Koncentration/tid	Art	Effekt
30 mg/m <sup>3</sup> (TWA)/1 tim	Människa	Irritation i ögon och luftvägar

**Tabell 2.** Effekter av långtidsexponering för DEA

Koncentration/tid	Art	Effekt	Referenser
152 mg/m <sup>3</sup> /6 v 7 tim/d; 5d/v	Kanin	Erosion och ödem i ögonen och in flammatoriska förändringar i luftvägarna	4
303 mg/m <sup>3</sup> /6 v 7 tim/d; 5d/v	Kanin	Cellinfiltration och lunginflammation, påtaglig parenkymatös leverdegeneration, nefrit	4
759 mg/m <sup>3</sup> /24 v 7 tim/d; 5d/v	Råtta	Nysning, ökat tårflöde, irriterande ögon, skivepitelmetaplasi av näslemhinna	14

## 10. Samband mellan exponering, effekt och respons

### 10.1. Effekter av korttidsexponering

Fem försökspersoner som utsattes för DEA i stigande koncentration under en timma (tidsvägt medelvärde 10 ppm = 30 mg/m<sup>3</sup>, högsta koncentration 12 ppm = 36 mg/m<sup>3</sup>) rapporterade irritation i ögon och luftvägar (13).

Engångsdoser intraperitonealt på 250, 500 respektive 1 000 mg/kg neutraliserad DEA orsakade övergående leverförändringar hos råttor (7). Engångsexponering för 1%-ig DEA i ögat på kanin orsakade svåra skador på hornhinnan (23).

### 10.2. Effekter av långtidsexponering

Det saknas långtidsstudier med människa. Brieger och Hodes (4) lät sex kaniner inhalera 152 respektive 303 mg/m<sup>3</sup> (50 respektive 100 ppm) DEA 7 tim/dag, 5 dagar/vecka under 6 veckor. Alla överlevde. Vid 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) förelåg multipla erosioner och ödem i ögonen. Dessutom förelåg inflammatoriska förändringar i luftvägarna. I levern fanns en måttlig parenkym-degeneration. Vid 303 mg/m<sup>3</sup> (100 ppm) var luftvägs- och leverförändringar mer uttalade. I njurarna förelåg en nefrit med lätta tubulära förändringar.

Lynch (14) exponerade råttor för 0, 76 respektive 759 mg/m<sup>3</sup> (0, 25 respektive 250 ppm) DEA under 6,5 tim/dag, 5 dagar/vecka under 24 veckor. Vid inhalation av 76 mg/m<sup>3</sup> (25 ppm) sågs inga förändringar i djurens organ men man gjorde inga histologiska undersökningar av näslemhinna. De råttor som inhalerat 759 mg/m<sup>3</sup> (250 ppm) ökade långsammare i vikt och uppvisade irritation i övre

luftvägarna med tårar, nysningar samt kisande ögon. I näsans mucosa förelåg histologiska förändringar såsom skivepitelmetaplasi och lymfoid hyperplasi. Man fann inga effekter på organvikt, histologi, hematologi eller klinisk kemi, bortsett från förhöjd BUN.

## 11. Forskningsbehov

Det saknas helt epidemiologiska studier. Inga experimentella studier har utvärderat effekterna av exponering längre än ett halvt år.

## 12. Diskussion och värdering

Den kritiska effekten är irritation i ögon och luftvägar. En timmes exponering vid 30 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm) orsakade sådan hos försökspersoner (13). Djurförsök har påvisat leverförändringar vid exponering för 152 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) under sex veckor (4) och vid engångsexponering för 250 ml/kg (neutraliserat intraperitonealt) (7). Mutagenicitestest tyder på att DEA icke är mutagen. Det saknas undersökningar över eventuell cancerogenicitet. Stänk av DEA i ögonen kan orsaka svåra skador på hornhinnan.

## 13. Referenser

1. ACGIH. *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*. 6th ed. American Conference of Governmental Industrial Hygienists Inc. Cincinnati, Ohio, 1991:460-61.
2. Amoores JE, Hautala E. Odor as an aid to chemical safety: Odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution. *J Appl Toxicol* 1983;3:272-290.
3. Beard RR, Noe JT. Aliphatic and alicyclic amines. Clayton GD, Clayton FE (Eds). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology Vol. IIB*, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1981:3135-3173.
4. Brieger H, Hodes WA. Toxic effects of exposure to vapors of aliphatic amines. *Arch Ind Hyg Occup Med* 1951;3:287-291.
5. Carpenter CP, Smyth HF. Chemical burns of the rabbit cornea. *Am J Ophthalmol* 1946;29:1363-1372.
6. Damgård-Nielsen G, Yamagiwa M. Structure-activity relationships of airway irritating aliphatic amines. Receptor activation mechanisms and predicted industrial exposure limits. *Chem Biol Interact* 1989;71:223-244.
7. Drotman RB, Lawhorn GT. Serum enzymes as indicators of chemically induced liver damage. *Drug Chem Toxicol* 1978;1:163-171.
8. Gagnaire F, Azim S, Bonnet P, Simon P, Guenier JP, de Caurriz J. Nasal Irritation and pulmonary toxicity of aliphatic amines in mice. *J Appl Toxicol* 1989;9:301-304.
9. Gao CX, Krull IS, Trainor TM. Determination of volatile amines in air by on-line solid-phase, derivatization and high-performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detection. *J Chromatography* 1989;463:192-200.

10. Hedenstedt A. Mutagenicity screening of industrial chemicals: seven aliphatic amines and one amide tested in the Salmonella/microsomal assay. *Mutation Res* 1978;53:198-199.
11. Kagan GZ. The determination of the maximum permissible concentrations of diethylamine and triethylamine in bodies of water. *Health Sanit* 1965;30:351-356 (på ryska) citerad i ref. 69.
12. Levin J-O, Lindahl R, Andersson K, Hallgren C. High-performance liquid-chromatographic determination of diethylamine in air using diffusive sampling and thiourea formation. *Chemosphere* 1989;18:2121-2129.
13. Lundqvist GR, Yamagiwa M, Pedersen OF, Damgård-Nielsen, G. Inhalation of diethylamine - acute nasal effects and subjective response. *Am Ind Hyg Assoc* 1992;53:181-185.
14. Lynch DW, Moorman WJ, Stober P, Lewis TR, Iverson WO. Subchronic inhalation of diethylamine vapor in Fischer-344 rats: Organ system toxicity. *Fundam Appl Toxicol* 1986;6:559-565.
15. NIOSH. *Manual of Analytical Methods. Method 2010, 3 suppl.*, 3rd ed. Cincinnati, Ohio: National Institute of Occupational Safety and Health, 1989.
16. Neurath GB, Dünger M, Pein FG, Ambrosius D, Schreiber O. Primary and secondary amines in the human environment. *Food Cosmet Toxicol* 1977;15:275-282.
17. Patel VK, Venkatakrishna-Bhatt H, Patel NB, Jindal MN. Pharmacology of new glutarimide compounds. *Biomed Biochim Acta* 1985;44:795-803.
18. Rechenberger J. Über die flüchtigen alkylamine im menschlichen stoffwechsel. II. Mitteilung: Ausscheidung im Harn nach oraler Zufuhr. *Z Physiol Chem* 1940;265:275-284.
19. Ruth JH. Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: A review. *Am Ind Hyg Assoc J* 1986;47:142-151.
20. Sax NI. *Dangerous properties of industrial materials*, 6th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1984.
21. Smyth HF, Carpenter C. The place of the range finding test in the industrial toxicology laboratory. *J Ind Hyg Toxicol* 1944;26:269-273.
22. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. Range-finding toxicity data, list III. *J Ind Hyg Toxicol* 1949;31:60-65.
23. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. Range-finding toxicity data: List IV. *Arch Ind Hyg Occup Med* 1951;4:119-121.
24. The Chemical Society. Stability constants of metal-ion complexes. London: The Chemical Society, Burlington House, 1971 (Special publication nr 17 and 25).
25. Tkachev PG. Hygienic assessment of the effect of inhalation of small concentrations of aliphatic ethylamines. *Gig Sanit* 1971;9:8-11 (på ryska) citerad i ref. 69.
26. Turcotte M, Johnson TA. Amines. Lower aliphatic amines. In: Kirk-Othmer *Encyclopedia of chemical technology Vol 2*. 4rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1992: 368-387.
27. Williams RT. *Detoxication mechanisms* 2nd ed. London: Chapman & Hall Ltd, 1959: 127-187.
28. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W. Salmonella mutagenicity tests: III. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 1987;9:S1-S110.

## Dietyltriämin

### 1. Fysikalisk-kemiska data

Kemiskt namn:	Dietyltriämin (= DETA)
CAS-nummer:	111-40-0
Synonymer:	Aminoetylendiamin, 3-Azapentan-1,5-diamin, N-(2-Aminoetyl)etylendiamin, Bis (2-aminoetyl)amin, 2,2-Diaminodietylamin, 2,2-Iminobisetylamin, Bis(Beta-Aminoetyl)amin
Bruttoformel:	C <sub>4</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub>
Strukturformel:	NH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -NH <sub>2</sub>
Molekylvikt:	103,17
Kokpunkt:	206,7 °C
Smältpunkt:	-39 °C
Ångtryck vid 20 °C:	0,03 kPa
Densitet vid 20 °C:	0,9586
pH (1 molar)	12,0 (29)
Flampunkt:	102 °C (open cup)
Luktröskel:	uppgift saknas
Omräkningsfaktorer för lufthalter vid 20 °C, 101,3 kPa:	1 ppm = 4,28 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,23 ppm

DETA är en något viskös, gul, alkalisk och hygroskopisk vätska med ammoniakliknande lukt. Den är blandbar med vatten och etanol samt löslig i vissa organiska lösningsmedel. DETA är korrosiv på koppar och dess legeringar (1, 23).

Ett prov med hög renhetsgrad av DETA innehöll 1,8 % N-(2-aminoetyl)piperazin, 0,7 % dietanolamin, 0,5 % etylendiamin, 0,3 % trietanolin (6). Ett prov av kommersiell DETA innehöll 8,9 % N-(2-aminoetyl)piperazin och 0,3 % etylendiamin.

## 2. Användning, förekomst

### 2.1. Användning

DETA används i kemisk och farmaceutisk industri (1, 27). Den kan användas som lösningsmedel för färger, hartser, sura gaser och svavel samt kan ingå som härdare för epoxihartser. DETA används också till våtstyrkehartser inom pappersindustrin, rengöringsmedel, korrosionsskyddsmedel och som bränsletillsats.

### 2.2. Lufthalter i arbetsmiljö

DETA i andningszonen var 1,3 mg/m<sup>3</sup> hos arbetare som använde asfalt med amidoaminer och fria polyaminer, medan nivån var under detektionsgränsen (nivån ej angiven) på tre arbetsplatser där DETA användes i skärvätskor och smörjmedel eller som härdare i epoxyharts (Riihimäki, personlig information)

### 2.3. Metoder för analys av lufthalter

NIOSH anger en metod där DETA provtogs på Amberlite XAD-2, impregnerad med 1-naftylisotiocyanat, följt av HPLC-analys med UV-detektion (18). Istället för adsorbent kan ett glasfiberfilter utgöra bärare för derivatiseringsreagenset (17). Provtagning på Tenax-adsorbent belagd med 1-naftylätkisyreanhydrid, följt av HPLC-analys med fluorescensdetektion har också beskrivits (33). Vidare har rapporterats en metod där provtagningen görs på kiselgel och aminen derivatiseras med m-toluoylchlorid i samband med desorptionen och analysen sker med HPLC och UV-detektion (24).

## 3. Kinetik

### 3.1. Upptag

DETA har vid rumstemperatur ett sådant ångtryck att den kan inhaleras som gas. Beard & Noe (2) angav att alifatiska och cykliska aminer lätt absorberas från tarm och luftvägar, men angav inga empiriska data för sina slutsatser. DETA kan också tas upp via huden och LD<sub>50</sub> vid oral tillförsel är av samma storleksordning som vid perkutan applikation (11, 26).

### 3.2. Distribution

Uppgifter saknas.

### 3.3. Biotransformation

Uppgifter saknas.

### 3.4. Eliminering

Uppgifter saknas.

### 3.5. Biologiska exponeringsindikatorer

Uppgifter saknas.

## 4. Allmän toxicologi

### 4.1. Verkningsmekanismer, in vitro-studier

DETA är ett starkt alkaliskt ämne som har frätande och irriterande egenskaper.

### 4.2. Faktorer som påverkar toxiciteten

DETA är ett starkt alkaliskt ämne och den irriterande effekten minskar vid neutralisering.

### 4.3. Allmänna fynd

LD<sub>50</sub> var 71 mg/kg för mus och 74 mg/kg för råttor vid intraperitoneal administration. Peroralt var LD<sub>50</sub> 1 080 mg/kg för råttor (11). Vid hudapplikation var LD<sub>50</sub> 1 090 mg/kg för kanin och 170 mg/kg för marsvin (26). Råttor överlevde en exponering för 1 284 mg/m<sup>3</sup> (300 ppm) DETA (22). ACGIH (1) angav att denna exponering skedde under 8 timmar men sådan uppgift saknas i den primära referensen (22). Smyth (26) uppger att samtliga råttor överlevde 8 timmars exponering för luft mättad med DETA men detaljer om experimentet rapporterades ej. Viktökning och beteende var oförändrat hos kaniner som intog 1 mg DETA per kg kroppsvikt och dag i dricksvattnet under 6 månader (31 citerad i 3). Tillväxten var påverkad hos sex marsvin som erhöll 0,6 mg DETA per kg kroppsvikt och dag dricksvattnet under sex månader (31 citerad i 3).

## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud och slemhinnor

DETA kan orsaka hud- och ögonirritation och är hudsensibiliserande.

DETA, 0,05 % i vatten, lapptestades på 20 frivilliga under 24 timmar (15). Testet avlästes efter 24, 48, 72 timmar och 2 veckor. Ingen irritation registrerades. I 24/48-timmars lapptester användes 0,1-1,0 % DETA i vatten eller 0,5-1,0 % i vaselin, vilket därmed kan förmodas vara en icke irriterande koncentration för flertalet personer (3).

Outspädd DETA orsakade nekros och kraftig hudirritation på kaniner (11, 26), och 0,02 ml utspädd DETA gav kraftig skada på hornhinna hos kanin (4). Lösningar mellan 15-100 % DETA i vatten orsakade kvarstående hornhinneskada medan 5 % gav ringa skada på kaninöga (22).

Möss som fick 25 µl 10 %-ig DETA i vattenlösning på huden dagligen, i 2 veckor, utvecklade öppna sår (6). Av 50 möss som fick 25 µl 5 %-ig DETA på huden 3 gånger/vecka under sin livstid, uppvisade 4 nekros, 3 dermatit och 2 hyperkeratos.

Ingberman & Walton (13) angav att 10 % DETA i etanol sensibiliserade alla testade marsvin och att DETA sensibiliserade omkring trefjärdedelar av regelbundet exponerade personer. Närmare data presenteras dock inte. Dernehl (7) angav att 50 % av testade frivilliga blev sensibiliserade av DETA medan en substituerad DETA-förening (bishydroxyetyl-DETA) inte orsakade sensibilisering.

Vid "Guinea pig maximization test" fann man att 0,5 %-ig lösning av DETA sensibiliserade 93 % av 15 testade djur (30). Av de djur som sensibiliserats med DETA hade 20 % även positiv reaktion för trietylentetramin (TETA). Av de djur som sensibiliserats med TETA hade 67 % också positiv reaktion för DETA. Av de djur som sensibiliserats med tetraetylenpentamin hade 40 % positiv test för DETA. Dock använde man inte absolut rena substanser varför korsensibilisering mellan dessa aminer icke kan anses helt säkerställd i detta experiment.

Rudzki & Krajewska (20) studerade korsreaktioner mellan DETA och TETA hos 137 patienter i yrkesmässig kontakt med epoxiharter, dock var ingen exponerad för DETA. Av de med positiv reaktion på TETA hade 80 % också positiv reaktion på DETA. Korsreaktivitet finns även rapporterad från offshore-arbetare, där polyaminer ingår i smörjmedel som används vid borringen, samt personer sensibiliserade för EDA via hudkräm (19).

Kanerva (14) beskriver ett fall där en pappersarbetare fick handeksem vid tillverkning av karbonfritt självkopierande papper. Orsaken ansågs vara DETA.

### 5.2. Effekter på andningsorgan

DETA anges åstadkomma luftvägsirritation och sensibilisering med astma (1). Det finns ett fall av astma rapporterat hos en icke rökande 53-årig snickare, som två månader efter att han börjat arbeta med en fyllningsmassa innehållande 14 % DETA

och 86 % koltjära, fick andningsbesvär (21). Han provocerades i 2 minuter för DETA, vilket gav en sen astmatisk reaktion, som startade efter 2 timmar. Provokation med koltjära och epoxyharts gav inga reaktioner. Man kunde inte påvisa IgE-antikroppar mot DETA.

Lungorna var vid mikroskopisk undersökning normala hos fyra råttor som vistades 6 timmar/dag under 15 dagar i 556 mg/m<sup>3</sup> (130 ppm) (8).

### 5.3. Effekter på lever

I en 90-dagars studie på råttor orsakade 0,75 eller 1,5 % (motsvarar 375 resp 750 mg/kg/dag om man antar att vikten är 250 g och födointaget 10 g/dag) DETA i födan (hydrokloridsaltet) dosrelaterade patologiska effekter på lever. Däremot orsakade 0,1 % inga skador på levern (32 citerad i 16). DETA, 10 mg/kg kroppsvikt och dag, i dricksvatten under 6 månader till kaniner påverkade leverenzymerna, vilket inte 1 mg/kg gjorde (31 citerad i 3). DETA, 0,6 mg/kg kroppsvikt och dag, i dricksvattnet till marsvin under 6 månader påverkade ej leverenzymerna (31 citerad i 3). Detaljer om dessa studier saknas, t ex kontrolldjur och testprocedurer. Råttor som vistades i 556 mg/m<sup>3</sup> (130 ppm) DETA, 6 tim/dag i 15 dagar hade inga mikroskopiska förändringar i levern (8).

### 5.4. Effekter på njurar

I en 90-dagars studie på råttor orsakade 0,75 eller 1,5 % DETA i födan (hydrokloridsaltet) dosrelaterade patologiska effekter på njurarna. 0,1 % uppgavs däremot inte orsaka njurskador (32 citerad i 16). DETA givet som hydroklorid i engångsdos 3,0 mmol/kg (310 mg/kg) intraperitonealt till mus orsakade ej = proteinuri (28). Råttor som vistades i 556 mg/m<sup>3</sup> (130 ppm) DETA, 6 tim/dag i 15 dagar hade inga mikroskopiska förändringar i njurarna (8).

### 5.5. Effekter på mag-tarmkanalen

Uppgifter saknas.

### 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl

Uppgifter saknas.

### 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ

DETA, 10 mg/kg kroppsvikt och dag, via dricksvattnet till kaniner under 6 månader, påverkade blodets koagulationsförmåga medan 1 mg/kg inte gav några sådana effekter (31 citerad i 3).

## 5.8. Effekter på centrala nervsystemet

Alifatiska aminer anges kunna ge upphov till huvudvärk, illamående och ångest hos människa men närmare detaljer redovisas ej (2).

## 5.9. Effekter på perifera nervsystemet

Uppgifter saknas.

## 6. Immunotoxicitet och allergier

DETA är en välkänd orsak till allergiskt kontakteksem, se 5.1 (5, 30). Ett fall av astma mot DETA finns rapporterat men man kunde ej påvisa några IgE-antikroppar mot DETA (21).

## 7. Mutagenicitet, genotoxicitet

Peroralt administrerat DETA till CD-1 möss i doserna 85, 283 och 850 mg/kg kroppsvikt gav inte någon signifikant ökad frekvens av mikrokärnor i benmärgs-erythrocyter (9). DETA gav ingen ökning av kromosomaberrationer på kinesisk hamster-ovarieceller med eller utan metabolisk aktivering (9). I ett annat försök på hamsterceller orsakade 2 av 3 DETA-kvaliteter av varierande renhet ökat syster-kromatidutbyte (25 citerad i 3). DETA inducerade "unscheduled" DNA-syntes i råttlevarceller (25 citerad i 3). DETA var icke mutagent i test på *Drosophila melanogaster* ("sex-linked recessive lethal assay") (9).

DETA orsakade ökad mutationsfrekvens i test med *S. typhimurium* (TA1535 och TA100), och effekten var oberoende av metabolisk aktivering (10). Författaren menar att den mutagena aktiviteten kan bero på alkylerande föreningar i DETA, eftersom alkylerande effekt påvisades och DETA ej är alkylerande. Den testade DETA-kvaliteten gav positiv reaktion med 4-(p-nitrosbensyl)pyridin. DETA visade endast en svag mutagen aktivitet på *S. typhimurium* TA 100 (12). DETA (97 % renhet) testades med och utan metabolisk aktivering på fyra *Salmonellastammar* (TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 98), utan positivt resultat (34).

## 8. Carcinogenicitet

### 8.1. Humanstudier

Uppgifter saknas.

## 8.2. Djurstudier

Förekomsten av tumörer vid exponering på huden med DETA (två kvaliteter: hög renhetsgrad respektive kommersiell kvalitet) studerades på hanmöss (6). I vardera gruppen behandlades 50 möss, 3 gånger/vecka, under hela sin levnad med 25 µl 5 %-ig DETA på huden (cirka 50 mg/kg kroppsvikt om en kroppsvikt på 25 g antages). Tio av mössen avlivades efter 18 månader och resten studerades alltefter-som de dog. Det fanns ingen ökad frekvens av hudtumörer eller andra tumörer.

## 9. Reproduktionstoxikologi

Uppgifter saknas.

## 10. Samband mellan exponering, effekt och respons

### 10.1. Effekter av korttidsexponering

DETA är kraftigt hud- och ögonirriterande i koncentrerad form (4, 26). I lapptest orsakade 0,05 %-ig DETA däremot ingen hudirritation (15). Exponering under två minuter, koncentration okänd, orsakade ett sent astmaanfall hos en person som tidigare exponerats för DETA (21).

### 10.2. Effekter av långtidsexponering

Vid inhalationsförsök fick två han- och två honråttor vistas 6 timmar/dag i 15 dagar i 556 mg/m<sup>3</sup> (130 ppm) DETA (8). Man såg inga toxiska tecken och vid sektion var organen normala. Inte heller sågs några förändringar i blod eller urin.

I en 90-dagars studie på råttor orsakade 0,75 eller 1,5 % DETA i födan dosrelaterade patologiska effekter på lever och njurar medan 0,1 % inte gav några skador (32 citerad i 16). Tillväxt, beteende, leverenzymaktivitet och blodkoagulationsförmåga var normal hos 8 kaniner som i ett halvår, i dricksvattnet, fått 1 mg DETA/kg kroppsvikt och dag medan 10 mg gav reducerad blodkoagulationsförmåga och förändringar på leverenzymerna (31 citerad i 3). Tillväxt, leverenzymaktivitet, C-vitamininnehåll i lever samt methemoglobin i blod var opåverkade hos 6 marsvin, som fått 0,6 mg/kg och dag DETA via dricksvattnet under 6 månader (31 citerad i 3).

En 10 %-ig DETA-vattenlösning som applicerades på möss, dagligen i två veckor, gav upphov till öppna sår (6). Behandling av 50 hanmöss med 25 µl 5 %-ig DETA 3 dagar/vecka i cirka 1 1/2 år orsakade 2 fall av hyperkeratos, 3 fall av dermatit och 4 fall av nekros men inga hudtumörer. Man påvisade inga skador på inre organ.

## 11. Forskningsbehov

Det saknas humanstudier av effekter vid kortvarig inandning av DETA, liksom epidemiologiska studier. Risken för astma vid exponering för DETA bör ytterligare studeras.

## 12. Diskussion och värdering

Den kritiska effekten vid DETA är risken för hudsensibilisering och irriterande effekter på slemhinnor och luftvägar. DETA kan sannolikt orsaka astma (21). Det saknas data för att avgöra vid vilka luftkoncentrationer irriterande effekter uppträder.

Flertalet mutagenestester tyder på att DETA är icke mutagen men bilden är inte helt entydig och vissa tester har indikerat att DETA, eller kommersiella kvaliteter av DETA, har mutagen aktivitet. En begränsad djurexperimentell studie har inte stött hypotesen att DETA är en cancerogen substans.

## 13. Referenser

1. ACGIH. *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*. 6th ed. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists Inc, 1991:464-65.
2. Beard RR, Noe JT. Aliphatic and alicyclic amines. Clayton GD, Clayton FE (Eds). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology Vol IIB* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1981:3135-3173.
3. BIBRA Working Group. *Diethylenetriamine*. Toxicity profile, BIBRA Information Department, BIBRA Toxicology International, Surrey, Great Britain, 1991.
4. Carpenter CP, Smyth HF. Chemical burns of the rabbit cornea. *Am J Ophthalmol* 1946;29:1363-1372.
5. Cronin E. *Contact Dermatitis*. London: Churchill Livingstone, 1980:595-614.
6. DePass LR, Fowler EH, Weil CS. Dermal oncogenicity studies on various ethyleneamines in male C3H mice. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9:807-811.
7. Dermehl CU. Hazards to health associated with the use of epoxy resins. *J Occup Med* 1963;5:17-21.
8. Gage JC. The subacute inhalation toxicity of 109 industrial chemicals. *Br J Ind Med* 1970;27:1-18.
9. Gollapudi BB, Linscombe VA, Sinha AK. Evaluation of the clastogenic and mutagenic potential of diethylenetriamine (DETA). *Environ Mol Mutagen* 1989;14, Suppl. 15:71.
10. Hedenstedt A. Mutagenicity screening of industrial chemicals: seven aliphatic amines and one amide tested in the Salmonella/microsomal assay. *Mutat Res* 1978;53:198-199.
11. Hinc CH, Kodama JK, Anderson HH, Simonson DW, Wellington JS. The toxicology of epoxy resins. *AMA Arch Ind Health* 1958;17:129-144.
12. Hulla JE, Rogers SJ, Warren GR. Mutagenicity of a series of polyamines. *Environ Mutagen* 1981;3:332.

13. Ingberman AK, Walton RK. Low-toxicity aliphatic amines as cross-linking agents for polyepoxy resins. *Ind Engineer Chem* 1957;49:1105.
14. Kanerva L, Eslander T, Jolanki R. Occupational allergic contact dermatitis due to diethylenetriamine (DETA) from carbonless paper and from epoxy compound. *Contact Dermatitis* 1990;23:272.
15. Key MM, Perone VB, Birmingham DJ. Patch testing in dermatitis from the newer resins. *J Occup Med* 1961;3:361-364.
16. Leung H-W, Paustenbach DJ. Organic acids and bases: Review of toxicological studies. *Am J Ind Med* 1990;18:717-735.
17. Levin J-O, Andersson K, Fångmark I, Hallgren C. Determination of gaseous and particulate polyamines in air using sorbent or filter coated with naphthylisothiocyanate. *Appl Ind Hyg* 1989;4:98-100.
18. NIOSH. *Manual of Analytical Methods. Method 2010, 3 suppl.*, 3rd ed. Cincinnati, Ohio: National Institute of Occupational Safety and Health, 1989.
19. Ormerod AD, Wakeel RA, Mann TAN, Main RA, Aldridge RD. Polyamine sensitization in offshore workers handling drilling muds. *Contact Dermatitis* 1989;21:326-329.
20. Rudzki E, Krajewska D. Cross-reactions between ethylenediamine, diethylenetriamine and triethylenetetramine. *Contact Dermatitis* 1976;2:311-313.
21. Ryan G, Cartier A, Bandouvakis J, Hall D, Dolovich J, Hargreave FE. Occupational asthma due to diethylenetriamine. *Am Rev Resp Dis* 1980;121:S253.
22. Savitt LE. Contact dermatitis encountered in the production of epoxy resins. *AMA Arch Dermatol* 1955;71:212-213.
23. Sax NI. *Dangerous properties of industrial materials*, 6th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1984.
24. Simon P, Lemacon C. Determination of aliphatic primary and secondary amines and polyamines in air by high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* 1987;59:480-484.
25. Slesinski RS, Gaunt MW, Guzzie PJ, Hengler WC. *Diethylenetriamine - high purity (DETA-HIP) in vitro Mutagenesis Studies: 3 test battery*. Export, PA: Union Carbide Bushy Run Research Center Project Report 43-90, 43-113, 43-120 1980, cited in ref. 23.
26. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. Range-finding toxicity data, list III. *J Ind Hyg Toxicol* 1949;31:60-65.
27. Spitz RD. Diamines and higher amines, aliphatic. In Kirk-Othmer *Encyclopedia of chemical technology Vol 7* 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979:580-603.
28. Tabor CW, Rosenthal SM. Pharmacology of spermine and spermidine. Some effects on animals and bacteria. *J Pharmacol Exp Therap* 1956;116:139-155.
29. The Chemical Society. *Stability constants of metal-ion complexes*. Special publication No 17 and 25. The Chemical Society, Burlington House London, 1971.
30. Thorgerirsson A. Sensitization capacity of epoxy resin hardeners in the Guinea pig. *Acta Derm Venereol* 1978;58:332-336.
31. Trubko EI, Teplyakova EV. *Gig Sanit* 1972;37:103 (på ryska), citerad i ref. 3.
32. van Miller JP, Weaver EV, Negley JE, Gill MW. *Ninety-day (subchronic) dietary toxicity study with the dihydrochloride salt of diethylenetriamine in albino rat*. Export, PA: Union Carbide Bushy Run Research Center, 1988 (Report 51-45) citerad i ref. 116.
33. Wu WS, Gaid VS. Quantification of solid sorbent-sampled airborne aliphatic polyamines on HPLC using a common calibration standard - application of the concept of isolation of a selected  $\pi$ -system of a derivative for specific detection. *J Liquid Chromatography* 1992;15:267-282.
34. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W. Salmonella mutagenicity tests: III. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 1987;9:S1-S110.

# Dimetylammin

## 1. Fysikalisk-Kemiska Data

Kemiskt namn:	Dimetylammin (= DMA)
CAS-nummer:	124-40-3
Synonymer:	N-metylmetylanamin
Bruttoformel:	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub> N
Strukturformel:	CH <sub>3</sub> - NH - CH <sub>3</sub>
Molekylvikt:	45,08
Kokpunkt:	7,4 °C
Smältpunkt:	-96 °C
Ångtryck vid 20 °C:	170 kPa
Densitet vid 4 °C:	0,68
pH (1 molar)	12,5 (40)
Flampunkt:	-6,7 °C (closed cup)
Luktröskel:	0,047-0,34 ppm (1, 2) (0,09-0,64 mg/m <sup>3</sup> )
Omräkningsfaktorer för lufthalter vid 20 °C, 101,3 kPa:	1 ppm = 1,87 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,53 ppm

DMA är vid rumstemperatur en lättantändlig gas som också förekommer som 25 - 60 % alkalisk vattenlösning. DMA är lös i vatten, alkohol samt eter och har en stark ammoniakliknande lukt. Explosionsgränsen i luft ligger mellan 2,8 % och 14 %. DMA kan tillsammans med nitrit bilda dimetylnitrosamin som är en potent carcinogen och dessutom levertoxisk. (1, 35, 41.)

## 2. Användning, förekomst

### 2.1. Användning och förekomst

DMA används i kemisk och farmaceutisk industri; vid tillverkningen av lösningsmedel dimetylacetamid och dimetylförmamid, till acceleratörer inom gummitillverkning, textilkemikalier, rengöringsmedel och tvålar, bekämpningsmedel, hårborttagningsmedel vid garvning, bensintillsatser samt i flotationsmedel (1, 38, 42).

DMA finns naturligt i vissa livsmedel, såsom kål och selleri, majs, fisk, kaffe och många ytvattenkällor (32). DMA bildas också i kroppen, dels från metylamin och dels från lecitin, kolin eller trimetylaminoxid via trimetylammin, vilket troligen sker via tarmbakterier (3). DMA kan troligen också syntetiseras i njuren (39).

Zhang (47) anser att ursprunget till DMA i urin främst är trimetylammin-N-oxid via födan. Den dagliga utsöndringen av DMA hos människa är omkring 15-25 mg men kan öka betydligt efter fiskintag. DMA återfinns också i saliv, magsaft och blod (46). Försök visade att ju mer trimetylammin-N-oxid som intogs desto större andel metaboliserades till DMA (47).

### 2.2. Lufthalter i arbetsmiljö

I en tysk fabrik där DMA och flera andra alifatiska aminer förekom varierade halten DMA mellan 1,2-33,8 mg/m<sup>3</sup> (5).

### 2.3. Metoder för analys av lufthalter

NIOSH anger en metod där DMA adsorberas på kiselgel med efterföljande analys på GC försedd med flamjonisationsdetektor alternativt kvävespecifik detektor (33). Diffusionsprovtagning baserad på derivatisering med 1-naftylisotiocyanat finns också beskrivet (26).

## 3. Kinetik

DMA kan absorberas via luftvägar, hud samt tarmkanal, och utsöndras huvudsakligen ometaboliserad i urin.

### 3.1. Upptag

Personer som yrkesmässigt utsatts för DMA m fl monoaminer hade en ökad utsöndring av DMA i urin (17 citerad i 9).

Råttor som inandades radioaktivt märkt DMA hade högst halt DMA i näsans slemhinna (28).

Beard & Noe (4) anger att DMA kan absorberas via huden, men några empiriska data redovisas ej och några andra studier om hudupptag har ej påträffats.

DMA resorberas lätt från tunntarmen medan upptaget i magsäcken är lågt (22). Försökspersoner som intog fisk med känd halt DMA, monometylamin och trimetylamin, hade en påtagligt ökad utsöndring av DMA i urinen (44), vilket tyder på upptag via mag-tarmkanalen.

Sterilisering av tarmen med antibiotika medförde hos tre uremiska patienter att medelvärdet av halten DMA i serum sjönk från 633 till 108 µg/100 ml (37).

Marsvin som erhöll DMA (456 µg) injicerat i ligerad magsäck absorberade inget under en 20-minutersperiod medan samma mängd i ligerad tunntarm resorberades snabbt ( $t_{1/2}$  11,8 minuter), (21 citerad i 9).

När 250 µg DMA injicerades i ligerade sektioner av magsäck respektive tarm till fem fastande råttor, fann man att halveringstiderna i magsäck, övre och nedre tunntarm, blindtarm och tjocktarm var 198, 8,3, 11,6, 31,5 respektive 11,0 minuter (22, 23).

### 3.2. Distribution

Direkt efter inhalation av 19 respektive 327 mg/m<sup>3</sup> (10 och 175 ppm) <sup>14</sup>C-märkt DMA återfanns det allra mesta i nässlemhinnan (28). Koncentrationen var där mer än hundra gånger högre än i övriga organ vid halten 10 ppm. Njure hade cirka 3 gånger högre halt än lever, lungor, hjärna och testiklar. Fyra timmar efter en intravenös injektion av 10 mg/kg DMA till marsvin fanns högst koncentration i njure och mjälte (7). Koncentrationerna i njure och mjälte var drygt två gånger högre än i blodet.

Hundar och illrar erhöll en engångsdos DMA 50 mg/kg intravenöst och koncentrationen DMA följdes i blod och magsaft (45). Mellan 1 och 5 timmar senare var koncentrationen DMA i magsaft mer än två gånger så hög som i blod.

### 3.3. Biotransformation

Av en engångsdos på 8 g DMA-hydroklorid utsöndrades 91,5 % oförändrad i urinen hos en man (34). Av <sup>14</sup>C-märkt DMA injicerat intravenöst på råttor utsöndrades mer än 98 % ometaboliserat via urinen (28). Vid inhalation av 19 respektive 327 mg/m<sup>3</sup> (10 och 175 ppm) <sup>14</sup>C-märkt DMA utsöndrades 78 respektive 87 % via urinen hos råttor medan 1,5 % utandades som CO<sub>2</sub> (28). Således metaboliseras en ringa del av upptaget DMA både hos människa och råttor. Vid in vitro-test med mikrosomer från lever samt respiratorisk och olfaktorisk nässlemhinna hos råttor, metaboliserades DMA till formaldehyd och dimetylhydroxylamin (29).

### 3.4. Eliminering

Huvuddelen av absorberat DMA elimineras via urinen medan en mindre mängd elimineras via feces. DMA utsöndras i mag-tarmkanalen och kan återresorberas.

Av en engångsdos på 8 g DMA-hydroklorid per os till en man eliminerades 91,5 % via urinen (34). Efter exponering för 19 respektive 327 mg/m<sup>3</sup> (10 och 175 ppm) <sup>14</sup>C-märkt DMA återfanns 78 respektive 87 % i urinen hos råttor efter 72 timmar, 12,5 respektive 5 % i avföringen, 1,5 % (som CO<sub>2</sub>) i utandningsluften och 8 respektive 7 % fanns kvar i vävnaderna (28). Vid intravenös injektion av <sup>14</sup>C-märkt DMA återfanns mer än 98 % i urinen (28).

Eliminationen av DMA i blod kunde beskrivas som ett enfasförlopp med en halveringstid på cirka 12 minuter efter en intravenös injektion (22, 23). En del DMA utsöndrades i mag-tarmkanalen och återresorberades delvis, varvid halveringstiden i plasma var cirka 15 minuter. Hos råttor som erhållit <sup>14</sup>C-märkt DMA via inhalation (175 ppm = 327 mg/m<sup>3</sup> i 6 timmar) noterades en bifasisk elimination i plasma med en halveringstid för den långsamma fasen på 45 respektive 64 timmar hos två djur (28).

### 3.5. Biologiska exponeringsindikationer

Serum- och urinnivåer av DMA kan mätas, men exogent och endogent ursprung för DMA kan ej särskiljas.

## 4. Allmän toxikologi

### 4.1. Verkningsmekanismer, in vitro-studier

DMA-hydroperklorid inhiberade selektivt syntesen av rRNA i *Xenopus* embryonala nervceller, men den kliniska betydelsen av detta är okänd (36).

### 4.2. Faktorer som påverkar toxiciteten

DMA är starkt basiskt och neutralisering torde medföra att dess irriterande effekter minskar.

### 4.3. Allmänna fynd

LD<sub>50</sub> för peroral tillförd DMA i vatten var 316 mg/kg för vit mus, 698 mg/kg för albinoråttor och 240 mg/kg för marsvin och kaniner (10). Neutraliserat till pH 8 med saltsyra erhöles LD<sub>50</sub> på 8 100 mg/kg för albinoråttor, 1 070 mg/kg för marsvin och 1 600 mg/kg för kanin. LC<sub>50</sub> var 8 492 mg/m<sup>3</sup> (4 540 ppm) vid inhalation av DMA i 6 timmar hos råttor och 48 timmar observationstid (38). Hanråttor och honmöss exponerade för 327 mg/m<sup>3</sup> (175 ppm) DMA 6 tim/dag, 5 dagar/vecka under 12 månader, hade en långsammare tillväxt än normalt (6).



## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud och slemhinnor

Hudkontakt med DMA i vätskefas kan ge nekros och en droppe i ögat kan ge svår hornhinneskada med bestående opacitet.

I en ögonundersökning av personer som var yrkesmässigt utsatta för en blandning av ammoniak, dimetylformamid, monometylamin, DMA och trimetylamin i en sammanlagd nivå kring  $20 \text{ mg/m}^3$  (omräknat till  $\text{NH}_3$ ), påvisades inga förändringar på hornhinna, bindehinna eller ögonfunktion mätt med visus, hornhinnesensibilitet, oftalmoskopi och perimetri som kunde sättas i samband med exponeringen (31). Bortfallet i undersökningen var dock stort, endast 75 av 120 undersöktes.

Epikutantest på marsvin påvisade att DMA hade hudsensibiliserande egenskaper (24). En 6 %-ig lösning av DMA på kaninhud orsakade rodnad och förtjockning samt ulceration efter enstaka behandling och en 3 %-ig lösning orsakade liknande efter fem behandlingar (25 citerad i 1).

En droppe koncentrerad DMA i ögat på en anesteserad kanin orsakade en vitblå färg på hornhinnan inom några sekunder och efter en minut var den vitaktig och ogenomskinlig (sklerotisk) (30).

Råttor som utsatts för  $1\ 871 \text{ mg/m}^3$  (1 000 ppm) DMA under 6 timmar fick hornhinneödem (38). Vid  $7\ 482 \text{ mg/m}^3$  (4 000 ppm) och däröver fick många nekros av hornhinna, iris och kraftig degeneration av linsen liknande akut katarakt. Marsvin och kaniner men inte råttor och möss erhöill hornhinneskador vid 181 respektive  $346 \text{ mg/m}^3$  (97 och 185 ppm) DMA, 7 tim/dag, 5 dag/vecka i 18-20 veckor (18 citerad i 38).

### 5.2. Effekter på andningsorg

Vid  $19 \text{ mg/m}^3$  (10 ppm) DMA 6 tim/dag, 5 dag/vecka i 12 månader fann man en något förhöjd incidens av kronisk inflammation i vestibulum och av det respiratoriska epitelet hos råttor (6). Hos enstaka djur förelåg en fokal degeneration av olfaktoriskt epitel. Vid  $94 \text{ mg/m}^3$  (50 ppm), under samma förhållanden, fann man efter 6 månader viss skivepitelmetaplasi och efter 12 månader mild inflammation samt epitelial hypertrofi och hyperplasi samt skador på olfaktoriskt epitel. Vid  $327 \text{ mg/m}^3$  (175 ppm) fick man liknande förändringar men mer uttalade och dessutom destruktion av benvävnad, konkora och septum, i näshålan. Liknande fynd gjordes på möss exponerade för dessa halter av DMA.

Råttor exponerade för  $327 \text{ mg/m}^3$  (175 ppm) DMA i 6 tim/dag i 1, 2, 4 och 9 dagar eller 2 år (15). Man fick redan efter en dag förändrat mukusflöde och små epiteliala sår på respiratoriskt epitel, liksom vakuolisering av olfaktoriskt epitel. Efter 4-9 dagars exponering fick man förlust av luktceller och erosionen och såren var mer utbredda. Om inhalation fortgick under två år fick man destruktion av nasal

vävnad i främre delen av näsan, hål på nässkiljeväggen och skivepitelmetaplasi av det respiratoriska epitelet.

Exponering av råttor för  $1\ 122$  till  $11\ 223 \text{ mg/m}^3$  (600-6 000 ppm) DMA i 6 timmar orsakade blodfyllda, såriga nässlemhinnor och nekros av näskonkor (38).

I ett försök fann man  $\text{RD}_{50}$   $573 \text{ ppm}$  ( $1\ 072 \text{ mg/m}^3$ ) för råttor och 511 ppm ( $956 \text{ mg/m}^3$ ) för mus (38) och i ett annat  $\text{RD}_{50}$   $131 \text{ mg/m}^3$  (70 ppm) för mus (12).

Råttor, kaniner, marsvin, apor och hundar som exponerats för  $9 \text{ mg/m}^3$  (4,8 ppm) DMA kontinuerligt under 90 dagar uppvisade interstitiella inflammatoriska förändringar i lungorna hos samtliga undersökta djur (8). Kaninerna och 2 av 3 apor hade dilaterade bronker. Författaren betecknar dessa förändringar som tecken på en mild inflammation. Eventuella fynd hos kontroldjur rapporterades ej och de övre luftvägarna undersöktes ej med histopatologisk teknik.

Råttor som exponerades för  $1\ 122$  till  $11\ 223 \text{ mg/m}^3$  (600-6 000 ppm) DMA under 6 timmar fick vid  $1\ 122 \text{ mg/m}^3$  en lätt trakeit och epitelial hyperplasi (38). Vid  $1\ 871 \text{ mg/m}^3$  (1 000 ppm) erhöills dessutom en suppurativ trakeit och över  $4\ 676 \text{ mg/m}^3$  ( $\geq 500$  ppm) fann man ulcererande trakeit. Vid  $1\ 122 \text{ mg/m}^3$  (600 ppm) förelåg ett mildt emfysem och vid  $1\ 871 \text{ mg/m}^3$  (1 000 ppm) emfysem och bronkiell hyperplasi samt pneumonit. I nivåer över  $4\ 676 \text{ mg/m}^3$  (2 500 ppm) erhöills perifert emfysem och bronkopneumoni.

### 5.3. Effekter på lever

Exponering för  $181 \text{ mg/m}^3$  (97 ppm) DMA, 7 tim/dag, 5 dag/vecka i 18-20 veckor orsakade hos råttor, möss, marsvin och kaniner en central lobulär degeneration med fettinlagring och levernekros (18 citerad i 38).

Exponering för DMA i nivån  $1\ 871 \text{ mg/m}^3$  (1 000 ppm) eller lägre under 6 timmar orsakade hos råttor inga leverskador (38). Vid  $4\ 676$  och  $7\ 482 \text{ mg/m}^3$  (2 500 och 4 000 ppm) sågs en mild degeneration med fettinlagring samt fokal nekros och vid  $11\ 223 \text{ mg/m}^3$  (6 000 ppm) såg man hos ett djur en central lobulär nekros.

Neutraliserat DMA i vatten i en tiondel av  $\text{LD}_{50}$  under 6 veckor, dvs  $107 \text{ mg/kg}$  till marsvin och  $160 \text{ mg/kg}$  till kanin gav en ökning av den relativa vikten för levern (10).

En daglig oral dos av 10 respektive 20 mg DMA-HCl under 30 dagar till hanråttor orsakade inga histopatologiska förändringar på levern, ingen ändrad relation levervikt-kroppsvikt och inga patologiska leverenzym (13). Dock är denna studie av tveksam kvalitet.

Marsvin som erhöill  $3,5 \text{ mg/kg}$  DMA (neutraliserad med saltsyra i en vattenlösning) under 8 månader hade en ökad levervikt (jämfört med andel av kroppsvikten), medan motsvarande förändring ej rapporterades hos djur som erhöill 0,35 eller  $0,035 \text{ mg/kg}$  (10).

Inga förändringar rapporterades hos råttor, marsvin, kaniner, apor eller hundar som exponerats för  $9 \text{ mg/m}^3$  (4,8 ppm) DMA under 90 dagar (8).

#### 5.4. Effekter på njurar

Marsvin som fick 3,5 mg/kg DMA i vatten under 8 månader hade en ökad halt av urea i blod och en ökad utsöndring av koproporfyryn i urin (10). 0,35 mg/kg orsakade under tredje och fjärde månaden en ökning i urea som sedan försvann.

Tio respektive 20 mg DMA till grupper om 8 råttor peroralt per dag i 30 dagar gav inga histopatologiska förändringar på njuren (13). Dock är denna studie av tveksam kvalitet.

Inga njurförändringar rapporterades hos råttor, marsvin, kaniner, apor eller hundar som exponerats för 9 mg/m<sup>3</sup> (4,8 ppm) DMA under 90 dagar (8).

#### 5.5. Effekter på mag-tarmkanalen

Vid inhalation av letala doser DMA erhöles hos mus, råtta, marsvin och kaniner utbredda blödningar i mag-tarmkanalen (10).

#### 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl

Inga förändringar rapporterades hos råttor, marsvin, kaniner, apor eller hundar som exponerats för 9 mg/m<sup>3</sup> (4,8 ppm) DMA under 90 dagar (8).

#### 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ

Hos råtta som, under 8 månader, fick 0,35 mg/kg DMA i vatten observerades en minskning av leukocyternas fagocytosaktivitet (10). Neutraliserat DMA i vatten till marsvin (107 mg/kg) och till kaniner (160 mg/kg) under 6 veckor orsakade en ökning av hemoglobin och kolinesteras i blod (10).

Hanråttor exponerade för 327 mg/m<sup>3</sup> (175 ppm) DMA 6 tim/dag, 5 dagar/vecka i 12 månader hade minskat antal trombocyter och honråttor hade ökat antal atypiska lymfocyter (6). Honmöss exponerade på samma sätt hade minskat MCV (mean red blood cell volume). Den biologiska betydelsen av dessa fynd är tveksam enligt författarna.

Vid inhalation av 9 mg/m<sup>3</sup> (4,8 ppm) DMA kontinuerligt i 90 dagar hos råttor, marsvin, kaniner, apor och Beaglehundar fann man normal hematologi (antal leukocyter, hemoglobin respektive hematokrit), (8).

Steinhagen (38) refererar två ryska nittiodagars studier från början av 70-talet. Den ena rapporterade en minskning i serumproteiners SH-innehåll, helblodskolinesteras och antikropps bildning vid 0,04 eller 0,9 mg/m<sup>3</sup> (0,02 eller 0,50 ppm) DMA hos råttor. Den andra påvisade att råttor exponerade för 0,5 respektive 1,0 mg/m<sup>3</sup> (0,27 respektive 0,54 ppm) DMA kontinuerligt under 90 dagar hade ett ökat antal aneuploida benmärgsceller (20).

#### 5.8. Effekter på centrala nervsystemet

En förändring av betingade reflexer hos albinoråttor orsakades av 0,35 eller 0,035 mg/kg DMA i vatten under 8 månader orsakade (10). Vid 0,007 mg/kg noterades ingen sådan effekt.

#### 5.9. Effekter på perifera nervsystemet

Uppgifter saknas.

### 6. Immunotoxicitet och allergier

DMA har visat tecken på hudsensibilisering i epikutantest på marsvin (24).

### 7. Mutagenicitet, genotoxicitet

DMA var negativt med eller utan metabol aktivering för Salmonellastammarna TA 1531, TA 1532, TA 1964, TA 100, TA 1535, TA 1537 och TA 98 och svagt mutagent efter metabolisk aktivering för TA 1530 (14, 43). Negativt resultat noterades för en "hostmediated"-test med TA 1951, TA 1952, TA 1534 och TA 1950 (14). DMA var negativt i DNA-reparationstest (unscheduled DNA synthesis) på rått hepatocyter (27). DMA var negativt eller visade en marginell effekt i test av systerkromatidutbyte, kromosomaberrationer och genmutation i ovarieceller från kinesisk hamster (19). DMA inducerade mitotisk "gene conversion" och "point reverse mutation" i D7-stammen av *Saccharomyces cerevisiae* (11).

Det finns rapporterat att inhalation av 0,5 eller 1,0 mg/m<sup>3</sup> (0,27 eller 0,54 ppm) DMA kontinuerligt i 90 dagar hos råttor skall ha gett ett ökat antal aneuploida benmärgsceller (20).

### 8. Carcinogenicitet

#### 8.1. Humanstudier

Uppgifter saknas.

#### 8.2. Djurstudier

Exponering för 94 mg/m<sup>3</sup> (50 ppm) 6 tim/dag, 5 dagar/vecka i 6 månader orsakade hos han- och honmöss (9-10 djur per kön) (B6C3F1) lokal skivcellsmetaplasi på slemhinneepitel i näshålan (6). Råttor och möss av båda könen (9-10 djur per kön och art) uppvisade fokal eller diffus skivepitelmetaplasi vid 175 ppm (327 mg/m<sup>3</sup>) givet under ett år som ovan.

Sex hanråttor som exponerades för 327 mg/m<sup>3</sup> (175 ppm) DMA under två år uppvisade fokal skivepitelmetaplasi i främre delen av näshålan men de hade ingen ökad tumörförekomst i de övre luftvägarna (15). Författaren redovisade inga fynd från övriga organ.

I en industrirapport som refereras av ACGIH (1) har 95 möss och 95 råttor inhalerat DMA i koncentrationerna 19, 94 eller 327 mg/m<sup>3</sup> (10, 50 eller 175 ppm) i 6 tim/dag, 5 dagar/vecka i 2 år. Man fann inga hållpunkter för ökad tumörincidens.

## 9. Reproduktionstoxikologi

DMA-hydroklorid injicerades intraperitonealt i doserna 0,25, 1, 2,5 och 5 mmol/kg (11, 45, 113 och 226 mg/kg) under dag 1-17 under graviditeten till möss (16). Dag 18 studerades möss och foster men man fann inga effekter på någondera av DMA. I en in vitro-studie odlades embryon från 8:e gestationsdagen och utsattes för DMA-hydroklorid. Man fann en koncentrationsberoende minskning i gulesäcksdiameter, "crown-rump"-längd, huvudlängd och total överlevnad.

## 10. Samband mellan exponering, effekt och respons

### 10.1. Effekter av korttidsexponering

Effekter av kortvarig exponering framgår av tabell 1 och de effekter som kommer vid lägst dos är irriterande effekter från de övre luftvägarna.

DMA i ögon eller på hud är kraftigt irriterande (1, 30).

Tabell 1. Effekter på djur vid kortvarig exponering för DMA

Dos	Art	Effekt	Ref.
131 mg/m <sup>3</sup> (70 ppm), 15 min	mus	Påtaglig påverkan på andningsfrekvens	12
Ca 187 mg/m <sup>3</sup> (100 ppm), 10 min	mus, råta	Lätt påverkan på andningsfrekvens	32
327 mg/m <sup>3</sup> (175 ppm), 6 tim	råta	Skador på näslemhinna	15
1122-4676 mg/m <sup>3</sup> (600-2 500 ppm), 6 tim	råta	Ögonirritation, blodig sekretion från övre luftvägar	38
7450 mg/m <sup>3</sup> (3 983 ppm), 6 tim	råta	Ökad dödlighet	38

Tabell 2. Effekter på djur av långvarig inhalation av DMA

Dos	Art	Effekt	Ref.
9 mg/m <sup>3</sup> (5 ppm), kontinuerligt i 90 dagar	råta, marsvin, kanin, apa, hund	Lätta interstitiella inflammatoriska förändringar i lungorna	8
19 mg/m <sup>3</sup> (10 ppm), 6 tim/dag, 5 dgr/v, 12 mån	mus, råta	Lätta förändringar i näshåle-epitel och luktceller	6
94 mg/m <sup>3</sup> (50 ppm), 6 tim/dag, 5 dgr/v, 12 mån	mus, råtat	Måttliga förändringar i näshåle-epitel och luktceller	6
181-346 mg/m <sup>3</sup> (97-185 ppm), 7 tim/dag, 5 dgr/v, 8-20 v	råta, marsvin, mus, kanin	Hornhinneskador, leverförändringar	18 citerad i 38
327 mg/m <sup>3</sup> (175 ppm), 6 tim/dag, 2 år	råta	Påtagliga förändringar i slemhinnan i övre luftvägar (skivepitel-metaplasi, kronisk inflammation) och destruktion av skelett i näshålan, minskad kroppstillväxt	6,15

### 10.2. Effekter av långtidsexponering

Effekterna av långvarig exponering för DMA framgår ur tabell 2 och det är skador på slemhinnan i luftvägarna som uppträder vid lägst dos. Coons fynd (8) är av oklar betydelse när man saknar uppgifter om eventuella fynd hos kontrolldjur. Fynden kan bero på infektioner hos djuren och någon undersökning av övre luftvägarna har ej genomförts.

Utöver de data som redovisas i tabell 2 finns ett ryskt experiment på råttor rapporterat där man noterade en ökad förekomst av aneuploidi i benmärgsceller vid exponering för 0,5 respektive 1,0 mg/m<sup>3</sup> (0,27 respektive 0,54 ppm) DMA under 90 dagar (20). Detta är ett fynd av oklar klinisk relevans.

## 11. Forskningsbehov

Det saknas studier över effekter på människa vid kort- eller långvarig exponering. Eventuell sensibiliserande effekt på hud skulle kunna ytterligare beläggas genom djurförsök, liksom graden av hudupptag.

## 12. Diskussion och värdering

DMA är en kraftigt irriterande gas, som lätt tas upp via luftvägar. På grund av sin vattenlöslighet deponeras den framför allt i de övre luftvägarna (28). Den kritiska effekten är skador på slemhinnan i de övre luftvägarna och på luktetelet. Lätta

sådana effekter uppträdde i ett djurförsök vid 19 mg/m<sup>3</sup> under 6-12 månaders exponering (6). Ett djurförsök antyder en inflammatorisk effekt i lungorna vid 90 dagars kontinuerlig exponering för 9,4 mg/m<sup>3</sup> (5 ppm) (8). Studien har dock kvalitetsbrister. Djurförsök antyder att DMA kan vara hudsensibiliserande (24). DMA i vattenlösning är starkt hud- och ögonirriterande.

DMA kan tillsammans med nitrit bilda dimetylnitrosamin, som är carcinogen och levertoxisk. DMA var icke-mutagen i flertalet testsystem men positiv i test på jästceller. Ett djurförsök tydde ej på carcinogen effekt.

### 13. Referenser

- ACGIH. *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*. 6th ed. American Conference of Governmental Industrial Hygienists Inc. Cincinnati, Ohio, 1991:479-81.
- Amoore K, Hallgren C, Levin J-O, Nilsson C-A. Determination of ethylenediamine in air using reagent-coated adsorbent tubes and high-performance liquid chromatography on the 1-naphthylisothiourea derivate. *Am Ind Hyg Assoc J* 1985;46:225-229.
- Asatoor AM, Simenhoff ML. The origin of urinary dimethylamine. *Biochim Biophys Acta* 1965;111:384-392.
- Beard RR, Noe JT. Aliphatic and alicyclic amines. In Clayton GD, Clayton FE (eds). *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology Vol II B*, 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1981:3135-3173.
- Bittersohl vG, Heberer H. Ergebnisse von Arbeitsplatz- und Urinanalysen bei Expositionen mit aliphatischen Aminen. *Zeitschrift für die Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete* 1980;26:258-259.
- Buckley LA, Morgan KT, Swenberg JA, James RA, Hamm TE, Barrow CS. The toxicity of dimethylamine in F-344 rats and B6C3F1 mice following a 1-year inhalation exposure. *Fundam Appl Toxicol* 1985;5:341-352.
- Chaudhari A, Dutta S. Possible formation of nitrosamine in Guinea pigs following exposure to nitrogen dioxide and dimethylamine. *J Toxicol Environ Health* 1981;7:753-763.
- Coon RA, Jones RA, Jenkins LJ, Siegel J. Animal inhalation studies on ammonia, ethylene glycol, formaldehyde, dimethylamine and ethanol. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970;16:646-655.
- Dutch expert committee for occupational standards. *Health-based recommended occupational exposure limits for dimethylamine*. Den Haag, Netherlands: Voorburg Directorate - General of Labour of the Ministry of Social Affairs and Employment, 1990.
- Dzhanashvili GD. Maximum permissible concentration of dimethylamine in water bodies. *Hyg Sanit* 1967;32:329-335.
- Galli A, Paolini M, Lattanzi G, Cantelli-Forti G, Bronzetti G. Genotoxic and biochemical effects of dimethylamine. *Mutagenesis* 1993;8:175-178.
- Gagnaire F, Azim S, Bonnet P, Simon P, Guenier JP, de Ceaurriz J. Nasal irritation and pulmonary toxicity of aliphatic amines in mice. *J Appl Toxicol* 1993;9:301-304.
- Garcia Roché M, Ballenilla T, Castillo A, Silva V, Cabrera Y. The toxicity of the daily intake of nitrite and dimethylamine. *Die Nahrung* 1983;27:837-841.
- Green NR, Savage JR. Screening of safrole, eugenol, their ninhydrin positive metabolites and selected secondary amines for potential mutagenicity. *Mutat Res* 1978;57:115-121.
- Gross EA, Patterson DL, Morgan KT. Effects of acute chronic dimethylamine exposure on the nasal mucociliary apparatus of F-344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 1987;90:359-376.
- Guest I, Varma DR. Developmental toxicity of methylamines in mice. *J Toxicol Environ Health* 1991;32:319-330.
- Heberer H. Zur Problematik der entwicklung eines biologischen Expositionstests bei Aminbelastungen. *Zeitschrift für Klinische Medizin* 1986;41:143-146, cited in ref. 28.
- Hollingsworth RL, Rowe VK. *Chronic inhalation toxicity of dimethylamine for laboratory animals* (unpublished). The Dow Chemical Company Midland, Michigan 1964, cited in ref. 37.
- Hsie AW, San Sebastian JR, Perdue SW, Schenley RL, Waters MD. Multiple-endpoint mutagenesis with chinese hamster ovary (CHO) cells: Evaluation with eight carcinogenic and non-carcinogenic compounds. *Mol Toxicol* 1987;1:217-234.
- Isakova GK, Yakshat BY, Kerkis YY. The study of the mutagenic action of chemical substances in substantiation of hygienic standards. *Gig Sanit* 1971;36:9-13 (in Russian, abstract in English).
- Ishiwata H, Mizushiro H, Tanimura A, Takahashi A, Omori J, Murata T. Metabolic fate of the precursors of N-nitroso compounds (I). Gastro intestinal absorption of N-nitroso-dimethylamine and its precursors in guinea-pigs. *J Food Hyg Soc of Japan* 1977;18:524-528, cited in ref. 28.
- Ishiwata H, Iwata R, Tanimura A. Absorption, secretion and excretion of dimethylamine in rats. In: O'Neill IK, Borstel RC, Miller CT, Long J, Bartsch H (Ed) *N-nitroso compounds: occurrence, biological effects and relevance to human cancer*. IARC Scientific publications, 1984;57:255-260.
- Ishiwata H, Iwata R, Tanimura A. Intestinal distribution, absorption and secretion of dimethylamine and its biliary and urinary excretion in rats. *Food Chem Toxicol* 1984;22:649-653.
- Kantoh H, Ishihara M, Itoh M, Hosono K, Nishimura M. Allergens in rubber products. *Hifu* 1985;27:501-509 (in Japanese, abstract in English).
- Kremneva SN, Sanina PY. Toxicology of dimethylamine. *Toksikol Novykh Prom Khim Veshchestv Iss* 1961;1:41-53, cited in ref. 3.
- Lindahl R, Levin J-O, Andersson K. Determination of volatile amines in air by diffusive sampling, thiourea formation and high-performance liquid chromatography. *J Chromatography* 1993;643:35-41.
- Martelli A, Fugassa E, Voci A, Brambilla G. Unscheduled DNA synthesis induced by nitrosated ranitidine in primary cultures of rat hepatocytes. *Mutat Res* 1983;122:373-376.
- McNulty MJ, Heck AH. Disposition and pharmacokinetics of inhaled dimethylamine in the Fischer 344 rat. *Drug Metab Dispos* 1983;11:417-420.
- McNulty MJ, Casanova-Schmitz M, Heck AH. Metabolism of dimethylamine in the nasal mucosa of the Fischer 344 rat. *Drug Metab Dispos* 1983;11:421-425.
- Mellerio J, Weale RA. Hazy vision in amine plant operatives. *Br J Ind Med* 1965;23:153-154.
- Moeller vW. Untersuchungen chronisch amin- und dimethyl-formamid-exponierter und sich daraus ergebender Konsequenzen für augenärztliche Reihenuntersuchungen. *Zeitschrift für die Gesamte Hygiene und Ihre Grenzgebiete* 1972;18:332-335.
- Neurath GB, Dünger M, Pein FG, Ambrosius D, Schreiber O. Primary and secondary amines in the human environment. *Food Cosmet Toxicol* 1977;15:275-282.
- NIOSH. *Manual of Analytical Methods. Method 2010, 3 suppl.*, 3rd ed. Cincinnati, Ohio: National Institute of Occupational Safety and Health, 1989.
- Rechenberger J. Über die flüchtigen Alkylamine im menschlichen Stoffwechsel. II. Mitteilung: Ausscheidung im Harn nach oraler Zufuhr. *Z Physiol Chem* 1940;265:275-284.

35. Sax NI. *Dangerous properties of industrial materials*, 6th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1984.
36. Shiokawa K, Kawazoe Y, Tashiro K, Yamana K. Effects of various ammonium salts, amines, polyamines and  $\alpha$ -methylornithine on rRNA synthesis in neurula cells of *Xenopus laevis* and *Xenopus borealis*. *Cell Differentiation* 1986;18:101-108.
37. Simenhoff ML. Metabolism and toxicity of aliphatic amines. *Kidney Int* 1975;7:S314-S317.
38. Steinhagen WH, Swenberg JA, Barrow CS. Acute inhalation toxicity and sensory irritation of dimethylamine. *Am Ind Hyg Assoc J* 1982;43:411-417.
39. Suzuki Y. Guanidino compounds and aliphatic monoamines in acute and chronic renal failure. *Nippon-Jinzo-Gakkai-Shi* 1992;34:1077-1085 (in Japanese, abstract in English).
40. The Chemical Society. *Stability constants of metal-ion complexes*. London: The Chemical Society, Burlington House, 1971 (Special publication No 17 and 25).
41. *The Merck Index*, 8th ed. Merck & Co Inc: 1968.
42. Turcotte M, Johnson TA. Amines. Lower aliphatic amines. In: *Kirk-Othmer Encyclopedia of chemical technology Vol. 2*. 4rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1992:368-387.
43. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K, Speck W. Salmonella mutagenicity tests: III. Results from the testing of 255 chemicals. *Environ Mutagen* 1987;9:S1-S110.
44. Zeisel SH, DaCosta K-A. Increase in human exposure to methylamine precursors of N-nitrosamines after eating fish. *Cancer Res* 1986;46:6136-6138.
45. Zeisel SH, DaCosta K-A, Edriss BM, Fox JG. Transport of dimethylamine, a precursor of nitrosodimethylamine, into stomach of ferret and dog. *Carcinogenesis* 1986;7:775-778.
46. Zeisel SH, DaCosta K-A, La Mont JT. Mono-, di- and trimethylamine in human gastric fluid: potential substrates for nitrosodimethylamine formation. *Carcinogenesis* 1988;9:179-181.
47. Zhang AQ, Mitchell SC, Ayesh R, Smith RL. Dimethylamine formation in man. *Biochem Pharmacol* 1993;45:2185-2188.

## Etylendiamin

### 1. Fysikalisk-Kemiska Data

Kemiskt namn:	Etylendiamin (= EDA)
CAS-nummer:	107-15-3
Synonymer:	1,2-etandiamin, 1,2-diaminoetan, dimetylendiamin
Bruttoformel:	$C_2H_8N_2$
Strukturformel:	$H_2N - CH_2 - CH_2 - NH_2$
Molekylvikt:	60,10
Kokpunkt:	116,1 °C
Smältpunkt:	8,5 °C
Ångtryck vid 20 °C:	1,4 kPa
Densitet vid 25 °C:	0,898
pH (1 molar)	12,0 (39)
Flampunkt:	43,3 °C (closed cup) 33,9 °C (open cup)
Luktröskel:	1-11 ppm (30) (2,5-28 mg/m <sup>3</sup> )
Omräkningsfaktorer för lufthalter vid 20 °C, 101,3 kPa:	1 ppm = 2,49 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,40 ppm

EDA är en tjock, färglös, alkalisk och hygroskopisk vätska med ammoniaklukt, som är olöslig i bensen, något löslig i eter och fritt löslig i vatten. EDA är lättantändlig (1, 32, 40).

## 2. Användning, förekomst

### 2.1. Användning

EDA används inom kemisk och farmaceutisk industri (1, 36). Den utgör mellanprodukt i tillverkningen av svampbekämpningsmedel, kelatmedel, syntetiska vaxer, polyamidhartser, rengöringsmedel samt gummikemikalier. EDA används också som bränsletillsats och som härdare för epoxihartser. Den saluförs som fri bas eller som hydroklorid. I hydroklorerat tillstånd ingår den i en del mediciner såsom teofyllamin och har funnits i vissa hudkrämer. Inom veterinärmedicin används den som surgörare av urin (44).

### 2.2. Lufthalter i arbetsmiljö

1975-81 har man mätt luftnivåer av EDA i en fabrikslokal där man hanterat dels enbart EDA och dels i 50/50-blandning med n-butylamin (3). Totalt utfördes 1 053 mätningar. Under 1975 och 1980 översteg halten 2,5 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm) i 25 % respektive 19 % av mätningarna och cirka 5 % av mätresultaten dessa år visade på halter över 25 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm). Under åren 1976-79 samt 1981 var koncentrationen över 2,5 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm) i cirka 2 % av mätningarna och i inget fall översteg halten 25 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm). Det anges att processen var sluten och ventilationen god.

### 2.3. Metoder för analys av lufthalter

NIOSH anger en metod för EDA provtagning med Amberlite XAD-2, impregnerad med 1-naftylisotiocyanat, följt av HPLC-analys med UV-detektion (4, 23). Provtagning på Tenax-adsorbent belagd med 1-naftylättiksyreanhydrid, följt av HPLC-analys med fluorescensdetektion har också beskrivits (42), samt en metod med provtagning på kiselgel, där aminen derivatiseras med m-toluoylchlorid i samband med desorptionen och analyseras med HPLC och UV-detektion (33). EDA har provtagits i impingner och analyserats med hjälp av isotakofores och konduktivitetdetektor (13).

## 3. Kinetik

EDA kan tas upp via lungor, mag-tarmkanal och hud. Det metaboliseras delvis och utsöndras i urin och i viss utsträckning i feces.

### 3.1. Upptag

Råttor som erhöll radioaktivt märkt EDA-dihydroklorid i engångsdoser om 5, 50 respektive 500 mg/kg peroralt via intubation eller endotrachealt hade i det närmaste

total absorption via mag-tarmkanal respektive lunga vid dessa administrationsätt (43). Råttor som erhöll 10, 25 respektive 50 %-ig radioaktivt märkt EDA-dihydroklorid i vatten på huden under ocklusion i 24 timmar absorberade mer än 12, 55 respektive 61 % av tillförd dos (48). En betydande mängd (32, 12 respektive 11 %) fanns dessutom kvar i hudområdet där dosen applicerats.

### 3.2. Distribution

Hos råttor som erhöll radioaktivt märkt EDA-dihydroklorid i engångsdos om 5, 50 respektive 500 mg/kg peroralt, endotrachealt eller intravenöst förekom radioaktivitet över hela kroppen (43). Högre relativa halter förekom i sköldkörtel, lever, njurar och benmärg medan halten i hjärna var låg. Fördelningen mellan olika vävnader var likartad vid de olika doserna.

### 3.3. Biotransformation

Biotransformation hos Wistarråttor som erhölls radioaktivt EDA-dihydroklorid i engångsdos om 5, 50 respektive 500 mg/kg peroralt, endotrachealt eller intravenöst har studerats (43). Större delen utsöndrades via urinen och då framför allt som N-acetyletylendiamin (38-65 % av utsöndrad radioaktivitet i urinen). Även ometaboliserad EDA förekom i urinen (2-11 % av radioaktiviteten i urin vid dosen 5 mg/kg och 44-49 % vid 500 mg/kg) medan övriga metaboliter i urin ej identifierats. Av radioaktiviteten förelåg 6-9 % som CO<sub>2</sub> i utandningsluft inom 48 timmar. I ett annat försök där råttor erhöll radioaktivt märkt EDA-dihydroklorid, 50 mg/kg peroralt, utsöndrades 10-22 % som CO<sub>2</sub> (47).

Den genomsnittliga halveringstiden i plasma hos råttor som erhöll 25 eller 50 %-ig EDA-dihydroklorid på huden i en engångsdos var cirka 5 timmar (48). Råttor som på samma sätt hade erhållit 10 %-ig lösning på huden hade en genomsnittlig halveringstid på 9 timmar men p g a analytiska svårigheter är osäkerheten i denna uppskattning stor.

### 3.4. Eliminering

Vid engångsdoser om 5, 50 respektive 500 mg/kg <sup>14</sup>C-märkt EDA-dihydroklorid till Wistar hanråttor oralt, endotrachealt respektive intravenöst studerades radioaktiviteten under 48 timmar (48). Det mesta eliminerades inom första dygnet men vid högsta dosen förhållandevis mer under andra dygnet än vid övriga doser. Av radioaktiviteten eliminerades 42-65 % via urinen, 5-32 % i avföringen och 6-9 % i utandningsluften som <sup>14</sup>CO<sub>2</sub>.

Vid tillförel av 408, 1 020 respektive 2 040 µg <sup>14</sup>C-märkt EDA-dihydroklorid/cm<sup>2</sup> på cirka 10 % av huden hos hanråttor återfanns cirka 35 % i urinen vid de båda högre doserna och 7 % vid den lägre (47). I avföringen återfanns 0,4-2 %.

### 3.5. Biologiska exponeringsindikatorer

Uppgifter saknas.

## 4. Allmän toxicologi

### 4.1. Verkningsmekanismer, in vitro-studier

EDA är en GABA-A-receptoragonist och den aktiviteten förefaller bero på karbamataddukter som kan bildas efter reaktion med bikarbonat (37). Den kliniska relevansen av detta vid yrkesmässig exponering för EDA är okänd.

Mekanismen bakom den, av EDA orsakade IgE-förmedlade allergin, är troligen att EDA är ett haptent, vilket tillsammans med en makromolekyl, t ex albumin, utlöser ett specifikt immunsvaret (2).

### 4.2. Faktorer som påverkar toxiciteten

Alkaliteten påverkar toxiciteten. Neutraliserat EDA (EDA-dihydroklorid), orsakade mindre irritativa effekter på hud och i ögon (44).

### 4.3. Allmänna fynd

Smyth (35) fann att LD<sub>50</sub> för råttor var 1160 mg/kg (980-1370) för engångsdos EDA peroralt med två veckors uppföljning. För kanin var LD<sub>50</sub> på hud 0,73 ml/kg (0,64-0,82) vid två veckors uppföljning. Inhalation av 4 988 mg/m<sup>3</sup> (2 000 ppm) EDA under 8 timmar orsakade inga dödsfall bland råttor inom två veckor, medan alla råttor dog vid 9 975 mg/m<sup>3</sup> (4 000 ppm). Råttor som fick 350 mg/kg och dag i födan under två år ökade inte normalt i vikt och hade en förhöjd mortalitet (47).

## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud och slemhinnor

EDA har en irritativ verkan och kan förorsaka sensibilisering och kontakteksem.

Allergiskt kontakteksem mot EDA är inte ovanligt och prevalensen hos testade personer ligger mellan 0 och 18,8 % med ett medelvärde på cirka 2 % i olika populationer (27). I en kanadensisk undersökning av 542 patienter, med misstänkt allergiskt kontakteksem, var EDA det vanligaste ämnet som gav positiv reaktion hos män (12,3 %) och det tredje vanligaste ämnet hos kvinnor (6,4 %) (17).

Två fall av exfoliativ erytrodermi orsakad av EDA finns beskrivna. Det ena fallet hade sensibiliserats av en kräm mot svampinfektion och behandlades senare för andnöd med aminofyllin (en kombination av 80 % teofyllin och 15 % EDA-

hydroklorid), även kallat teofyllamin (26). Behandlingen gavs i form av suppositorier och fortgick i 10 dagar innan man uppdagade sambandet. Lapptest visade stark reaktion för EDA-hydroklorid men ingen reaktion för övriga i krämen ingående ämnen. I det andra fallet utvecklades en generaliserad exfoliativ erytrodermi efter ett par dagars behandling med aminofyllintabletter p g a obstruktiva besvär (5). Efter några månader intogs ytterligare en tablett aminofyllin och det exfoliativa erytemet återkom. Lapptest med EDA-hydroklorid var positiv medan test med teofyllin var negativ. Patienten hade yrkesmässigt exponerats för bl a syntetiska vaxer innehållande EDA.

EDA var kraftigt hud- och ögonirriterande vid tester på kanin medan neutraliserad EDA (EDA-dihydroklorid) har mycket låg irritativ effekt i ögon eller på hud (44).

Lösningar av 15-100 % EDA orsakade kvarstående hornhinneskada medan 5 %-ig lösning orsakade ringa skada på kaninöga (31). Smyth (35) fann hornhinneskada hos kanin motsvarande grad 8 på en 10-gradig skala. EDA kan orsaka ett fördröjt ödem i hornhinneepitelet som leder till seende med färgade ringar kring ljus (11). Detta anges kunna ske vid koncentrationer som är så låga att de vid flera timmars exponering inte ger något större obehag.

### 5.2. Effekter på andningsorgan

Då fyra personer fick inandas 249, 499 respektive 998 mg/m<sup>3</sup> (100, 200 respektive 400 ppm) EDA i 5-10 sekunder ansågs 249 mg/m<sup>3</sup> inte orsaka besvär, 499 mg/m<sup>3</sup> orsakade lätt irritation av näslemhinnan och en stickande känsla i ansiktet (28). Vid 998 mg/m<sup>3</sup> noterades en kraftig irritation av näslemhinnan.

Grupper av 15 han- och 15 honråttor utsattes för 147, 329, 636 respektive 1 207 mg/m<sup>3</sup> (59, 132, 255 respektive 484 ppm) EDA under 30 dagar (28). Samtliga råttor vid den högre koncentrationen dog inom 20 dagar och det förelåg lungödem hos 17 av 28 undersökta lungor. Lungödem förelåg hos en tredjedel av de råttor som utsattes för 636 mg/m<sup>3</sup> EDA, men ungefär samma frekvens noterades bland kontrollererna. Hos råttor exponerade för 147 eller 329 mg/m<sup>3</sup> förelåg inga lungförändringar.

Hos råttor som fick en diet innehållande EDA-dihydroklorid i doserna 50, 250 respektive 1 000 mg/kg och dag under 3 månader, noterades vid högsta dosen en ökad prevalens av trakeit hos hanråttor (44).

EDA kan orsaka astma. Såväl tidiga, som tidiga och sena samt enbart sena astmatiska reaktioner finns beskrivna, liksom astma hos personer med IgE-antikroppar mot EDA (3, 10, 12, 19, 21, 22).

Gelfand (10) har rapporterat om 20 fall av astma vid exponering för EDA där samtliga var positiva vid pricktest. De arbetade med gummi, kosmetika eller shellack. Vid inhalationsprovokation av dessa fall erhöles hosta och "astmatisk andning" direkt efter exponeringen men ej hos kontroller. Samtliga fall var atopiker eller hade allergiskt kontakteksem. Det finns inga uppgifter om exponeringsnivåer.

Lam (19) rapporterade om ett fall med reproducerbar sen astmatisk reaktion efter yrkesmässig exponering för EDA i fotokemikalier. Det saknas uppgifter om

exponeringsnivå. Personen var inte atopiker och hade negativ pricktest mot EDA och man fann inga precipiterande antikroppar för EDA.

Incidensen av yrkesastma studerades vid en kemisk fabrik som bl a hanterade aminer (12). EDA hade använts i en del av produktionen fram till 1978. Undersökningen gjordes 1979 då cirka 130 personer var anställda i produktionen men man studerade även 400 personer som varit anställda mellan 1965-79. Av dessa bedömdes 29 personer ha astma orsakad av piperazin och 3 hade astma orsakad av EDA. Av de senare tre fallen hade två både en omedelbar och sen reaktion medan en hade enbart sen reaktion. En av personerna med EDA-astma hade förhöjd halt av IgE i serum.

I en fabrik som producerat dels EDA och dels en 50/50-blandning av EDA och n-butylamin studerades EDA-relaterade luftvägssymtom mellan 1974 och 1981 (3). Totalt hade 369 personer arbetat där och man erhöll bedömbara svar på frågeformulär från 337. Av dessa bedömdes 38 som "EDA-sensibiliserade". Bedömningen grundar sig på uppgifter i sjukjournaler om att personerna fått rhinit, hosta och pip i bröstet vid utandning då de vistades i EDA-exponerad miljö och besvären försvann då de lämnade den miljön. Produktionen där EDA förekom var avskild och full skyddsutrustning skulle användas då personer vistades i maskinens närhet eller i rummet där kemikalier blandades. I den lokal där produktionen skedde hade 1 053 luftmätningar av EDA genomförts. Åren 1975 och 1980 översteg 19 resp. 25 % av mätvärdena  $2,5 \text{ mg/m}^3$  (1 ppm) medan övriga år endast ett par procent av proverna översteg  $2,5 \text{ mg/m}^3$ . 1975 respektive 1980 översteg cirka 5 % av mätvärdena  $25 \text{ mg/m}^3$  (10 ppm). De som "sensibiliserats" liknade övriga arbetare vad gällde kön, nuvarande och tidigare rökvanor, astmaanamnes och anamnes för allergi. Två av de med EDA-relaterade luftvägssymtom hade hudsensibiliserats för EDA före de fick luftvägssymtom. Den genomsnittliga tiden mellan anställningen och debut av EDA-relaterade luftvägssymtom var 15 månader. Av maskinoperatörerna hade 25 % EDA-relaterade luftvägsbesvär. Motsvarande frekvenser för laboratorietechniker, ingenjörer, och underhållsarbetare var 12, 11 respektive 5 %. Författarna ansåg att studien indikerar att det finns en risk för sensibilisering av EDA om nivåerna överstiger  $2,5 \text{ mg/m}^3$ .

Två fall av EDA-inducerad sen astmatisk reaktion har beskrivits från en kemisk fabrik (21). De började få symtom efter 4 respektive 7 månaders exponering för EDA. Provokation med inhalation av EDA var positiv liksom pricktest. Efter att de hade förflyttats till annan arbetsmiljö försvann symtomen. Det finns inga uppgifter om exponeringsnivåer.

Efter 3 månaders arbete i kemisk fabrik, där bl a EDA förekom, utvecklade en person astmatiska besvär (22). En provokationstest med  $75 \text{ mg/m}^3$  (30 ppm) EDA i 15 minuter var positiv men personen reagerade också på isopropylalkohol (50 ppm i 15 minuter). Histamintest var positivt och vid pricktest reagerade han för kvalster, husdamm, pollen, gräs och hund.

### 5.3. Effekter på lever

Råttor som inhalerat  $561$  eller  $1\,207 \text{ mg/m}^3$  (225 eller 484 ppm) EDA under 30 dagar uppvisade diffus svullnad och viktökning av levern medan dessa förändringar inte förelåg hos råttor som på motsvarande sätt inhalerat 147 eller  $329 \text{ mg/m}^3$  (59 eller 132 ppm) (28). Han- och honråttor (Fischer 344) som dagligen erhöll  $1\,000 \text{ mg/kg}$  EDA-dihydroklorid under 3 månader hade en hepatocellulär pleomorfism och ställvis degeneration av hepatocyter samt förhöjda transaminaser och ALP i serum (44). Dessa råttor hade dessutom en minskad tillväxt. Dessa förändringar förelåg ej vid 50 eller  $250 \text{ mg/kg}$  per dag. Råttor (Fischer 344) som under två år erhöll  $350 \text{ mg/kg}$  EDA-dihydroklorid med födan uppvisade hepatocellulär pleomorfism efter ett år men ej efter sex månader (45). Råttor som erhöll 20 eller  $100 \text{ mg/kg}$  på motsvarande sätt uppvisade inga leverförändringar.

### 5.4. Effekter på njurar

Vid ett dödsfall p g a att en arbetare fått EDA i vätskeform över sig och under några minuter inandats ångorna, noterades hemolys, anuri och hyperkalemi redan inom fyra timmar (24).

Råttor som inhalerat  $561$  eller  $1\,207 \text{ mg/m}^3$  (225 eller 484 ppm) EDA under 30 dagar uppvisade svullnad av njurarna och degeneration av tubuli (28). Man såg inga förändringar hos råttor som på samma sätt fått 147 eller  $329 \text{ mg/m}^3$  (59 eller 132 ppm) EDA. EDA-dihydroklorid i engångsdos,  $5,0 \text{ mmol/kg}$  intraperitonealt till mus, orsakade måttlig proteinuri (38).

### 5.5. Effekter på mag-tarmkanalen

Inga förändringar i mag-tarmkanal finns rapporterade hos råttor som fått EDA-dihydroklorid i födan; 50, 250 eller  $1\,000 \text{ mg/kg}$  och dag i tre månader respektive 20, 100 eller  $350 \text{ mg/kg}$  och dag i två år (44, 45).

### 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl

Råttor av båda könen (Fischer 344) som erhöll  $1\,000 \text{ mg/kg}$  och dag EDA-dihydroklorid under tre månader hade en sänkt hjärtvikt men den generella tillväxten var också sänkt och några abnorma patologiska fynd rapporterades ej (44). Hos råttor som erhöll 20, 100 eller  $350 \text{ mg/kg}$  och dag EDA-dihydroklorid via födan under två år rapporterades inga hjärtförändringar (45).

### 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ

Råttor som erhöll  $1\,000 \text{ mg/kg}$  och dag EDA-dihydroklorid under tre månader hade sänkt antal röda blodkroppar och sänkt MCV (44). Honråttor som på samma sätt erhöll  $250 \text{ mg/kg}$  och dag hade sänkt MCV. Hanråttor som fick  $250 \text{ mg/kg}$  och dag eller hon- och hanråttor som fick  $50 \text{ mg/kg}$  och dag hade inga sådana förändringar.



Vid en tvåårig studie sågs smärre förändringar i blodstatus hos hanrättor såsom sänkta erythrocyter, Hb och hematokrit vid 350 mg/kg och dag EDA-dihydroklorid givet i födan (45).

### 5.8. Effekter på centrala nervsystemet

Uppgifter saknas.

### 5.9. Effekter på perifera nervsystemet

Uppgifter saknas.

### 5.10. Övriga organeffekter

Råttor exponerade för 329 mg/m<sup>3</sup> (132 ppm) EDA under 30 dagar hade lätt håravfall (28). Däremot förelåg ej håravfall under motsvarande förhållanden vid 147 mg/m<sup>3</sup> (59 ppm).

ACGIH (1) refererar en industrirapport om EDA-hydroklorid per os, i vilken råttor som erhöll 100 mg/kg och dag i tre månader (angiven som mängd fri alkali) uppvisade ögonskador (katarakt, konjunktivit, svullen hornhinna och atrofi av retina) men inga andra organskador. Hos möss uppträdde inga skador vid 100 mg/kg.

## 6. Immunotoxicitet och allergier

IgE-förmedlad allergi har påvisats i två studier där personer med astma haft positiv pricktest mot EDA (10, 21). Man har också påvisat positiv Prausnitz-Küstnerreaktion i några av dessa fall. Däremot kunde ej IgG-antikroppar mot EDA påvisas.

Vid "Guinea pig maximization test" fann man att 0,5 % lösning av EDA sensibiliserade 60 % av djuren (41). Henck (16) genomförde en undersökning där albinomarsvin utsattes för upprepade lapptester med dels EDA och Na<sub>3</sub>EDTA. Alla marsvin sensibiliserades för EDA men ingen för Na<sub>3</sub>EDTA.

Korsreaktioner förekommer mellan EDA, DETA och trietylentetramin (TETA). Rudzki och Krajewska (29) redovisade lapptest på 137 patienter i yrkesmässig kontakt med epoxihartser. Av dessa var 23 sensibiliserade för EDA och de var även positiva för TETA. Ytterligare 48 personer var positiva för TETA men negativa för EDA. Kontakter med EDA hos de som förmodades vara primärt sensibiliserade för TETA kunde inte helt uteslutas men man misstänkte korsensibilisering. Ormerod (25) fann korsreaktivitet för polyaminer hos fem patienter som var sensibiliserade för såväl EDA som DETA och/eller TETA efter att ha hanterat smörjmedel (som innehöll DETA och TETA). Ingen hade tidigare exponerats för EDA. Av nio personer sensibiliserade för EDA via handkräm var sex också sensibiliserade för DETA och tre för både DETA och TETA.

Vid rutinlapptestning av 542 patienter med misstänkt allergisk kontaktdermatit var EDA det ämne som kom på andra plats (kvinnor och män tillsammans) då det gällde frekvensen av positiva reaktioner, 8,7 % (17). Man misstänkte att den höga frekvensen delvis berodde på förskrivning av hudkrämer innehållande EDA som stabilisator.

## 7. Mutagenicitet, genotoxicitet

Det förelåg mutagen effekt av EDA på Salmonellastammarna TA 1535 och TA 100 med och utan metabol aktivering (15). Författaren diskuterar att det kan ha förekommit någon förorening som svarat för den mutagena aktiviteten. Vid ett annat försök med TA 100 förelåg en svag mutagen aktivitet av EDA (18).

EDA hade ingen positiv mutagen effekt i vare sig ovarie-mutationstest eller i systemkromatidutbytestest på kinesisk hamster, med eller utan metabolisk aktivering, i DNA-reparation i hepatocyter från råttor (UDS-unscheduled DNA-synthesize) eller i en "dominant lethal study" på Fischer 344 hanrättor (34).

## 8. Carcinogenicitet

### 8.1. Humanstudier

Uppgifter saknas.

### 8.2. Djurstudier

Fischer 344-råttor som erhöll 20, 100 respektive 350 mg/kg och dag av EDA-dihydroklorid i födan under två år uppvisade ingen ökad cancerfrekvens (45).

DePass (8) studerade förekomst av hudtumör hos C3H-hanmöss som beströks 3 gånger/vecka med 25 µl 1 %-ig EDA vattenlösning under hela djurens livstid, 1 1/2-2 år. Man använde EDA från två olika tillverkare och ingen av mössen fick hudtumörer.

## 9. Reproduktionstoxikologi

EDA-dihydroklorid gavs i födan till råttor, dag 6-15 under graviditeten, i doserna 50, 250 och 1 000 mg/kg per dag (7, 9). Vid de två högre doserna var kroppsvikt och födointag hos honorna reducerad. Vid den högsta dosen var vikt och längd på fostren minskade, antalet resorberade foster ökad och det förelåg fler skelettvarianter samt avsaknad av och förkortning av en artär hos fostren.

Yang (46) har redovisat en tvågenerationers reproduktionsstudie med Fischer 344-råttor. I den första generationen fick 25 han- och 26 honrättor en diet innehållande EDA-dihydroklorid i doserna 500, 150 respektive 50 mg/kg och dag

medan dubbelt så många erhöill en kontrolldiet. I nästa generation erhöill 15 han- och 26 honrättor samma diet medan 30 han- och 52 honrättor fick kontrolldiet. Man studerade dödlighet, viktökning, födoingtag, organviktsförändringar och histologiska förändringar. Reproduktion bedömdes med fertilitetsindex, graviditetslängd, gestationsindex, gestationsöverlevnadsindex, 0-4 dagars överlevnad liksom 4-14 och 4-21 dagars överlevnad, antal levande och ådriga (veined) ungar per graviditet, ungaras vikt laktationsdag 4 och 14 samt vid avvänjning dag 21. Det enda negativa fyndet var att vid den högsta dosen ökade de vuxna rättorna signifikant mindre i vikt, hade minskad levervikt och ökad njurvikt.

EDA gavs till CD1-möss peroralt i 400 mg/kg per dag under dag 6-13 i graviditeten (14). Hos honnössen studerades mortalitet, viktförändring och antal levande kullar. En av honnössen dog och övriga parametrar skiljde sig ej från kontroller. Hos avkomman undersöktes antal levande födda per kull, överlevnad, födelsevikt och viktuppgång. Antal levande födda per kull och överlevnaden skiljde sig ej för kontroller. Födelsevikt och viktuppgång var statistiskt signifikant skiljd från kontroller.

## 10. Samband mellan exponering, effekt och respons

### 10.1. Effekter av korttidsexponering

Fyra personer som inandades 249, 499 respektive 998 mg/m<sup>3</sup> (100, 200 respektive 400 ppm) EDA i 5-10 sekunder ansåg inte 249 mg/m<sup>3</sup> vara störande medan 499 mg/m<sup>3</sup> orsakade irritation av nässlemhinnan och en stickande känsla i ansiktet (28). Den högsta koncentrationen, 998 mg/m<sup>3</sup>, upplevdes som intolerabelt p g a irritation av nässlemhinnan.

Ett dödsfall efter intoxikation med EDA har beskrivits hos en 36-årig arbetare som fick EDA i vätskeform över sig (24). Under några få minuter inandades han ångorna innan man fått av honom kläderna och sköljt honom. Fyra timmar senare utvecklades ett generaliserat erytem och anuri, efter 55 timmar dog han.

Vid inhalation av 4 988 mg/m<sup>3</sup> (2 000 ppm) EDA i 8 timmar överlevde alla rättor medan vid 9 975 mg/m<sup>3</sup> (4 000 ppm) dog samtliga (35).

EDA kan ge ett ödem i hornhinneepitelet men dosen då detta sker är inte känd (11). Spill av koncentrerad EDA på hud eller i ögon är kraftigt irriterande och kan orsaka nekros eller bestående hornhinneskada (35).

### 10.2. Effekter på långtidsexponering

Via journaler följdes 197 personer som arbetat med EDA i mer än en månad mellan 1947 och 1983 (20). Av dessa personer ansågs 3,5 % ha säkerställd sensibilisering i luftvägarna och 11,5 % hudsensibilisering men dessa bedömningar grundades sällan på lapptest, pricktest eller liknande utan på en klinisk bedömning. Sensibiliseringen i hud och luftvägar uppträdde oberoende av varandra. Sex av de sju

personer som bedömdes ha säkerställd sensibilisering i luftvägarna mot EDA debuterade inom ett år. Det saknas data över koncentrationen av EDA i arbetsmiljön. En uppföljning av dödligheten kunde inte påvisa någon ökad dödlighet. Den totala dödligheten var så låg (SMR=38) att man misstänker selektionsfel i materialet.

Pozzani (28) lät fyra grupper med 15 han- och 15 honrättor i vardera inandas 147, 329, 560 respektive 1 205 mg/m<sup>3</sup> (59, 132, 225 respektive 484 ppm) EDA under 30 dagar. Vid 1 205 mg/m<sup>3</sup> (484 ppm) dog alla djuren inom 20 dagar. Man noterade svullnad av lever och njure och degeneration av njurtubuli. Vid 560 mg/m<sup>3</sup> (225 ppm) överlevde 4 rättor i 30 dagar och deras lever och njure vägde signifikant mer medan kroppsvikten var lägre än kontrollernas. Vid 329 mg/m<sup>3</sup> (132 ppm) var det inga rättor som dog p g a EDA. Det enda fyndet var lätt håravfall. Vid 147 mg/m<sup>3</sup> (59 ppm) förelåg inga onormala avvikelser.

Tio Fischer 344 rättor av vardera könet fick EDA-dihydroklorid i doserna 1 000, 250 respektive 50 mg/kg per dag i födan under 3 månader (44). De rättor som fick 1 000 mg/kg och dag hade långsammare viktökning, sänkt antal röda blodkroppar och MCV samt förhöjning av levertransaminaser och ALP i blod. I levern noterades hepatocellulär pleomorfism och ställvis degeneration av hepatocyterna och dessutom fanns en ökad prevalens av trakeit hos hanrättor. Honrättor som erhöill 250 mg/kg och dag hade sänkt MCV medan hanrättor som erhöill samma dos inte uppvisade några avvikelser. De rättor som fick 50 mg/kg och dag hade inga förändringar.

Fischer 344-rättor erhöill EDA-dihydroklorid i doserna 350, 100 respektive 20 mg/kg per dag under 2 år (45). Rättor som erhöill dosen 350 mg/kg och dag hade ökad förekomst av förändringar i leverceller och blodbild, rinit och trakeit samt hade en högre mortalitet.

## 11. Forskningsbehov

Kunskapen om riskerna för utveckling av luftvägssjukdomar, framför allt astma, vid olika exponeringsnivåer är bristfällig.

Tabell 1. Effekter efter kortvarig exponering för EDA

Koncentration/tid	Art	Effekt	Referens
249 mg/m <sup>3</sup> /5-10 sek	Människa	"Icke obehagligt"	28
499 mg/m <sup>3</sup> /5-10 sek	Människa	Irritation i övre luftvägarna och stickande känsla i ansiktet	28
998 mg/m <sup>3</sup> /5-10 sek	Människa	Intolerabel p g a irritation i övre luftvägarna	28
9 975 mg/m <sup>3</sup> /8 tim	Råtta	Alla djur avled	35

Table 2. Effekter av långvarig exponering för EDA.

Koncentration/tid	Art	Effekt	Referens
Vanligen under 2,49 mg/m <sup>3</sup> , ibland en topp över 24,9 mg/m <sup>3</sup> /varierande tid	Människa	Luftvägssymptom tydande på sensibilisering	3
147 mg/m <sup>3</sup> /30 dag	Råtta	Inga avvikande fynd	28
329 mg/m <sup>3</sup> mg/30 dag	Råtta	Lätt hårfall	28
560 mg/m <sup>3</sup> /30 dag	Råtta	Ökad dödlighet	28
1 205 m <sup>3</sup> /30 dag 20 dagar	Råtta	Alla djur dog inom	28

## 12. Diskussion och värdering

Den kritiska effekten vid exponering för EDA är sensibilisering i luftvägarna med utveckling av astma och/eller rhinit samt hudsensibilisering (6, 10). Det saknas data för att göra en noggrann riskvärdering angående luftvägssensibilisering vid olika nivåer. En amerikansk studie fann att 26 % av de som arbetade i en miljö där de flesta mätningar visat nivåer under 2,49 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm), utvecklade luftvägssymptom tydande på sensibilisering (3). Under fem av de sju år mätningarna utfördes låg mer än 97 % av mätvärdena under 2,49 mg/m<sup>3</sup> och under de två andra åren låg 75 respektive 81 % av mätvärdena under 2,49 mg/m<sup>3</sup>. Två år noterades att cirka 5 % av mätvärdena låg över 24,9 mg/m<sup>3</sup>, övriga fem år fanns inget värde över 10 ppm. Dessa resultat tyder på att miljör där nivån i allmänhet understiger 2,49 mg/m<sup>3</sup>, men där enskilda toppar med högre nivåer kan uppträda, kan orsaka luftvägssymtom tydande på EDA-sensibilisering hos en betydande andel av de som exponeras.

Hudsensibilisering för EDA är vanlig (17, 27).

EDA är kraftigt irriterande på hud och i ögon, medan neutraliserad EDA endast är svagt irriterande.

Mutagenestest har visat något motstridiga resultat och det har diskuterats om de positiva fynd som gjorts berott på föroreningar i EDA. Två djurstudier, en med EDA inblandad i födan och en med EDA applicerad på hud har inte kunnat påvisa någon cancerogen effekt. Epidemiologiska studier relevanta för att bedöma risken för cancer hos människa saknas.

## 13. Referenser

- ACGIH. *Documentation of the threshold limit values and biological exposure indices*. 6th ed. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists Inc. 1991: 603-05.
- Agius RM, Nee J, McGovern B, Robertson A. Structure activity hypotheses in occupational asthma caused by low molecular weight substances. *Ann Occup Hyg* 1991;35:129-137.
- Aldrich FD, Stange AW, Geesaman RE. Smoking and ethylenediamine sensitization in an industrial population. *J Occup Med* 1987;29:311-314.
- Andersson K, Hallgren C, Levin J-O, Nilsson C-A. Determination of ethylenediamine in air using reagent-coated adsorbent tubes and high-performance liquid chromatography on the 1-naphthylisothiourea derivative. *Am Ind Hyg Assoc J* 1985;46:225-229.
- Bernstein JE, Lorincz AL. Ethylenediamine-induced exfoliative erythroderma. *Arch Dermatol* 1979;115:360-361.
- Cronin E. *Contact Dermatitis*. London: Churchill Livingstone 1980;241-245, 595-614.
- DePass LR, Woodside, Yang RSH. Teratology studies on ethylenediamine dihydrochloride (EDA) in Fischer 344 rats. *Toxicology* 1984;4:165.
- DePass LR, Fowler EH, Yang RSH. Dermal oncogenicity studies on ethylenediamine in male C3H mice. *Fundam Appl Toxicol* 1984;4:641-645.
- DePass LR, Yang RSH, Woodside MD. Evaluation of the teratogenicity of ethylenediamine dihydrochloride in Fischer 344 rats by conventional and pair-feeding studies. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9:687-697.
- Gelfand HH. Respiratory allergy due to chemical compounds encountered in the rubber, lacquer, shellac and beauty culture industries. *J Allergy* 1963;34:374-81.
- Grant WM. *Toxicology of the eye*. 2nd ed. Springfield, Illinois: Thomas CC, 1974:4-15, 112-113.
- Hagmar L, Bellander T, Bergö B, Simonsson BG. Piperazine-induced occupational asthma. *J Occup Med* 1982;24:193-197.
- Hansen L, Kristansson B, Sollenberg J. A method for the determination of ethylenediamine in workroom air. *Scand J Work Environ Health* 1984;10:95-98.
- Hardin BD, Schuler RL, Burg JR et al. Evaluation of 60 chemicals in a preliminary developmental toxicity test. *Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis* 1987;7:29-48.
- Hedenstedt A. Mutagenicity screening of industrial chemicals: seven aliphatic amines and one amide tested in the Salmonella/microsomal assay. *Mutat Res* 1978;53:198-199.
- Henck JW, Lockwood DD, Olson KJ. Skin sensitization potential of trisodium ethylenediaminetetraacetate. *Drug Chem Toxicol* 1980;3:99-103.
- Hogan DJ, Hill M, Lane PR. Results of routine patch testing of 542 patients in Saskatoon, Canada. *Contact Dermatitis* 1988;19:120-124.
- Hulla JE, Rogers SJ, Warren GR. Mutagenicity of a series of polyamines. *Environ Mutagen* 1981;3:332.
- Lam S, Chan-Yeung M. Ethylenediamine-induced asthma. *Am Review Respir Dis* 1980;121:151-155.
- Lewinsohn HC, Ou MG. A review of medical surveillance records of employees exposed to ethyleneamines. *J Occup Med* 1991;33:148-154.
- Nakazawa T, Matsui S. Ethylenediamine-induced late asthmatic responses. *J Asthma* 1990;27:207-212.
- Ng TP, Lee HS, Lee FYW, Wang YT, Tay VLH, Tan KT. Occupational asthma due to ethylene diamine. *Ann Acad Med Singapore* 1991;20:399-402.
- NIOSH. *Manual of Analytical Methods*. Method 2010, 3 suppl., 3rd ed. Cincinnati, Ohio: National Institute of Occupational Safety and Health, 1989.

24. Niveau J, Painchaux J. Intoxication mortelle par éthylène diamine. *Arch Mal Prof* 1973;34:523-528.
25. Ormerod AD, Wakeel RA, Mann TAN, Main RA, Aldridge RD. Polyamine sensitization in offshore workers handling drilling muds. *Contact Dermatitis* 1989;21:326-329.
26. Petrozzi JW, Shore RN. Generalized exfoliative dermatitis from ethylenediamine. Sensitization and induction. *Arch Dermatol* 1976;112:525-526.
27. Pevny vI, Schäfer U. Äthylendiamin-allergie. *Dermatosen in Beruf und Umwelt* 1980;28:35-40.
28. Pozzani UC, Carpenter CP. Response of rats to repeated inhalation of ethylenediamine vapors. *Arch Ind Hyg Occup Med* 1954;9:223-226.
29. Rudzki E, Krajewska D. Cross-reactions between ethylenediamine, diethylenetriamine and triethylenetetramine. *Contact Dermatitis* 1976;2:311-313.
30. Ruth JH. Odor thresholds and irritation levels of several chemical substances: A review. *Am Ind Hyg Assoc J* 1986;47:142-151.
31. Savitt LE. Contact dermatitis encountered in the production of epoxy resins. *AMA Arch Dermatol* 1955;71:212-213.
32. Sax NI. *Dangerous properties of industrial materials*. 6th ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1984.
33. Simon P, Lemacon C. Determination of aliphatic primary and secondary amines and polyamines in air by high performance liquid chromatography. *Anal Chem* 1987;59:480-484.
34. Slesinski RS, Guzzie PJ, Hengler WC, Watanabe PG, Woodside MD, Yang RSH. Assessment of genotoxic potential of ethylenediamine: in vitro and in vivo studies. *Mutat Res* 1983;124:299-314.
35. Smyth HF, Carpenter CP, Weil CS. Range-finding toxicity data: List IV. *Arch Ind Hyg Occup Med* 1951;4:119-121.
36. Spitz RD. *Diamines and higher amines, aliphatic*. In: Kirk-Othmer Encyclopedia of chemical technology 3rd ed. New York: John Wiley & Sons, 1979;7:580-603.
37. Squires RF, Saederup E. Mono N-aryl ethylenediamine and piperazine derivatives are GABA<sub>A</sub> receptor blockers: Implications for psychiatry. *Neurochem Res* 1993;18:787-793.
38. Tabor CW, Rosenthal SM. Pharmacology of spermine and spermidine. Some effects on animals and bacteria. *J Pharmacol Exp Therap* 1956;116:139-155.
39. The Chemical Society. *Stability constants on metal-ion complexes*. Burlington House, London: The Chemical Society, 1971 (Special publication No 17 and 25).
40. *The Merck Index*, 8th ed. Merck & Co Inc, 1968.
41. Thorgeirsson A. Sensitization capacity of epoxy resin hardeners in the Guinea pig. *Acta Derm Venereol* 1978;58:332-336.
42. Wu WS, Gaid VS. Quantification of solid sorbent-sampled airborne aliphatic polyamines on HPLC using a common calibration standard - application of the concept of isolation of a selected  $\pi$ -system of a derivative for specific detection. *J Liquid Chromatography* 1992;15:267-282.
43. Yang RSH, Tallant MJ. Metabolism and pharmacokinetics of ethylenediamine in the rat following oral, endotracheal or intravenous administration. *Fundam Appl Toxicol* 1982;2:252-260.
44. Yang RSH, Garman RH, Maronpot RR, McKelvey JA, Weil CS, Woodside MD. Acute and subchronic toxicity of ethylenediamine in laboratory animals. *Fundam Appl Toxicol* 1983;3:512-520.
45. Yang RSH, Garman RH, Maronpot RR, Mirro EJ, Woodside MD. Chronic toxicity/carcinogenicity study of ethylenediamine in Fischer 344 rats. *Toxicologist* 1984;4:53.
46. Yang RSH, Garman RH, Weaver EV, Woodside MD. Two-generation reproduction study of ethylenediamine in Fischer 344 rats. *Fundam Appl Toxicol* 1984;4:539-546.
47. Yang RSH, Tallant JT, McKelvey JA. Age-dependent pharmacokinetic changes of ethylenediamine in Fischer 344 rats parallel to a two-year chronic toxicity study. *Fundam Appl Toxicol* 1984;4:663-670.
48. Yang RSH, Anuskiewicz CM, Chu SC, Garman RH, McKelvey JA, Tallant MJ. Biochemical and morphological studies on the percutaneous uptake of [<sup>14</sup>C] ethylenediamine in the rat. *J Toxicol Environ Health* 1987;20:261-272.

## Sammanfattning

Andersson E, Järholm B. Dietylamin, Dietylenetriamin, Dimetylammin, Etylendiamin. Nordiska expertgruppen för kriteriedokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:7-58.

Denna översikt omfattar hälsoeffekter av DEA, DETA, DMA och EDA.

Den kritiska effekten för DEA är irritation i ögon och luftvägar.

DETA är en påtagligt hudsensibiliserande substans med irritativa effekter på slemhinnor och luftvägar. Ett fall av astma orsakad av DETA finns rapporterat. Den kritiska effekten av DMA är skador på slemhinnorna i luftvägar och på luktsinnesceller.

Den kritiska effekten för EDA är risken för sensibilisering i luftvägar och hud. Epidemiologiska data antyder att luftvägssymtom som beror på EDA-sensibilisering kan vara en påtaglig risk vid nivåer kring 2,49 mg/m<sup>3</sup> (1 ppm).

*Nyckelord:* Dietylamin, dietylenetriamin, dimetylammin, etylenediamin, gränsvärde, toxikologi, yrkesmässig exponering, översiktsartikel.

En engelsk version finns publicerad i *Arbete och Hälsa* 1994;23:1-45.

Dokumentet är baserat på litteratursökningar i Riskline, NIOSHTIC, CISILO, Arblin, Toxline, RTEC, Current contents och Life Sciences.

## Appendix

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av dietylamin i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	10	30		1988	1
Finland	10	30	S, 15 min	1993	2
Island	10	30	S	1989	3
	15	45	15 min		
Nederländerna	10	30		1994	4
Norge	10	30		1989	5
Sverige	10	30	S	1993	6
	15	45	15 min		
USA (ACGIH)	10	30		1994-95	7
	25	75	STEL		
(NIOSH)	10	30	TWA	1990-91	8
	25	75	STEL		

S: penetrerar huden  
STEL: korttidsexponering

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av dietylentrilamin i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	1	4		1988	1
Finland	1	4	S	1993	2
	3	12	STEL		
Island	1	4.5	A, S	1989	3
	2	10	STEL		
Nederländerna	1	4	S	1994	4
Norge	1	4	A, S	1989	5
Sverige	1	4.5	A, S	1993	6
	2	10	STEL		
USA (ACGIH)	1	4.2	S	1994-95	7
(NIOSH)	1	4		1990-91	8

A: allergisk, sensibiliserande  
S: penetrerar huden  
STEL: korttidsexponering

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av dimetylamin i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	10	18		1988	1
Finland	10	18	15 min	1993	2
Island	-	-		1989	3
Nederländerna	1	1.8		1994	4
Norge	10	18		1989	5
Sverige	2	6		1993	6
	5	15	STEL		
USA (ACGIH)	10	18		1994-95	7
(NIOSH)	10	18		1990-91	8

S: penetrerar huden  
STEL: korttidsexponering

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av etylendiamin i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	10	25		1988	1
Finland	10	25		1993	2
	20	50	S, STEL		
Island	10	25	S	1989	3
	15	35			
Nederländerna	10	25		1994	4
Norge	10	25	A	1989	5
Sverige	10	25	S	1993	6
	15	35	STEL		
USA (ACGIH)	10	25		1994-95	7
(NIOSH)	10	25		1990-91	8

A: allergisk, sensibiliserande  
S: penetrerar huden  
STEL: korttidsexponering

## Referenser till Appendix

1. Gränsvärder for stoffer og materialer. Arbejdstilsynet - Anvisning Nr.3.1.0.2. København (1988).
2. HTP-VÅRDEN 1993. Säkerhetsmeddelande 25. Arbetsministeriet, Tammerfors (1993). ISBN 951-47-8343-3.
3. Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun. Skrá yfir mengunarmörk. Vinnueftirlit Ríkisins. Reykjavík 1989.
4. De Nationale MAC-lijst 1994. Arbeidsinspectie P 145, Den Haag. ISBN 90-399-0600-9.
5. Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Bestillingsnr. 361. Direktoratet for arbeidstilsynet, Oslo (1989).
6. Arbetarskyddsstyrelsens författningssamling: Hygieniska gränsvärden. AFS 1993:9, Stockholm (1993). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. Rules and Regulations. Fed. Reg. 54 (1990) 2329-2984.

# Industriella enzymer

Jonas Brisman

Yrkesmedicinska kliniken  
Sahlgrenska sjukhuset  
St. Sigfridsgatan 85  
S-412 66 Göteborg

## Innehåll

1. Introduktion
  2. Industriella enzymer
  3. Förekomst, produktion och användning
  4. Yrkesmässig exponering
  5. Provtagning och analys av enzym i arbetsmiljön
    - 5.1. Luftnivåer
  6. Toxikokinetik
  7. Metoder för biologisk monitorering
  8. Mekanismer för toxicitet
  9. Effekter på djur och vid in vitro-studier
    - 9.1. Irritation och sensibilisering
    - 9.2. Akut toxicitet
  10. Observationer hos människa
    - 10.1. Akuta effekter vid kontakt eller systempåverkan.
    - 10.2. Organeffekter vid upprepad exponering
      - 10.2.1. Hud
      - 10.2.2. Andningsorgan
    - 10.3. Genotoxiska effekter
    - 10.4. Carcinogenicitet
    - 10.5. Reproduktions- och utvecklingstoxicitet
  11. Dos-effekt och dos-responssamband
    - 11.1. Enstaka korttidsexponering
    - 11.2. Långtidsexponering
  12. Tidigare utvärdering av (inter)nationella myndigheter
  13. Utvärdering av risker för människa
    - 13.1. Grupper med ökad risk
    - 13.2. Bedömning av hälsorisker
  14. Forskningsbehov
  15. Sammanfattning
  16. Referenser
- Appendix

## 1. Introduktion

Kemiska reaktioner i biologiska system förekommer sällan utan att det finns en katalysator närvarande. Dessa katalysatorer är proteiner eller glykoproteiner, så kallade enzymer. Förekomst av enzymer kan sägas vara en förutsättning för liv. Enzymer karakteriseras av katalytisk kapacitet och specificitet. De påskyndar reaktioner minst en miljon gånger. Dessa egenskaper gör dem också mycket användbara i bioteknologiska sammanhang.

Detta dokument omfattar främst immunologiskt medierade hälsoeffekter av enzymer på andningsorgan och hud. Den tillgängliga dokumentationen avspeglar beskrivningen av toxiska effekter orsakade av omgivningsfaktorer av forskare inom allergi och dermatologi; först kommer fallrapporter, efter det tvärsnittsstudier. Studier med en longitudinell epidemiologisk design är mera sällsynta.

## 2. Industriella enzymer

Tabell 1. Industriella enzymer och deras huvudsakliga användning

Acylas	läkemedel
Amylas	alkohol, djurfoder, bagerier, ölbyggning, tvättmedel, massa och papper, stärkelse- och sockerproduktion, textilindustri, vin och fruktjuicer
Amyloglukosidas	bakning, ölbyggning
Cellulas	alkohol, djurfoder, ölbyggning, proteinindustri, massa och papper, textilindustri, bagerier
Glukanas	alkohol
Glukosidas	stärkelse- och sockerproduktion
Glukosomeras	bagerier
Glukosoxidas	ölbyggning
Karbohydras	läkemedel
Kymotrypsin	mejerier
Laktas	mejerier, läderproduktion, olja och fett, stärkelse- och sockerproduktion, vin och fruktjuice
Lipas	vin och fruktjuice
Pektinas	alkohol, djurfoder, bagerier, ölbyggning, tvättmedel, läderproduktion, köttbearbetning, proteinindustri
Proteas	stärkelse och sockerproduktion
Pullulas	läkemedel
Streptokinas	läkemedel
Trypsin	läkemedel
Urokinas	läkemedel
Xylanas	massa och papper



### 3. Förekomst, produktion och användning

Människan har använt enzymer sedan förhistorisk tid då man upptäckte att must från druvor kunde jäsas och omvandlas till vin (17). Av en slump upptäcktes det att processen var beroende av luftburna sporer från jästsvampar som föll ner i mustkaren. Herdar, vilka använde magsäcken från slaktdjur som vätskebehållare, upptäckte att mjölken som förvarades i magsäckar omvandlades till ost. Detta "mysterium" beskrevs av Homerus i Odyssén. I båda dessa exempel var det i själva verket naturligt förekommande enzymer som gjorde reaktionerna möjliga.

Liknande upptäckter under följande århundraden lärde människan viktiga processer som brödjäsning och ölbrygning. Forskare, som studerade jäsningsprocesser, upptäckte under 1800-talet förekomsten av enzym. Anselm Payen och Jean Francois Persez isolerade en substans från malt som omvandlade stärkelse till socker. Denna substans var ett amylasenzym. Theodor Swann isolerade 1836 den aktiva substansen från magsäcken, pepsin. År 1876 föreslog William Kühne ordet: "enzym". Enzym kommer från det grekiska orden "en" vilket betyder "i" och "zyme" vilket betyder "jäst".

I Fjärran Östern skedde en parallell utveckling där mögelsvampen *koji* sedan länge användes vid framställning av, framför allt, jästa spritdrycker. Den japanska forskaren Takamine utvecklade en industriell produktion av fungalt amylas genom att kultivera *aspergillus oryzae* på ris och spannmål.

Otto Röhm, en av föregångsmännen inom modern enzymteknologi i Tyskland, beskrev 1905 användningen av material från bukspottkörtlar för garvning av läder. Tidigare hade hudar och skinn lagts i bad med dynga från djur och därmed utnyttjat proteolytiska enzym som katalyserar nedbrytningen av proteiner i skinn (i själva verket var det inte enzymer från djuren som var aktiva, snarare enzymer av bakteriellt ursprung som fanns i djurens mag-tarmkanal). Användningen av det proteolytiska enzymet trypsin från bukspottkörteln gjorde inte bara arbetet för garvarna mera tilltalande, utan gjorde också garvningsprocessen mera lättstyrd.

Enzyminnehållande gallsaft från djur sägs ha använts för tvätt redan under antiken. Det första kommersiella enzyminnehållande tvättmedlet, *Burnus*, marknadsfördes år 1913. Detta trypsininnehållande tvättmedel blev inte någon succé. Enzymet var instabilt i den alkaliska miljö, som orsakades av det höga sodainnehållet i pulvret.

Under andra världskriget, till följd av brist på tvål, ökade intresset kraftigt för användningen av enzymer vid tvätt. Forskning och utveckling inom området blev allt intensivare.

Ett schweiziskt företag marknadsförde 1959 ett tvättmedel, som innehöll enzymet proteas från en stam av bakterien *Bacillus subtilis*. Detta var ett stort framsteg inom enzymteknologin, eftersom bakterierna kunde odlas i stora tankar och därmed möjliggjordes storskalig produktion utan beroende av organ från djur. Proteolytiska enzymer från dessa bakterier kallas subtilisiner.

Under tiden utvecklade ett danskt företag ett subtilisin som var stabilt under förhållanden med värme och basisk miljö under normal tvätt. Denna produkt

introducerades 1962. Genombrottet för enzyminnehållande tvättmedel kom när det danska företaget, i samarbete med schweiziska och holländska företag, marknadsförde sina produkter på den europeiska marknaden 1965 och i Amerika under de kommande åren.

Enzymmarknaden har en uppskattad omsättning på 700 miljoner USD och med en årlig ökning på 8-12 % (22). I Skandinavien förekommer enzymproduktion i Danmark och Finland. Detaljerad beskrivning av sådan produktion är vanligen konfidentiell med hänvisning till den använda högteknologin.

Produktionen är huvudsakligen baserad på jäsning i tankar med någon av fyra slags mikroorganismer, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Saccharomyces* eller *Trichoderma*. Extraktion från växter (papain, bromelain) och bukspottskörtlar från djur förekommer också. Med användningen av modern molekylär biologi och genetisk teknologi kan nu renare och mera effektiva enzymer produceras i stor mängd.

### 4. Yrkesmässig exponering

Enzymer har idag ett stort antal användningsområden och kan förekomma inom ett flertal arbetsmiljöer. Bagare är sannolikt den största enskilda exponerade yrkesgruppen då enzymer, företrädesvis  $\alpha$ -amylas, rutinmässigt tillsätts mjöl i många länder (46). Huvudsakliga användningsområden för enzym är uppräknade i tabell 2.

Tabell 2. Viktigare enzymanvändningar och använda enzymer.

Alkoholproduktion	amylas, cellulas, glukosidas, proteas
Bagerier	amylas, amyloglukosidas, cellulas, glukosidas, proteas
Djurfoder	amylas, cellulas, glukonas, proteas
Köttbearbetning	proteas
Läderproduktion	lipas, proteas
Läkemedel	amylas, kymotrypsin, streptokinas, trypsin
Massa och papper	amylas, cellulas, xylanas
Mejeri	laktas, lipas
Olja och fett	lipas
Proteinindustri	proteas, cellulas
Stärkelse och sockerproduktion	amylas, glukosidas, lipas, pullulas
Textilindustri	amylas, cellulas
Tvättmedel	proteas, amylas
Vin och fruktjuice	amylas, glukanas, lipas, pektinas
Ölbrygning	amylas, amyloglukosidas, cellulas, karbohydras, glukanas, proteas

## 5. Provtagning och analys av enzym i arbetsmiljön

Frågan om enzymexponering reduceras ofta till tudelningen "ja" eller "nej". Detta beror delvis på svårigheter vid provtagning och analys av mycket låga halter enzymer i luftburet damm. Till en början utfördes provtagning med en s k "galley sampler" vilket var en högvolymsprovtagnare för stationär provtagning. Dessa mätningar användes huvudsakligen för tekniska åtgärder mot damning och har sällan publicerats. Senare, när mera känsliga analystekniker utvecklats, började bärbara pumpar för personlig provtagning med mindre provtagningsvolymmer användas.

Enzym kan analyseras genom att mäta den enzymatiska aktiviteten efter det att man tillsatt ett lämpligt substrat. Sådana enzymatiska analyser har rapporterats i ett flertal exponeringsundersökningar. Den enzymatiska aktiviteten av proteolytiska enzymer, exempelvis subtilisiner, uttrycktes initialt som glycinenheter (GU) och luftkoncentrationer som GU/m<sup>3</sup> luft (18, 68). Andra enzymatiska tester har utvecklats, vanligen med kommersiellt tillgängligt enzym med ett innehåll av 2-3 % rent, kristallint subtilisin, som standard. Detta gjorde det möjligt att ange luftkoncentrationer i mg/m<sup>3</sup> (76). Ett test av amylasaktivitet, med ett kommersiellt amylas som standard, har också rapporterats (16).

Exempel på mera känsliga immunokemiska analystekniker är ett radioimmuno-test för papain (77) och ett test för subtilisin (1). För närvarande finns det inget enskilt test som kan analysera olika enzymer.

ACGIH föreslog 1970 ett takgränsvärde för rent subtilisin på 0,3 mg/m<sup>3</sup>. Detta föreslagna gränsvärde sänktes till 0,06 mg/m<sup>3</sup> 1973 och dess motsvarighet i glycinenheter till 2,5 GU/m<sup>3</sup>. Detta gränsvärde antogs 1974 (2). Eftersom standarden för detta gränsvärde förutsätter rent subtilisin, måste gränsvärdet justeras när en standard med lägre subtilisininnehåll används.

ACGIH har publicerat en tabell med gränsvärden justerade efter subtilisininnehållet i standarden (2, tabell 3).

Som framgår av tabellen kan små förändringar av enzymkoncentrationen i standarden orsaka en påtaglig skillnad i det beräknade gränsvärdet. Detta är naturligtvis ett hinder vid jämförelse mellan luftnivåer i exponeringsstudier. Det är inte känt om gränsvärdet för subtilisin går att överföra även till andra enzymer.

Tabell 3. Några ekvivalenta uttryck för gränsvärde i mg/m<sup>3</sup>.

Innehåll	Rent enzyminnehåll (%)	Gränsvärde (mg/m <sup>3</sup> )
Rent kristallint aktivt enzym	100	0,00006
Sigma "rent" enzym	60	0,0001
"As received" enzym	2,4	0,0002
"Förblandat" eller granulerat	0,36	0,017
Färdig produkt	0,012	0,5

## 5.1. Luftnivåer

Tabell 4 är en uppräknig av publicerade mätningar av enzymhalter i arbetsmiljöer.

Weill et al rapporterade stationära mätningar från två tvättmedelsfabriker (76). Provtagningen avsåg att fastställa medel- och toppexponering för subtilisiner i tre exponeringsgrupper. I fabrik A, i vilken man genomfört dammbekämpningsåtgärder, varierade medel- och toppexponeringen mellan <1-18 µg enzym/m<sup>3</sup> och toppexponeringarna nådde upp till 60 µg/m<sup>3</sup>. I fabrik B (utan dammbekämpningsåtgärder) var medel- och toppexponeringen mellan <1 och 30 µg/m<sup>3</sup>, toppexponering upp till 1000 µg/m<sup>3</sup>. Resultaten motsvarar en halt av 3 % kristallint subtilisin och det motsvarande gränsvärdet enligt ACGIH är omkring 3 µg/m<sup>3</sup>.

Göthe et al undersökte två tvättmedelsfabriker (37). I fabrik A blandades tvättmedlet med enzympulver utan någon dammbekämpning. I fabrik B förelåg enzymet som granulat och åtgärder för dammkontroll hade genomförts. Fabrik A hade subtilisinnivåer om 5,4 GU/m<sup>3</sup>, den andra omkring eller under 1 GU/m<sup>3</sup>. Både stationära och personliga mätningar gjordes.

Juniper et al rapporterade enzymkoncentrationer med stationär provtagning i förpackningsavdelningen i en fabrik som tillverkade enzyminnehållande tvättmedel. Mätningarna var gjorda 1969-75 (43). I början av denna period låg nivåerna kring 1 GU/m<sup>3</sup> och avtog mot slutet av perioden till ungefär 0,2 GU/m<sup>3</sup>.

Liss och medarbetare mätte subtilisiner i en tvättmedelsproducerande industri (47). Värdet mellan <0,002-1,5 µg/m<sup>3</sup> i blandningsavdelningen och <0,002-0,76 µg/m<sup>3</sup> i förpackningsavdelningen rapporterades (i detta fall omräknades gränsvärdet på 0,06 µg/m<sup>3</sup> till att motsvara en uppmätt nivå av 3,9 µg/m<sup>3</sup> eftersom det använda subtilisinet endast innehöll 6,2 % aktivt enzym).

Agarwal et al mätte också koncentrationen av tvättmedelsenzymer (1). Stationära mätningar visade i medeltal 0,023 µg/m<sup>3</sup> vid tillverkning och 0,012 µg/m<sup>3</sup> vid förpackning. Personlig provtagning visade 0,0043 µg/m<sup>3</sup> vid tillverkning och <0,036 µg/m<sup>3</sup> vid förpackning. Ingen jämförelse med gränsvärdet gjordes i denna studie.

Swanson et al mätte papainkoncentrationer i en köttförpackningsfabrik med en immunokemisk metod (71). Personlig provtagning visade medelkoncentrationer mellan 0,47-0,99 µg/m<sup>3</sup>. Enligt författarna är dessa värden överskattningar för rent papain eftersom standarden innehöll endast ungefär 14 % rent papain. Stationära mätningar gjordes också. En Andersen kaskadimpaktor användes för att undersöka partikelstorleksfördelningen; ungefär hälften av det luftburna papainet fanns på partiklar med en aerodynamisk diameter <9,4 µm.

α-Amylas som mjöltillsatsmedel har mätts med en enzymaktivitetsmetod i tre undersökningar. Samma kommersiella α-amylas användes som standard.

Brisman och Belin använde personburen provtagning och mätte 30 µg/m<sup>3</sup> under förpackning av mjöltillsatsmedel (16). α-Amylasexponeringen mättes både personburet och stationärt i sex finska bagerier (42).

Burdorf et al gjorde personburna mätningar i sammanlagt 12 slumpvis utvalda bagerier i västra Sverige (19).

Tabell 4. Uppräkning av exponeringsmätningar av enzymer

Enzym	Analysmetod	Exponering grupp/uppgift	Uppmätt nivå ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )		Referens
			medel	variation	
Subtilisin	E	Fabrik A			76
		<i>låg</i>	<1		
		<i>moderat</i>	1-5		
		<i>hög</i>	3-18		
		Fabrik B			
		<i>låg</i>	<1		
		<i>moderat</i>	1-5		
		<i>hög</i>	3-30		
Subtilisin	E	<i>Blandning</i>	0,64	<0,002-1,57	47
		<i>Förpackning</i>	0,49	<0,002-0,76	
Subtilisin	I	Tillverkning			1
		<i>stationärt</i>	0,023	<0,008-0,031	
		<i>personburet</i>	<0,043	<0,004-0,021	
		Förpackning			
		<i>stationärt</i>	0,012	0,008-0,017	
		<i>personburet</i>	<0,036	0,004-0,18	
Subtilisin	I	<i>kvalitets-</i>	0,53	0,45-0,60	71
		<i>tekniker</i>			
		<i>förpackare 1</i>	0,99	0,24-1,70	
		<i>förpackare 2</i>	0,47	0,29-1,10	
		<i>förpackare 3</i>	0,70	0,22-1,30	
Amylas	E	<i>förpackning</i>	30		16
Amylas	E	<i>vägning</i>	7,3	1,2-21,0	42
		<i>brödtill-</i>	0,2	0,1-2,0	
		<i>tillverkning</i>			
Amylas	E	<i>bagare</i>	0,6		19
			Uppmätt nivå ( $\text{GU}/\text{m}^3$ )		
			medel	variation	
Subtilisin	E	<i>Fabrik A</i>	5,4	2,9-10,4	38
		<i>Fabrik B</i>	1	0,2-1,7	
Subtilisin	E	Packning		0,2-1	43

E = enzymatisk  
I = immunokemisk

## 6. Toxikokinetik

Enzymexponering förekommer som damm- eller vätske aerosol. I detta avseende finns inga specifika uppgifter för enzymer, utan de antas uppträda som andra partiklar. Eftersom enzymbioser kan härröra från olika källor är storleken på partiklarna också mycket varierande. Partiklarna deponeras på huden eller på luftvägarnas slemhinnor. Deponeringen i luftvägarna beror av partikelstorleken (15).

## 7. Metoder för biologisk monitorering

Inga metoder har rapporterats.

## 8. Mekanismer för toxicitet

När enzym kommer i kontakt med huden eller andningsorganens slemhinnor kan antikroppar mot detta enzym bildas (sensibilisering). När personen påträffar det sensibiliserande ämnet igen kan en kontaktdermatit uppstå om det finns en cellmedierad allergisk reaktion i huden, eller en allergisk snabbreaktion, om det finns IgE-antikroppar. Andra antikroppar kan också bildas, företrädesvis IgG. De förefaller att vara markörer för exponeringen snarare än ge upphov till allergiska symptom.

Direkt enzymatisk verkan kan också orsaka hälsoeffekter på enzymexponerad vävnad.

## 9. Effekter på djur och vid in vitro-studier

### 9.1. Irritation och sensibilisering

Marsvin sensibiliserades genom intratrakeal installation av det proteolytiska enzymet papain. En andra dos kan orsaka en dödlig allergisk reaktion (36).

### 9.2. Akut toxicitet

En enstaka intratrakeal installation av 1 mg papain på marsvin eller råttor ger upphov till emfysem (35). Hamstrar som inhalerade en aerosol med 3 % papain under fyra timmar får också emfysem (32).

Inhalation av antingen subtilisin eller papain orsakar blödning från andningsorganen på försöksdjur. Emfysem uppkommer hos djur som tillfrisknar från den akuta effekten av papain, men inte hos dem som tillförts subtilisin (33).

## 10. Observationer hos människa

### 10.1. Akuta effekter vid kontakt eller systempåverkan.

Hudkontakt med tvättmedelsenzym kan orsaka en dermatit pga en primärrirritativ effekt (52).

### 10.2. Organeffekter vid upprepad exponering

#### 10.2.1. Hud

Efter introduktionen av enzyminnehållande tvättmedel diskuterades möjligheten av dermatologiska effekter bland användare. Problemen beskrevs vid upprepade tillfällen som irriterande, och antogs bero på icke-enzymatiska ingredienser (5, 52).

Ducksbury och Dave rapporterade fall och en tvärsnittsstudie med frågeformulär bland hemarbetande (24). Prevalensen av tvättmedelsbetingad dermatit var 5 %. Lapptester med enzyminnehållande tvättmedel var negativa.

Bolam et al drog slutsatsen efter en studie bland husmödrar att enzymatiska tvättmedel inte var mer irriterande än konventionella (14).

Göthe et al studerade 50 arbetare exponerade för enzymer vid tvättmedelstillverkning (38); 47 % rapporterade arbetsrelaterade hudsymptom och det fanns ett dos-responssamband. Reaktionerna uppfattades som irriterande. I ett fall uppkom generaliserad urtikaria vid enzymkontakt.

Zachariae et al undersökte 79 arbetare med hudsymptom och exponering vid enzymproduktion, och 12 oexponerade kontroller (81). Lapptester med subtilisin var negativa. En hög enzymkoncentration ansågs ha orsakat irriterativ dermatit.

Schirmer et al beskrev en bagare med dermatit (66). Han hade positivt pricktest mot både  $\alpha$ -amylas och brödförbättringsmedel. Snabbreaktionen mot  $\alpha$ -amylas kvarstod i 48 timmar. Ett lapptest med  $\alpha$ -amylas var också positivt liksom RAST mot  $\alpha$ -amylas, malt och brödförbättringsmedel.

Fyra fall av kontakturtikaria, vilka uppkom efter 0,5-4 års exponering för enzymerna cellulas och xylanas, rapporterades av Kanerva och Tarvainen (44). Samtliga fall utvecklade senare rinit och astma och två av dem allergisk kontaktdermatit. Hudtest mot cellulas och xylanas var positiva i samtliga fall. Ett lapptest var positivt mot cellulas i ett fall och mot xylanas i det andra.

Brisman och Belin rapporterade 20 amylasexponerade arbetare i en tvärsnittsstudie (16). De fann signifikant mera hudsymptom jämfört med kontroller.

Morren et al (56) beskrev 32 konsekutiva bagare lapptestade med  $\alpha$ -amylas. Sju visade en snabbreaktion och 2 hade en fördröjd hudreaktion. Av de 7 genomförde 4 pricktest med  $\alpha$ -amylas och alla var positiva.

#### 10.2.2. Andningsorgan

##### Tvättmedelsenzym i arbetsmiljön

Studier av luftvägssymptom och sensibilisering tillsammans med exponeringsdata är uppräknade i tabell 5.

Den första rapporten om hälsoeffekter vid hantering av tvättmedelsenzym rapporterades 1969 av Michael LH Flindt. När han arbetade som företagsläkare i en tvättmedelsfabrik 1967 observerade han en "epidemisk" sjukdom bland de anställda. Luftvägssymptom rapporterades hos 28 fall. Positiva hudtester med tvättmedelsenzym indikerade en allergisk snabbreaktion som förklaring till symptomen. Spirometri och lungröntgen var normala. Precipiterande antikroppar hittades hos några av de sjuka individerna men också bland oexponerade kontroller (27).

I samma nummer av The Lancet beskrev J Pepys och medarbetare immunologiska fynd hos tre patienter remitterade av Flindt. Bortsett från en upprepning av hudtesterna fann man såväl snabba som fördröjda astmatiska reaktioner vid inhalation av enzympulver. Återigen fanns precipitiner hos de undersökta, men även i sera från kontroller (63).

De två artiklarna kommenterades i en ledare med uppmaning till förebyggande åtgärder mot organiskt damm som orsak till allergisk lungsjukdom (3).

Flera tvärsnittsstudier bekräftade fynden i dessa fallbeskrivningar. Greenberg et al fann att 40 % av 121 undersökta arbetare hade positiva hudtest mot enzymer efter ungefär två års exponering (34). Sensibiliserade personer klagade oftare över andnöd och hade lägre FEV<sub>1</sub>/FVC jämfört med icke-sensibiliserade.

Tvärsnittsstudien av dessa 121 arbetare följdes upp (34). Under de sex månader som hade förflutit hade enzym bara hanterats under sex dagar, den sista dagen var elva veckor före uppföljningsundersökningen. En arbetare som inte var sensibiliserad vid det första tillfället, hade ett positivt hudtest vid det andra. Av de 19 som hade en ventilationsinskränkning hade 8 normal spirometri vid återundersökningen.

Av de ursprungliga 121 arbetarna undersöktes 97 av Watt et al (75). Vid sex undersökningstillfällen med sexmånadersintervall hade ventilationsförmågan förbättrats och inga ytterligare luftvägssymptom utvecklades bland pricktestpositiva arbetare.

Newhouse et al undersökte 271 av 277 exponerade arbetare av vilka 21 % var sensibiliserade enligt hudtest (59). Det fanns signifikant mera luftvägssymptom, samt en obstruktiv ventilationsinskränkning, bland de sensibiliserade arbetarna jämfört med icke-sensibiliserade. Ingen av 27 transport- eller förrådsarbetare var sensibiliserad.

Newhouse gjorde också en uppföljningsundersökning av 103 arbetare efter sex månader (59). Färre arbetare hade luftvägssymptom men hos 9 arbetare hade negativa pricktest mot enzym förvandlats till positiva. Medelvärdet av FEV<sub>1</sub> hos både sensibiliserade och icke-sensibiliserade arbetare var oförändrat.

Tabell 5. Luftvägssymptom och sensibilisering i studier med exponeringsklassifikation eller luftmätningar (Exponering för subtilisin i samtliga studier utom 16).

Exponering	N	Luftvägs-symptom (%)	Sensibilisering (%)	Referens
Fabrik A				
Låg	15	0	0	76
Medel	15	0	53	
Hög	15	0	45	
Fabrik B				
Låg	19	?	16	76
Medel	20	?	35	
Hög	21	?	52	
		} totalt 22 %		
Kontakt				
Direkt	33	55	83	37
Indirekt	17	41	59	
Ingen	14	0	43	
Icke-atopiker				
Hög	430	39		43
Intermittent hög	372	4,3		
Medel	95	9,4		
Låg	137	3,6		
Atopiker				
Hög	78	73		43
Intermittent hög	60	20		
Medel	30	17		
Låg	45	8,9		
Påfyllning, blandning	13	46	25	47
Kontroller	9	44	0	
Blandning, förpackning	20	45	30	16
Kontroller	9	22	11	
Icke-atopiker				
Fabrik A				
Hög	80	0	18	30
Medel	111	0	23	
Låg	317	0	6	
Fabrik B				
Hög	118	0	24	30
Medel	65	0	14	
Låg	186	0	12	
Fabrik C				
Hög	503	0	29	30
Medel	405	0	3	
Låg	451	0	3	

Tabell 5. forts

Exponering	N	Luftvägs-symptom (%)	Sensibilisering (%)	Referens
<b>Atopiker</b>				
Fabrik A				
Hög	14	0	57	30
Medel	40	0	73	
Låg	78	0	22	
Fabrik B				
Hög	12	0	42	30
Medel	27	0	37	
Låg	51	0	16	
Fabrik C				
Hög	70	0	63	30
Medel	71	0	11	
Låg	114	0	8	

Weill et al undersökte arbetare i två tvättmedelsenzymproducerande fabriker (76). Femtio arbetare i en fabrik med dammbekämpningsåtgärder (fabrik A) och 60 arbetare från en fabrik utan sådana åtgärder (fabrik B) inkluderades i studien. Arbetare hudtestades efter sex månaders anställning i fabrik A och efter olika anställningstid i fabrik B. Det fanns inga skillnader i lungfunktion mellan de två grupperna. Ingen av arbetarna i fabrik A hade luftvägssymptom medan 22 % av arbetarna i fabrik B hade symptom som indikerade sjukdom i nedre luftvägarna, såsom pip i bröstet, andnöd eller nattlig hosta.

Göthe et al undersökte 50 enzymexponerade arbetare och 14 kontroller (38). Luftvägssymptom fanns hos ungefär 50 %, positiva hudtest mot enzym hos 21 % och positivt RAST hos 5 %. Det var signifikant flera positiva pricktester bland symptomatiska arbetare jämfört med icke-symptomatiska.

Shapiro och Eisenberg undersökte 93 arbetare i en fabrik där enzym användes i produktionen av tvättmedel (67). Av arbetare hade 34 kraftigt positiva intradermaltest, 13 av dem uppgavs ha astma eller rinit vid enzymexponering. Endast 1 icke-sensibiliserad hade symptom. Oexponerad och nyanställd personal hade inga symptom och var inte sensibiliserade.

McMurrain rapporterade 207 fall med rinit, hosta, bronkit och astma bland ungefär 350 arbetare med enzymexponering i Förenta Staterna sedan 1966 (52). Intradermaltest med enzym bland 1727 arbetare gav en positiv reaktion i 588 fall. Upp emot 50 % av arbetare som hanterade koncentrerat enzym var sensibiliserade.

Mitchell och Gandevia (55) fann att hälften av 98 arbetare med periodisk exponering för höga nivåer av tvättmedelsenzym utvecklade astmatiska symptom. Sensibilisering (pricktest och intradermaltest) var inte signifikant oftare förekommande bland symptomatiska arbetare. Undersökning av ventilation (FEV<sub>1</sub>/FVC) och diffusionskapacitet visade inga tecken till lungskada jämfört med förväntansvärden.

Alla tillgängliga personer (n = 67) från Mitchell och Gandevias undersökning återundersöktes efter tre år (57). De hade inte exponerats för enzym under denna tid. Av tidigare kraftigt exponerade arbetare hade 13 en signifikant minskad elastisk återfjädring i lungan jämfört med 42 måttligt eller ringa exponerade. Det var ingen skillnad i andra mått på lungfunktion eller luftvägssymptom.

Liss och medarbetare studerade effekten av inkapsling för att förebygga sensibilisering av enzymexponerade arbetare (47). Trots förebyggande åtgärder fann man specifika IgE-antikroppar mot enzym hos 3 av 12 exponerade arbetare. IgG-antikroppar detekterades hos 4/12 exponerade arbetare och i 1 av 2 tidigare exponerade, men inte hos någon icke-exponerad kontroll.

Witmeur et al undersökte 335 arbetare i två danska enzymproducerande fabriker. Av dessa var, enligt RAST, 3,3 % sensibiliserade mot subtilisin. Det fanns inga tecken till nedsatt andningsfunktion i relation till sensibilisering eller enzym-exponering (79).

Juniper et al rapporterade en sju års longitudinell studie av 1 642 arbetare i fabriken där Flindts originalobservation gjordes (43). Alla arbetare undersöktes vid anställningstillfället och därefter med sexmånadersintervall 1968-1975. Sensibiliseringsfrekvensen låg mellan 73 % (högexponerade atopiker, ursprungligen anställda) och <1 % (lågexponerade, icke-atopiker anställda efter september 1969). Genomsnittlig exponeringstid före positivt hudtest varierade mellan 12 och 20 månader. Det fanns inga tecken till ventilationsinskränkning eller abnormiteter på lungröntgen.

En 11-års rapport presenterades av Flood och medarbetare (30). Förutom den tidigare nämnda fabriken, omfattade studien två andra tvättmedelsenzymfabriker i Storbritannien. Sensibiliseringsfrekvensen varierade mellan fabrikena, exponeringsnivåer (klassifikationsmetoden ej rapporterad) och atopiskt status. Av arbetarna hade 4,5 % "upplevt luftvägsallergi mot enzymer". De var alla hudtestpositiva mot tvättmedelsenzym och hade luftvägssymptom, men inte alltid klinisk astma. Dessa arbetare är ej medtagna i tabell 5.

Zachariae et al följde totalt 667 enzymproducerande arbetare under tio år (80). De var exponerade för subtilisiner och ett annat tvättmedelsenzym. Av arbetarna var 31 sensibiliserade med RAST (incidensrat beräknades ej) och när 26 av de 31 arbetarna följdes, var ingen RAST-positiv vid uppföljningen. Tiden till uppföljning är inte rapporterad. Tio arbetare fanns kvar i sina tidigare arbeten med personliga skyddsåtgärder.

#### *Exponering i hemmet för proteolytiska tvättmedelsenzym*

Belin et al visade 1970 tre fall av enzymallergi hos hemmafruar (11). Dessa hade symptom när de handskades med tvättmedelsenzym, positiva pricktest och förekomst av cirkulerande IgE-antikroppar. Inga IgG-antikroppar återfanns.

Falleroni och Schwartz rapporterade ett liknande fall (26).

Shapiro och Eisenberg hudtestade 35 konsekutiva allergiska husmödrar utan yrkesmässig exponering för enzym (67). Fyra hade kraftigt positivt intradermaltest, inkluderande 1 person med astma vid kontakt med tvättmedelsenzym.

Bernstein fann positiva hudtest mot enzymer i 25 % av 353 konsekutiva allergiska patienter i USA (13). Det har uttalats tvivel över metodiken i denna undersökning. Det enzymextrakt som användes för hudtestning, kan ha varit alltför koncentrerat och därvid orsakat ospecifika reaktioner, vilka kan ha uppfattats som positiva (12, 62). Positiva överföringstest rapporterades liksom positiva nasal- och bronkialprovokationer i 14 patienter med luftvägssymptom tidsrelaterade till tidigare exponering för enzyminnehållande produkter.

Zetterström och Wide testade 1132 patientsera som skickats till ett laboratorium för rutintestning med RAST mot olika allergen (82). Resultaten visade att 21 personer (1,9 %) var positiva mot subtilisin. Av 391 bloddonatorer hade 2 positiv RAST mot subtilisin. Av 122 konsekutiva patienter, som remitterades till en allergimottagning, var 4 positiva mot subtilisin i pricktest. Åtta utvalda patienter med positivt RAST såväl som positivt pricktest mot enzym, hänvisade sina symptom till exponering för enzymtvättmedel och 3 till tänkbara rester av subtilisin i tvättgodset efter tvätt.

Pepys et al studerade 2 500 konsekutiva patienter av vilka endast 2 hade svaga pricktestreaktioner mot enzym (64). RAST utfördes på bl a sera från enzymexponerade arbetare (med negativt pricktest) och de 2 500 konsekutiva patienterna. Dessa intervjuades om användningen av tvättmedel och delades in i tre grupper; lätt eller kraftigt exponerade, respektive oexponerade. Det fanns signifikanta skillnader i RAST mellan såväl oexponerade och lätt exponerade, mellan lätt och kraftigt exponerade som mellan kraftigt exponerade patienter och exponerade arbetare.

#### *Andra proteolytiska enzymer*

##### **Papain**

Den första berättelsen om överkänslighet mot papain är daterad 1928 (25). I denna rapporterades att en apotekare, vid kontakt med papain i pulverform, erhöll symptom från näsan vilka kunde reproduceras vid oral provokation. Ett "scratchtest" med papain var positivt.

Beecher rapporterade ett fall, ytterligare en apotekare, med rinit och astma när han hanterade papain (10). Ytterligare en apotekare med svår astma rapporterades ha blivit medvetlös vid två tillfällen efter exponering för papain.

Milne och Brand beskrev fall av livsmedelstekniker med yrkesastma (54). "Scratchtest" med papain var positivt.

Flindt beskrev 1978 ett fall av yrkesastma och positivt pricktest (28). Han nämner kortfattat ett annat fall med yrkesastma pga papain där personen avled i ett papainindicerat astmaanfall.

Tarlo rapporterade två fall av yrkesbetingad rinit och astma (72). Pricktest och RAST var positiva mot papain. Arbetskamrater (18 st) till det ena indexfallet undersöktes också liksom 330 konsekutiva patienter vid en allergimottagning. Man skickade 231 konsekutiva blodprov till ett sjukhuslaboratorium, där proven analyserades med avseende på cirkulerande antikroppar mot papain. Det fanns inga positiva fynd bland medarbetarna. I gruppen allergipatienter hade 7 (2,1 %) positivt pricktest, ingen av dessa hade en sjukhistoria som indikerade papain-

betingade symptom. RAST var positivt i 2,1 % av de slumpvis utvalda blodproven.

Flindt utförde en tvärsnittsstudie i en fabrik där flera olika enzymer hanterades (29). Av 8 testade arbetare hade 7 svaga pricktestreaktioner mot papain. Av dessa hade 5 arbetsrelaterade symptom från luftvägarna.

Baur undersökte 11 papainexponerade arbetare av vilka 7 rapporterade arbetsrelaterade luftvägssymptom (7). Alla 7 hade positiva hudtester, icke symptomatiska arbetare var negativa. Sera från 6 arbetare med astma hade kraftigt positiva RAST-reaktioner, en arbetare med rinit och två med astma och högt total IgE, visade svagt positiva RAST-resultat.

Novey gjorde en tvärsnittsstudie av 23 arbetare som exponerades för papain vid en läkemedelsfabrik (60); 12 hade arbetsrelaterade luftvägssymptom som vid astma, 17 genomgick lungfunktionsundersökning, 21 lämnade blodprov. Åtta arbetare med lungsymptom hade IgE-antikroppar mot papain och 9 hade precipiterande antikroppar. Av de 11 undersökta utan symptom hade 2 IgE och 3 precipiterande antikroppar mot papain. En oexponerad kontroll av 52 var RAST-positiv. Lungvolym och expiratoriska flöden var lägre bland de IgE-positiva arbetarna jämfört med de negativa.

#### *Trypsin, pepsin och andra proteolytiska enzymer*

McLaren rapporterade en forskarstudent med hösnuva, som arbetade med kymotrypsin i ett laboratorium (51). Intradermal och passivt överföringstest var positiva mot kymotrypsin.

Två liknande fall rapporterades av How et al (41). Det första fallet var en icke-atopisk forskningskemist med rinokonjunktivit under enzymexponering. Ett intradermaltest var positivt liksom ett överföringstest med kymotrypsin. Det andra fallet var en atopisk student utan arbetsrelaterade symptom. Intradermaltest med trypsin var positivt.

Zweiman et al rapporterade ett fall av astma hos en trypsin- och kymotrypsin-exponerad person (83). Intradermal och bronkial provokation med trypsin var positiva.

Colten och medarbetare rapporterade en tvärsnittsstudie av 14 arbetare som exponerades för trypsin från svin (23). Fyra arbetare med arbetsrelaterade luftvägssymptom, 4 icke-symptomatiska och andra kontroller undersöktes. Intradermal-, överföringstest, bronkial provokation och in vitro test var samtliga positiva för de 4 arbetarna men negativa i övrigt.

Hartmann et al rapporterade två fall av astma (39). I ett fall var RAST mot trypsin positivt, i det andra fallet ett intradermaltest.

Maisel (50) rapporterade det första fallet av astma efter pepsinexponering hos en apotekare. Ett intradermaltest var positivt.

Cartier et al rapporterade ett fall av arbetsrelaterad astma hos en pepsin-exponerad atopisk arbetare (21). Pricktest och inhalationstest var positiva och PEF-kurvor visade en patologisk variabilitet.

Den första fallrapporten som beskrev astma pga allergi mot bromelain, ett renat proteas från ananas, beskrevs av Galleguillos (31).

Baur och Fruhmans (7) rapporterade ett fall, från ett läkemedelsföretag, av arbetsrelaterad astma och rinit efter exponering för bromelain. RAST och pricktest var positiva liksom både ett inhalationstest och en oral provokation. Sex patienter sensibiliserade mot papain undersöktes också och 5 av dessa visade positiv RAST och hudtest mot bromelain, 2 av dem även astmatiska reaktioner efter bronkial provokation. Bland 60 icke-exponerade astmatiker hade 2 positivt hudtest och 8 positivt RAST mot bromelain, men i inget fall fanns det klara tecken till sensibilisering av någon klinisk betydelse.

Wiessmann och Baur studerade 14 arbetare som exponerats för damm från svinpankreas i ett läkemedelsföretag (78). Samtliga hade arbetsrelaterade luftvägssymptom. Hos 12, av 13 undersökta, var pricktest med pancreasextrakt positivt. Bronkialprovokationstest var positiva i 8 fall. Lungröntgen visade infiltration i 2 fall, lätt fibros i ytterligare 2 och emfysem i ett fall. Förändringar i lungfunktionen beskrevs som "en kombination av restritiv och obstruktiv ventilationsinskränkning". Författarna föreslår tre möjliga förklaringar till sina fynd:

1. Allergisk typ-1-reaktion.
2. Allergisk typ-3-reaktion orsakande alveolit och fibros.
3. Toxisk-enzymatisk effekt av proteaser orsakande emfysem.

Pauwel (61) rapporterade tre fall av allergisk astma hos apotekare exponerade för ett proteolytiskt enzym från svampen *Aspergillus niger*.

#### *Icke-proteolytiska enzymer*

Den första iakttagelsen av ogynnsam inverkan av det icke-proteolytiska enzymet  $\alpha$ -amylas rapporterades också av Flindt (29). Han rapporterade 8 arbetare som hade luftvägssymptom och som hanterade enzym. Fem av dem var pricktest-positiva mot  $\alpha$ -amylas.

Effekter av  $\alpha$ -amylas som bakhjälpmiddel rapporterades av Baur et al (8). Sera från 118 bagare undersöktes, varav 91 sera utvaldes slumpvis och 27 pga arbetsrelaterade luftvägsbesvär. Av de symptomatiska hade 34 % positiv RAST mot  $\alpha$ -amylas, men ingen av de symptomfria. Pricktest och bronkial provokationstest i utvalda individer var också positiva. Samma författare testade 140 sera från symptomatiska bagare med RAST mot olika enzymer (9). Av dessa var 24 % positiva mot  $\alpha$ -amylas, 8 % mot hemicellulas eller cellulas, 5 % mot amylglukosidas och 1 % mot papain eller subtilisin.

Carmona et al publicerade en fallrapport om en bagare med rinit och astma vilken hade positivt pricktest, RAST och bronkial provokation med  $\alpha$ -amylas (20). Quirce rapporterade 5 bagare vilka var sensibiliserade mot  $\alpha$ -amylas (65). Olika immunologiska test och bronkialprovokationer var positiva. Fyra var också sensibiliserade mot cellulas.

Brisman och Belin rapporterade 4 fall (alla med rinit och 3 med astma) från en enzymhanterande fabrik (16). En efterföljande tvärsnittsstudie i samma fabrik, och rapporterad i samma publikation, visade signifikant mer näs- och hudproblem bland 20 exponerade arbetare jämfört med kontroller. Sex hade positivt pricktest mot amylas. Nasalprovokation med amylas var positivt i 3 fall. Specifika IgG-antikroppar mot  $\alpha$ -amylas upptäcktes i 2 icke-symptomatiska bagare.

Losada genomförde en tvärsnittundersökning av 83 arbetare i ett läkemedelsföretag, vilka var exponerade för  $\alpha$ -amylas i pulverform (49). Av arbetarna hade 59% rinit och 30% astma. Exponeringstiden var i medeltal 9,5 år och bland 26 (31%) som var pricktestpositiva mot  $\alpha$ -amylas fanns 6 icke-symptomatiska.

Tarvainen et al beskrev 4 fall vilka var RAST-positiva mot både cellulas och xylanas (73, 74). De två enzymen korsreagerade.

Losada beskrev två fall från förpackningsavdelningen vid en läkemedelsfabrik, båda med astma (48). De hade snabba överkänslighetsreaktioner mot cellulas.

### 10.3. Genotoxiska effekter

Det finns inga uppgifter i litteraturen.

### 10.4. Carcinogenicitet

Det finns inga uppgifter i litteraturen.

### 10.5. Reproduktions- och utvecklingstoxicitet

Det finns inga uppgifter i litteraturen.

## 11. Dos-effekt och dos-respons samband

### 11.1. Enstaka korttidsexponering

Det finns inga uppgifter i litteraturen.

### 11.2. Långtidsexponering

Det finns endast ett fåtal studier som gör det möjligt att undersöka sambanden mellan exponering, effekt och respons. Exponeringsdata är sällsynta och den iakttagna responsen är oftast sensibilisering mot enzymer. Exponeringsestimat från olika studier är vanligen inte jämförbara eftersom olika enzymstandarder har använts vid analys. Studier som omfattar både luftvägssymptom och sensibilisering i relation till exponering finns i tabell 5.

#### *Andningsorganen*

I studien av Weill et al (76) hade inte någon arbetare, som exponerats i sex månader i fabrik A, symptom från de nedre luftvägarna. Ingen i den lågexponerade gruppen var sensibiliserad, medan ungefär hälften av medel- och högexponerade var sensibiliserade. Arbetare i fabrik B var exponerade i upp till tre år,

och nivåerna i den högexponerade gruppen överskrider nivåerna i fabrik A. Av dessa arbetare hade 22 % besvär från de nedre luftvägarna, men exponeringsklassifikationen är inte redovisad. Förekomsten av sensibilisering var ungefär densamma i de två fabriker.

Göthe et al undersökte arbetare i två fabriker med en medelxponering om 5,4  $\text{g}/\text{m}^3$  (fabrik A) och 1  $\text{GU}/\text{m}^3$  (fabrik B) (37, 38). Exponeringen i fabrik B hade emellertid sannolikt tidigare varit högre beroende på en annan produktionsprocess. Symptom på luftvägsallergi bland sensibiliserande arbetare fanns bland 13 % i fabrik A och bland 25 % i fabrik B. Lungfunktion och lungröntgen var samma i de båda fabriker.

Juniper et al (43) studerade förekomst av sensibilisering och lungfunktion, under fem år, hos arbetare i en tvättmedels-enzymproducerande fabrik. När arbetarna delades in i exponeringsgrupper (klassifikationsmetoden ej redovisad) hade en högre del av de högexponerade arbetarna positiva pricktest mot enzymer jämfört med lågexponerade grupper.

Liss och medarbetare undersökte arbetare exponerade för inkapslat enzym (47). Exponeringsnivåerna var under gränsvärdet på 0,06  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Av 14 undersökta arbetare var 5 sensibiliserade, och 6 arbetare rapporterade arbetsrelaterade luftvägssymptom. Samma andel fanns bland de icke-exponerade. Spirometri var utan anmärkning bland de exponerade arbetarna.

Brisman och Belin undersökte 20  $\alpha$ -amylasexponerade arbetare under förpackning och blandning (16). Amylasnivåer på 30  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  uppmättes under förpackning, medan det inte fanns några mätbara halter enzym under blandning. Av arbetarna rapporterade 11 arbetsrelaterade symptom, 3 av dem rinit. Det fanns ingen skillnad i spirometri mellan exponerade och icke-exponerade. Av arbetarna var 30 % sensibiliserade mot amylas.

#### *Hud*

Exponering definierad som tid mellan första enzymkontakt och debut av kontakturtikaria rapporterades av Kanerava och Tarvainen (44). Tiden var 1,5-4 år för cellulas och xylanas.

Prevalensen av hudsymptom vid enzymkontakt var 26 %, respektive 22 % i de två fabriker som studerades av Göthe (38).

## 12. Tidigare utvärdering av (inter)nationella myndigheter

Som tidigare nämnts har ACGIH utvärderat enzymexponering (2). Även Australien har gjort en utvärdering. (58)



Tabell 6. Prevalens av positiva hudtester mot enzym enligt atopiskt status

Antal undersökta arbetare	Procent med positivt test		Referens
	Atopiker	Icke-atopiker	
121	64	33	34
640	43	13	30
459	26	18	30
1614	24	13	30
56	28	11	37
1642	37	15	43
155	77	45	55
103	82	37	59
65	83	23	64

## 13. Utvärdering av risker för människa

### 13.1. Grupper med ökad risk

Det finns ett antal studier som belyser frågan om atopiker har en större risk att bli sensibiliserade under enzymexponering jämfört med icke-atopiker. Atopi är vanligen definierat som en sjukhistoria omfattande barnekssem, astma eller hösnuva och/eller ett positivt pricktest mot ett eller flera vanliga omgivningsallergen. Studier där sensibiliseringsfrekvensen redovisas i relation till atopiskt status återfinns i tabell 6.

Det är således uppenbart att både atopiker och icke-atopiker kan sensibiliseras mot enzymer men att atopi ökar denna risk.

### 13.2. Bedömning av hälsorisker

Det finns en betydande dokumentation av studier som visar att exponering för enzymer kan orsaka sensibilisering med IgE-antikroppar. Dessa antikroppar kan åskådliggöras med pricktest, RAST eller liknande in vitro-tekniker (12, 40). Sensibilisering har visats förekomma mot ett flertal industriella enzymer, proteolytiska och icke-proteolytiska och bedöms som den kritiska effekten (62).

Den kliniska betydelsen av sensibilisering är oklar. Vanligtvis finns det fler sensibiliserade arbetare än sådana med luftvägssymptom. I några fall leder sensibiliseringen till klinisk sjukdom som rinit eller astma. Andelen kliniskt sjuka patienter bland sensibiliserande är inte väldokumenterad men det är möjligen bara en mindre andel. Merget et al (53) undersökte 42 enzymexponerade arbetare med arbetsrelaterade luftvägssymptom. Alla var sensibiliserade enligt pricktest, men bara 13 (31 %), hade ett positivt bronkialtest med det enzym de var sensibiliserade emot.

Precipitiner eller specifika IgG-antikroppar hittas ibland i sera från exponerade personer men även bland kontroller. Den kliniska relevansen av dessa fynd är oklar.

Emfysem förekommer hos laboratoriedjur efter papain-exponering, sannolikt pga en direkt enzymatisk reaktion. Hos människa har tidiga fynd av alveolit, lungröntgenförändringar och nedsatt lungfunktion med något undantag i huvudsak varit begränsade till tidiga arbeten från omkring 1970, och har inte återupprepat. Detta kan bero på lägre exponeringsnivåer när hälsoriskerna blev kända. Fynden kan också ha orsakats av direkt proteolytisk aktivitet snarare än sensibilisering.

Det mest framträdande undantaget är studien av arbetare exponerade för pancreasdam (78). Det är emellertid inte uppenbart att fynden var arbetsrelaterade och vidare var exponeringen komplex och omfattade även andra substanser än enzym.

Det finns evidens för att subtilisinexponering, som överskrider det gränsvärde som föreslagit av ACGIH, under sex månader orsakar sensibilisering i en majoritet av exponerade arbetare men i de flesta fall inga arbetsrelaterade luftvägssymptom. Högre exponering och längre exponeringstid orsakar däremot arbetsrelaterade luftvägssymptom (76).

Exponering kring det av ACGIH föreslagna gränsvärdet orsakar sensibilisering och arbetsrelaterade luftvägssymptom (37, 38). Även exponering för 13-50 % av det föreslagna gränsvärdet orsakar sensibilisering i 3,6-73 % av exponerade arbetare (43, 47). Risken för arbetsrelaterade luftvägssymptom orsakad av denna exponering kan inte med säkerhet skattas utifrån litteraturen.

$\alpha$ -Amylasnivåer på  $30 \mu\text{g}/\text{m}^3$  (med ett kommersiellt tillgängligt enzym som standard) orsakar sensibilisering och luftvägssymptom (16). Lägre nivåer ( $0,2$ - $7,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) orsakar sannolikt sensibilisering och luftvägssymptom hos bagare (8, 19, 42).

Sammanfattningsvis finns det inte tillräckligt stöd, i den samlande kunskapen, för att sätta ett NOAEL (no observable adverse effect level) för något industriellt använt enzym. Sensibilisering har iakttagits vid nivåer omkring  $0,012 \mu\text{g}/\text{m}^3$  subtilisin och  $0,2$ - $7,3 \mu\text{g}$   $\alpha$ -amylas/ $\text{m}^3$ , med kommersiellt tillgängligt enzym som standard.

Proteolytiska enzymer kan framkalla hudirritation men lapptester under 1960- och 1970-talet var negativa. Nyligen publicerade fallrapporter omtalar positiva lapptester mot icke-proteolytiska enzymer (cellulas, amylas, xylanas). Det är värt att notera att dessa personer också har positivt pricktest mot dessa enzymer. Detta kan peka på att den observerade lapptestreaktionen i själva verket är en typ 1 IgE-medierad allergisk reaktion och inte nödvändigtvis en förväntad typ-4 reaktion, åtminstone i några fall. Detta kan också tyda på att dessa enzymer orsakar kontakturtikaria och att denna urtikaria kan övergå i en allergisk kontaktdermatit.

## 14. Forskningsbehov

Utvecklingen av specifika och känsliga tekniker för luftmätningar för ett flertal industriellt använda enzymer skulle vara av avsevärt värde. För att få en hög sensitivitet måste dessa tekniker sannolikt vara immunokemiska. Fler luftmätningar behövs, särskilt i arbetsmiljöer där det inte finns någon eller bara enstaka exponeringsstudier gjorda tidigare.

Uppmärksamhet måste också riktas mot problemet med standarder. Om enzym-innehållet i en standard inte är väl känt, måste det göras jämförelser med standardiserade enzympreparationer. Användandet av gemensamma standarder bör uppmuntras liksom interlaboratoriekontroller mellan laboratorier som utför enzymanalys.

Endast väldefinierade symptom bör rapporteras i kliniska studier. Vid hudtestning är det viktigt att använda extrakt med en lämplig koncentration för att inte förorsaka falskt positiva tester. Tester måste också göras på oexponerade kontroller.

För att kunna sätta NOAEL eller LOAEL (Lowest observable adverse effect level) för ett enzym är det nödvändigt att vidta kliniska och immunologiska undersökningar tillsammans med exponeringsmätningar i också lågradig exponerade grupper.

Är enzymer mer ägnade att orsaka sensibilisering än andra proteiner pga deras enzymatiska förmåga? Denna fråga är värd en undersökning eftersom flera vanliga omgivningsallergen, t ex kvalster, "ragweed", *Alternaria* och katt sannolikt är enzymer (Lancet, ledare 1992, 45, 69, 70).

## 15. Sammanfattning

Brisman J. Industriella enzymer. Nordiska expertgruppen för kriterie-dokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:59-85

Genomgång av litteraturen om hälsoeffekter vid exponering för enzym. Den kritiska effekten bedöms vara sensibilisering med bildande av IgE-antikroppar. Sensibiliseringen kan orsaka klinisk allergisk sjukdom som rinit, astma, kontakt dermatit och kontakt urtikaria. Exponeringsnivåer kan mätas genom luftprovtagning och enzymaktivitets- eller immunokemisk analys. Erfarenheter från enzymproducerande fabriker visar att hygieniska åtgärder effektivt minskar luftnivåer och sensibiliseringsförekomst. Det av ACGIH föreskrivna gränsvärdet för subtilisiner (det vanligaste proteolytiska tvättmedelsenzymet) på  $0.06 \mu\text{g}/\text{m}^3$  förhindrar dock inte helt förekomsten av sensibilisering.

En engelsk version finns publicerad i *Arbete och Hälsa* 1994;28:1-26.

**Nyckelord:** allergi, analys, astma, eksem, enzymer, exponering, luftmätningar, rinit.

## 16. Referenser

1. Agarwal MK, Ingram JW, Dunnette S, Gleich GJ. Immunochemical quantitation of an airborne proteolytic enzyme, esperase, in a consumer products factory. *Am Ind Hyg Assoc J* 1986;47:138-143.
2. American Conference of Governmental Industrial Hygienists. *Documentation of Threshold Limit Values and biological exposure indices*. 6th ed. Cincinnati, Ohio:ACGIH, 1992.
3. Anonymous. Organic dusts and allergic lung disease. (Editorial). *Lancet* 1969;i:1195-1196.
4. Anonymous. Pop goes the asthma. (Editorial). *Lancet* 1992;(339)5:84-85.
5. Bamji E, Bamji N. Severe dermatitis and "biological" detergents. (letter) *Br Med J* 1970;1:629.
6. Baur X, Fruhmann G. Allergic reactions, including asthma, to the pineapple protease bromelain following occupational exposure. *Clin Allergy* 1979;9:443-450.
7. Baur X, Fruhmann G. Papain-induced asthma: diagnosis by skin test, RAST and bronchial provocation test. *Clin Allergy* 1979;9:75-81.
8. Baur X, Fruhmann G, Haug B, Rasche B, Reiher W, Weiss W. Role of *Aspergillus* amylase in baker's asthma (letter). *Lancet* 1986;i:43.
9. Baur X, Weiss W, Sauer W et al. Backmittel als Mitursache des Bäckerasthmas. *Dtsch Med Wochenschr* 1988;(11)3:1275-1278.
10. Beecher W. Hyperaesthetic rhinitis and asthma due to digestive ferments. *Illinois Medical J* 1931;59:343-344.
11. Belin L, Hoborn J, Falsen E, André J. Enzyme sensitisation in consumers of enzyme-containing washing powder. *Lancet* 1970;ii:1153-1157.
12. Belin L, Norman P. Diagnostic tests in the skin and serum of workers sensitized to *Bacillus subtilis* enzymes. *Clin Allergy* 1977;7:55-68.
13. Bernstein IL. Enzyme allergy in populations exposed to long-term, low-level concentrations of household laundry products. *J Allergy Clin Immunol* 1972;49:219-237.
14. Bolam RM. Severe dermatitis and "biological" detergents (letter). *Br Med J* 1970;1:817-818.
15. Brain JD, Valberg PA. Deposition of aerosol in the respiratory tract. *Am Rev Respir Dis* 1979;120:1325-1373.
16. Brisman J, Belin L. Clinical and immunological responses to occupational exposure to  $\alpha$ -amylase in the baking industry. *Br J Ind Med* 1991;48:604-608.
17. Brodeur P. The enigmatic enzyme. *The New Yorker Magazine* Jan 16, 1971.
18. Bruce CF, Dunn E, Brotherton R, Davies DR, Hall F, Potts SCM. Methods of measuring biologically active enzyme dust in the environmental air of detergent factories. *Ann Occup Hyg* 1978;21:1-20.
19. Burdorf A, Lillienberg L, Brisman J. Characterization of exposure to inhalable flour dust in Swedish bakeries. *Ann Occup Hyg* 1994;38:67-78.
20. Carmona BJG, Picón JS, Sotillos GM. Occupational asthma in bakeries caused by sensitivity to  $\alpha$ -amylase. *Allergy* 1991;46:274-276.
21. Cartier A, Malo JL, Pineau L, Dolovich J. Occupational asthma due to pepsin. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:574-577.
22. CGR. Det lossnar för enzymer. *Kemisk tidskrift* 1990;10:17.
23. Colten HR, Polakoff PL, Weinstein SF, Strieder DJ. Immediate hypersensitivity to hog trypsin resulting from industrial exposure. *N Eng J Med* 1975;292:1050-1053.
24. Ducksbury CFJ, Dave VK. Contact dermatitis in home helps following the use of enzyme detergents. *Br Med J* 1970;1:537-539.
25. Eyerann CH. Food allergy as the cause of nasal symptoms. *JAMA* 1928;91:312-314.
26. Falleroni AE, Schwartz DP. Immediate hypersensitivity to enzyme detergents. *Lancet* 1971;i:548.

27. Flindt MLH. Pulmonary disease due to inhalation of derivatives of bacillus subtilis containing proteolytic enzyme. *Lancet* 1969;i:1177-1181.
28. Flindt MLH. Respiratory hazards from papain. *Lancet* 1978;i:430-432.
29. Flindt MLH. Allergy to  $\alpha$ -amylase and papain. *Lancet* 1979;i:1407-1408.
30. Flood DFS, Blofeld RE, Bruce CF, Hewitt JI, Juniper CP, Roberts DM. Lung function, atopy, specific hypersensitivity, and smoking of workers in the enzyme detergent industry over 11 years. *Br J Ind Med* 1985;42:43-50.
31. Galleguillos F, Rodrigues JC. Asthma caused by bromelain inhalation. *Clin Allergy* 1978;8:21-24.
32. Goldring IP, Greenburg L, Ratner IM. On the production of emphysema in Syrian hamsters by aerosol inhalation of papain. *Arch Environ Health* 1968;16:59-60.
33. Goldring IP, Ratner IM, Greenburg L. Pulmonary hemorrhage in hamsters after exposure to proteolytic enzymes of *Bacillus subtilis*. *Science* 1970;170:73-74.
34. Greenberg M, Milne JF, Watt A. Survey of workers exposed to dusts containing derivatives of *Bacillus subtilis*. *Br Med J* 1970;2:629-633.
35. Gross P, Pfitzer EA, Tolker E, Babyak MA, Kaschak M. Experimental emphysema. *Arch Environ Health* 1965;11:50-58.
36. Gross P, de Treville RTP, Babyak MA, Kaschak M, Tolker EB. Experimental emphysema. *Arch Environ Health* 1968;16:51-58.
37. Göthe C-J. Air-borne *B. subtilis* enzymes in the detergent industry. *Int Arch Arbeitsmed* 1972;29:201-208.
38. Göthe C-J, Nilzén Å, Holmgren A, Szamosi A, Werner M, Wide L. Medical problems in the detergent industry caused by proteolytic enzymes from *Bacillus subtilis*. *Acta Allergologica* 1972;27:63-86.
39. Hartmann AL, Wüthrich B, Baur X. Allergisches Asthma auf Enzyme in Arzneimitteln. *Schweiz Med Wschr* 1984;114:916-917.
40. How MJ, Cambridge GW. Prick-tests and serological tests in the diagnosis of allergic reactivity to enzymes used in washing products. *Br J Ind Med* 1971;28:303-307.
41. Howe C, Erlanger BF, Beiser SM, Ellison SA, Cohen W. Hypersensitivity to purified trypsin and chymotrypsin. *New Eng J Med* 1961;265:332-334.
42. Jauhainen A, Louhelainen K, Linnainmaa M. Exposure to dust and  $\alpha$ -amylase in bakeries. *Appl Occup Environ Hyg* 1993;8:721-725.
43. Juniper CP, How MJ, Goodwin BFJ, Kinshott AK. *Bacillus subtilis* enzymes: a 7-year clinical, epidemiological and immunological study of an industrial allergen. *J Soc Occup Med* 1977;27:3-12.
44. Kanerva L, Tarvainen K. Allergic Contact dermatitis and contact urticaria from cellulolytic enzymes. *Am J Contact Dermatitis* 1990;1:244-245.
45. Lake FR, Ward LD, Simpson RJ, Thompson PJ, Stewart GA. House dust mite-derived amylase: Allergenicity and physicochemical characterization. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:1035-1042.
46. Linko YY, Linko P. Enzymes in baking. In: Blanshard JMV, Frazier PJ, Galliard T. eds. *Chemistry and Physics of Baking*. London: Royal Society Cop, 1986.
47. Liss GM, Kominsky JR, Gallagher JS, Melius J, Brooks SM, Bernstein IL. Failure of enzyme encapsulation to prevent sensitization of workers in the dry bleach industry. *J Allergy Clin Immunol* 1984;73:348-355.
48. Losada E, Hinojosa M, Moneo I, Dominguez J, Gomez MLD Ibanez MD. Occupational asthma caused by cellulase. *J Allergy Clin Immunol* 1986;77:635-639.
49. Losada E, Hinojosa M, Quirce S, Sánchez-Cano M, Moneo I. Occupational asthma caused by  $\alpha$ -amylase inhalation: Clinical and immunologic findings and bronchial response patterns. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:118-125.
50. Maisel FE. Pepsin allergy. Case report. *J Allergy* 1940;11:607-608.
51. McLaren WR, Aladjem F. Allergy to chymotrypsin. *J Allergy* 1957;28:89-90.
52. McMurray KD. Dermatologic and pulmonary responses in the manufacturing of detergent enzyme products. *J Occup Med* 1970;12:416-420.
53. Merget R, Stollfuss J, Wjetrodt R et al. Respiratory pathophysiological responses. Diagnostic tests in enzyme allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:264-277.
54. Milne J, Brand S. Occupational asthma after inhalation of dust of the proteolytic enzyme papain. *Br J Ind Med* 1975;32:302-307.
55. Mitchell C, Gandevia B. Respiratory symptoms and skin reactivity in workers exposed to proteolytic enzymes in the detergent industry. *Am Rev Respir Dis* 1971;104:1-12.
56. Morren M-A, Janssens V, Doooms-Goossens A et al.  $\alpha$ -Amylase, a flour additive: An important cause of protein contact dermatitis in bakers. *J Am Acad Dermatol* 1993;29:723-728.
57. Musk AW, Gandevia B. Loss of pulmonary elastic recoil in workers formerly exposed to proteolytic enzyme (alcalase) in the detergent industry. *Br J Ind Med* 1976;33:158-165.
58. National Industrial Chemicals Notification & Assessment Scheme. "Savinase"-proteolytic enzymes in detergents. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1993.
59. Newhouse ML, Tagg B, Pocock SJ. An epidemiological study of workers producing enzyme washing powders. *Lancet* 1970;i:689-693.
60. Novey HS, Keenan WJ, Fairshier RD, Wells ID, Wilson AF, Culver BD. Pulmonary disease in workers exposed to papain: clinico-physiological and immunological studies. *Clin Allergy* 1980;10:721-731.
61. Pauwels R, Devos M, Callens L, Van der Straeten M. Respiratory hazards from proteolytic enzymes. (letter) *Lancet* 1978;i:669.
62. Pepys J. Allergic asthma to *Bacillus subtilis* enzyme: A model for the effects of inhalable proteins. *Am J Ind Med* 1992;21:587-593.
63. Pepys J, Longbottom JL, Hargreave FE, Faux J. Allergic reactions of the lungs to enzymes of *Bacillus subtilis*. *Lancet* 1969;i:1181-1184.
64. Pepys J, Wells ID, D'Souza MF, Greenberg M. Clinical and immunological responses to enzymes of *Bacillus subtilis* in factory workers and consumers. *Clin Allergy* 1973;3:143-160.
65. Quirce S, Cuevas M, Dies-Gómez ML, et al. Respiratory allergy to *Aspergillus*-derived enzymes in baker's asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:970-978.
66. Schirmer RH, Kalveram K-J, Kalveram C-M, Siebert J, Kunze J. Chronisch lichenoid Dermatitis bei Sensibilisierung gegen Alpha-Amylase bei einem Bäcker. *Z Hautkr* 1987;62:791-797.
67. Shapiro RS, Eisenberg BC. Sensitivity to proteolytic enzymes in laundry detergents. *J Allergy* 1971;47:76-79.
68. Soap and Detergent Industry Association. Recommended operating procedures for UK factories handling enzyme materials. *Ann Occup Hyg* 1971;14:71-87.
69. Stewart GA, Thompson PJ, Simpson RJ. Protease antigens from house dust mite. (letter) *Lancet* 1989;ii:154-155.
70. Suphioglu C, Singh MB, Taylor P, et al. Mechanism of grass-pollen-induced asthma. *Lancet* 1992;339:569-572.
71. Swanson MC, Boiano JM, Galson SK, Grauvogel LW, Reed CE. Immunochemical quantification and particle size distribution of airborne papain in a meat portioning facility. *Am Ind Hyg Assoc J* 1992;53:1-5.
72. Tarlo SM, Shaikh W, Bell B, et al. Papain-induced allergic reactions. *Clin Allergy* 1978;8:207-215.
73. Tarvainen K, Kanerva L, Grenquist-Norden B, Estlander T. Berufsalergien durch Cellulase, Xylanase und Alpha-Amylase. *Z Hautkr* 1991;66:964-967.

74. Tarvainen K, Kanerva L, Tupasela B, et al. Allergy from cellulase and xylanase enzymes. *Clin Exp Allergy* 1991;21:609-615.
75. Watt A, Morley R, Greenberg M, Fox AJ. Follow-up of a group of workers exposed to dusts containing derivatives of *Bacillus subtilis*. *Clin Allergy* 1973;3:133-141.
76. Weill H, Waddel LC, Ziskind M. A study of workers exposed to detergent enzymes. *JAMA* 1971;217:425-433.
77. Wells JD, Allan RE, Novey HS, Culver BD. Detection of airborne industrial papain by a radioimmunoassay. *Am Ind Hyg Assoc J* 1981;4:321.
78. Wiessmann KJ, Baur X. Occupational lung disease following long-term inhalation of pancreatic extracts. *Eur J Respir Dis* 1985;66:13-20.
79. Witmeur O, Wolf-Jürgensen P, Höegh-Thomsen J, Gowertz Rasmussen O, Wide L, Zachariae H. Medical experience in enzyme production. *Acta Allergologica* 1973;28:250-259.
80. Zachariae H, Höegh-Thomsen J, Witmeur O, Wide L. Detergent enzymes and occupational safety. *J Allergy* 1981;36:513-516.
81. Zachariae H, Thomsen K, Gowertz Rasmussen O. Occupational enzyme dermatitis. (Stockholm) *Acta Dermatovener* 1973;53:145-148.
82. Zetterström O, Wide L. IgE-antibodies and skin test reactions to a detergent-enzyme in Swedish consumers. *Clin Allergy* 1974;4:273-280.
83. Zwisman B, Green G, Mayock RL, Hildreth EA. Inhalation sensitization to trypsin. *Allergy* 1967;39:11-16.

## Appendix

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av subtilisin i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	-	-		1988	1
Finland	-	-		1993	2
Island	-	1 GU/m <sup>3</sup> 3 GU/m <sup>3</sup>	CEIL	1989	3
Nederländerna	-	0.00006	CEIL	1994	4
Norge	-	0.00006	CEIL	1989	5
Sverige	-	1 GU/m <sup>3</sup> 3 GU/m <sup>3</sup>	S CEIL	1993	6
USA (ACGIH)	-	0.00006	CEIL	1994-95	7
(NIOSH)	-	0.00006	60 min	1990-91	8

CEIL: takgränsvärde

GU: glycin enhet. En GU motsvarar en aktivitet som frigör så många aminogrupeer som förekommer i 1 mg glycin (under standard förhållanden)

S: sensibiliserande

## Referencer

1. *Gränsvärder for stoffer og materialer*. København: Arbejdstilsynet, 1988 (Anvisning Nr.3.1.0.2).
2. *HTP-värden 1993*. Tammerfors: Arbetsministeriet, 1993 (Säkerhetsmeddelande 25). ISBN 951-47-8343-3.
3. *Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun*. Skrá yfir mengunarmörk. Reykjavik: Vinnueftirlit Ríkisins, 1989.
4. *De Nationale MAC-lijst 1994*. Den Haag: 1994 (Arbeidsinspectie P 145). ISBN 90-399-0600-9.
5. *Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere*. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Oslo: Direktoratet for arbeidsulysynet, 1989 (Bestillingsnr. 361).
6. *Hygieniska gränsvärden*. Stockholm: Arbetsarkivstyrelsen, 1993 (AFS 1993:9). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. Rules and Regulations. *Federal Register Vol.54*. Washington: US Government, 1990:2329-2984.

## 2-Etylhexansyra

Vesa Riihimäki

Avdelningen för arbetshygien och toxikologi  
Institutet för arbetshygien  
Topeliusgatan 41 a A  
FIN-00250 Helsingfors



### 3. Fysikaliska och kemiska egenskaper

Molekylvikt:	144,22
Smältpunkt:	-118,4°C
Kokpunkt:	227,6°C
Ångtryck:	$1,33 \cdot 10^{-3}$ kPa vid 20°C
Ångans mättnadskonc.:	78 mg/m <sup>3</sup> (13,3 ppm)
Fördelningskoefficient n-oktanol/vatten:	log Pow = 3 vid 25°C
Löslighet i vatten:	25 mg/l vid 25°C
pKa:	4,0
Relativ densitet:	0,90 vid 25°C
Omräkningsfaktorer:	1 ppm = 5,89 mg/m <sup>3</sup> 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,170 ppm vid 25°C

2-EHS är en färglös vätska med en mild karakteristisk lukt (CHEMINFO). Den är en svag syra vars pKa uppskattas till 4,0 (47). Den är relativt löslig i fetter men endast svagt löslig i vatten (Eastman Kodak Company). 2-EHS har lågt ångtryck vid rumstemperatur (Eastman Kodak Company) och dess förmåga att avdunsta i luften är därför begränsad. Eftersom  $\alpha$ -kolatomen i 2-EHS är asymmetrisk, förekommer ämnet i form av två enantiomerer; den industriella kemikalien är en racemisk blandning.

### 4. Förekomst, produktion och användning

Enligt en uppskattning av US-EPA producerade och importerade USA allena ca. 9 000 - 14 000 ton 2-EHS per år (58). 2-EHS används främst för kemisk konversion till metallsalter, vilka brukas som sickativ för målfärger och fernissa, och som initierare vid polymerisering av kolväten (18). Substansen kan även användas vid framställning av katalysatorer, mjukgörare, bläck, färgämnen, släckmedel, ytaktiva ämnen och smörjmedel.

Under senaste tiden har 2-EHS natriumsalt (blandat med andra fungicider) använts som träsnyddsmiddel. I Finland används årligen flera hundra ton natriumetylhexanoat för ytbehandling av färsk sågvara för att hindra tillväxt av mögel (23). Användningen av natriumetylhexanoat har snabbt ökat under de senaste åren. I Finland uppskattas ca. 200 - 300 människor exponeras för träsnyddsmiddel under arbetet.

### 5. Data om exponering inom arbetsmiljön

US-EPA har uppskattat att arbetare kan exponeras för en daglig dos av 60 mg 2-EHS per kg genom hudkontakt (58).

Endast en rapport stod till buds med kvantitativa data om exponering för 2-EHS inom arbetsmiljön. I studien rapporterades om fyra sågverk i Finland där arbetare var exponerade för joniserad 2-EHS från en alkalisk träsnyddslösning innehållande 1,3% 2-EHS (23). Koncentrationerna av 2-EHS i individuella prover från andningszonen, samlade under 1 - 3 timmar, var mellan 0,01 och 1,3 mg/m<sup>3</sup>, och medelvärdena i luften vid olika arbetspunkter varierade mellan 0,17 (uträtning av ribbor) och 0,62 mg/m<sup>3</sup> (i närheten av doppningskärlet). Koncentrationerna av 2-EHS i luften var större när trävara behandlades med sprutemetoden (ca. 0,5 mg/m<sup>3</sup>), jämfört med dopning i käril (ca. 0,2 mg/m<sup>3</sup>). Urinprover som samlades vid slutet av arbetsskiftet innehöll 0,01 - 1,4 mmol 2-EHS per mol kreatinin (efter syrahydrolysis), och korrelationen mellan koncentrationerna av 2-EHS i luft och urin var statistiskt signifikant (23).

### 6. Mätning av yrkesexponering

Halten av 2-EHS i luften vid andningszonen hos arbetare i sågverk mättes, men metodikerna är bristfälligt beskrivna (23). Författarna använde vanliga impingerflaskor (innehållande etanol), och milliporefilter som extraherades med etanol. Synbarligen försvann ca. hälften av provet vid användning av filter, jämfört med vätskeadsorptionsmetoden.

Etanolprover som innehöll 2-EHS avdunstades till en volym av 1 - 2 ml, och den analyserade substansen derivatiserades till sin pentafluorobensylester. Den kemiska analysen gjordes med en kapillärgaskromatograf kopplad till en <sup>63</sup>Ni-elektronupptagningsdetektor (23, 24). Detektionsgränsen för 2-EHS med impingeradsorbenten var 0,1  $\mu$ mol/l.

Eftersom avdunstningen av 2-EHS från en alkalisk lösning väntas vara låg, antas den luftburna substansen vara i vätske aerosolform. Denna aspekt av exponering har emellertid inte närmare undersökts, och det är därför svårt att ge ett entydigt svar på frågan om potentialen och rutterna av exponering för 2-EHS hos arbetare i sågverk.

### 7. Toxikokinetik

#### 7.1. Toxikokinetiken hos människa

Inga kvantitativa data stod till buds om adsorption av 2-EHS via inhalation, matsmältningskanalen och huden i människa. Det bör noteras att substansen är relativt fettlöslig (i ett distributionssystem av oktanol och vatten uppnår den en 10<sup>3</sup> gånger större koncentration i den hydrofobiska fasen), och den antas därför absorberas lätt. När 2-EHS löses upp av kroppsvätskorna är den emellertid nästan helt joniserad, vilket antagligen begränsar dess diffusion genom biologiska membran.

Studien av sågarbetare i Finland visade att 2-etylhexanoat förekom i urin, vilket tyder på att en del av substansen absorberades. Eftersom halter av 2-EHS i urin korrelerade med koncentrationer i luften, tycks inhalation av substansen vara den mest sannolika ruten för upptag (23). Studien gav tyvärr inga kinetiska data av betydelse angående t.ex. avsöndringshastigheten av 2-EHS, med undantag av observationen att de största koncentrationerna förekom genast efter arbetsskiftet. Det finns heller ingen data om i vilken form 2-EHS avsöndras i urin (antagligen främst som glukuronid), och inga slutsatser dras angående omfattningen av dess avsöndring i förhållande till upptaget av 2-EHS.

## 7.2. Undersökningar hos djur

### 7.2.1. Kinetiken som helhet

I en publicerad rapport från den kemiska industrin till US-EPA (12) har de mest betydande egenskaperna av 2-EHS toxikokinetik hos råttor rapporterats. Honor av F344-råttor sondermatades med (1) 100 mg eller 1000 mg/kg kroppsvikt [ $2\text{-}^{14}\text{C}$ -hexyl] etylhexansyra, (2) efter 14 dagliga sondermatningsdoser (100 mg/kg kroppsvikt) med "omärkt" 2-EHS, (3) genom applicering på huden under 96 timmar (100 eller 1000 mg/kg kroppsvikt) och (4) genom intravenös injektion (1 mg/kg kroppsvikt). Urin, avföring och blod (från utvalda djur) samlades in med 96 timmars intervaller.

Vid oral tillförsel med en dos på 100 mg/kg  $^{14}\text{C}$ -EHS, observerades ett maximivärde i blod på 85,1  $\mu\text{g}$  EHS-ekvivalenter/g efter 15 eller 30 minuter. Vid pensling på hud av samma dos uppnåddes ett maximivärde på 8,5  $\mu\text{g}$  EHS-ekvivalenter/g efter 5,7 timmar. Ca. 80% av dosen avsöndrades i urin och ca. 10% i avföring inom 96 timmar efter en enkel oral dos på 100 eller 1000 mg/kg kroppsvikt. Elimineringprocesserna verkade bli övermättade vid den större dosen, eftersom bara ca. 20% av dosen avsöndrades via njurarna vid hög dosering, jämfört med ca. 50% vid låg dosering, under den första 8-timmarsperioden efter tillförsel. Dessutom avsöndrades en större proportion av dosen i avföringen hos gruppen med låg dosering (12,5%), jämfört med gruppen med hög dosering (6,7%), vilket tydde på att avsöndringen skedde via gallan till matsmältningskanalen, samt att avsöndringen mätades vid den höga dosen. Avsöndring via gallan till avföringen bekräftades med oral tillförsel av  $^{14}\text{C}$ -EHS (3,6% av dosen jämfört med 66,6% i urinen). Upprepad sondermatning av 100 mg/kg 2-EHS resulterade i mindre avsöndring av dosen i urin (60,6%), medan avsöndringen i avföring var större (14,9%) än i studier med oral tillförsel. Vid pensling på hud avsöndrades ca. 45% av dosen i urin och ca. 7,5% i avföring med båda doserna.

Man kan sammanfattningsvis konstatera att 2-EHS absorberades snabbt och nästan helt och hållet från matsmältningskanalen hos råttor, samt en betydligt långsammare men slutligen omfattande absorption från huden. I det senare fallet var emellertid överhudens skyddande hornlager allvarligt skadat.

En separat studie med råttor utfördes för att bestämma hur effektivt påpenslad 2-EHS avlägsnas vid tvättning av huden med såpvatten. Det penslade området

tvättades 5 - 10 minuter efter hudexponering för 1000 mg  $^{14}\text{C}$ -EHS/kg kroppsvikt. Så gott som all radioaktivitet avlägsnades vid tvättning, vilket tyder på att (1) penetrationen av 2-EHS i huden är långsam och att (2) tvättning med en blandning av vanlig tvål och vatten är ett effektivt sätt att dekontaminera huden.

Efter intravenös och oral tillförsel av  $^{14}\text{C}$ -EHS minskade radioaktiviteten i blod triexponentiellt. Eftersom merparten av dosen avsöndrades inom 24 timmar, associerades elimineringen av 2-EHS med den omedelbara halveringstiden på ca. 6 - 7 timmar. De slutliga halveringstiderna för  $^{14}\text{C}$  efter intravenös, oral samt dermal tillförsel var 117, 98 och 251 timmar, respektive. Distributionen av  $^{14}\text{C}$ -EHS bland olika organ bestämdes inte.

### 7.2.2. Biotransformation

I den tidigare studien med honor av F344-råttor (12) försökte man även karakterisera metaboliterna av 2-EHS i urin genom separation med HPLC-tekniker och identifikation med GC-MS-metoder. 2-EHS-glukuronid var den mest förekommande metaboliten i urin (12 - 45 % av dosen), och konjugering med glukuronid ökade vid större doser. Mindre mängder av intakt 2-EHS upptäcktes även; hydrolysis av 2-EHS-glukuroniden kan vara en möjlig förklaring. Flera andra metaboliter blev preliminärt identifierade, eller deras förekomst postulerades i enlighet med vad man vet om oxidationsreaktioner hos mikrosomal cytochrom P450 och  $\beta$ -oxidation i mitokondrier och/eller peroxisomer. Preliminärt identifierade, huvudsakliga, metaboliter var 2-etyl-6-hydroxihexansyra och 2-etyl-1,6-hexandionsyra, vilka antagligen bildas vid  $\omega$ -oxidation katalyserad av cytochrom P450. Mindre mängder av 2-etyl-5-hydroxihexansyra, etylketoheksansyra och två postulerade laktoner, vilka antagligen härstammade från  $\omega$ -1-oxidation katalyserad av cytochrom P450. Förekomsten av små mängder av  $\Delta^5$ -2-heptenon kan tas som ett bevis för biotransformation via  $\beta$ -oxidation.

Betydelsen av  $\beta$ -oxidation i metabolismen av 2-etylhexanol (från vilken 2-EHS bildas) har redan tidigare förslagits av Albro (2) efter att ha funnit radioaktiv  $\text{CO}_2$  (6 - 7 % av en dos på 8,8  $\mu\text{g}$ ) i utandningsluften hos råttor sondermatade med 2-etyl( $^{14}\text{C}$ )hexanol. Han identifierade 2-EHS, 2-etyl-1,6-hexandionsyra och 2-etyl-5-hydroxihexansyra som de viktigaste metaboliterna i urin, medan 2-etyl-5-ketoheksansyra avsöndrades i mindre mängd.

2-EHS gavs i dricksvattnet åt hanar av Wistar-råttor, 5 eller 10 g/l, vilket motsvarar dagsdoser på 130 och 200 mg (370 och 570 mg/kroppsvikt/dag), under 20 dagar (31). Under den sista veckan av exponering fanns relativt stabila mängder av 2-EHS (fria och konjugerade former urskiljdes inte) i urin. Dagligen avsöndrade mängder av 2-EHS uppskattades, för denna översikt, genom att jämföra publicerad data om på den genomsnittliga kreatininkoncentrationen (9,4 mmol/l) och den av författarna givna genomsnittliga urinvolymen på 15 ml med de dagliga doserna av 2-EHS. Enligt dessa uträkningar avsöndrades ca. 31 % av den lägre dosen och ca. 51 % av den högre dosen som 2-EHS och dess konjugater. Värdena är ca. dubbelt större än vid användning av motsvarande radioaktivt märkta metaboliter i F344-råttor vilka sondermatades upprepade gånger med en



daglig dos av 100 mg 2-EHS/kg (12). Resultatet är dock förenligt med tidigare resultat som visat att avsöndringen av 2-EHS-glukuroniden ökar med dosen (12).

Samma forskargrupp har senare studerat metaboliter av 2-EHS i urinen hos Wistar-råttor av hankön efter tillförelse, via dricksvatten, med 600 mg 2-EHS/kg kroppsvikt under 9 veckor (43). Föreningarna identifierades med GC-MS-teknik. 2-EHS och tio olika EHS-metaboliter upptäcktes. 2-Etyl-1,6-hexandionsyra var den kvantitativt mest dominerande. Sex hydroxylerade metaboliter (en identifierades som 2-etyl-6-hydroxihexansyra) och två laktoner upptäcktes, men deras struktur kunde inte definieras i detalj. Laktonernas ursprung är osäkert eftersom de kan ha bildats i samband med analysen (2). En liten kromatografitopp överensstämde med 2-etyl-5-hexansyra som antagligen produceras av P450-katalyserad  $\delta$ -dehydrogenering.

Frivilliga försökspersoner som fick en oral dos av deuteriummärkt di-(2-etylhexyl)adipat (metaboliseras till 2-EHS hos människa) avsöndrade 2-EHS (som glukuronid), 2-etyl-1,6-hexandionsyra, 2-etyl-5-hydroxihexansyra och 2-etyl-5-ketohexansyra i urinen (26). Metabolismen av 2-EHS i människa tycks därför uppvisa en likadan profil som i råttor.

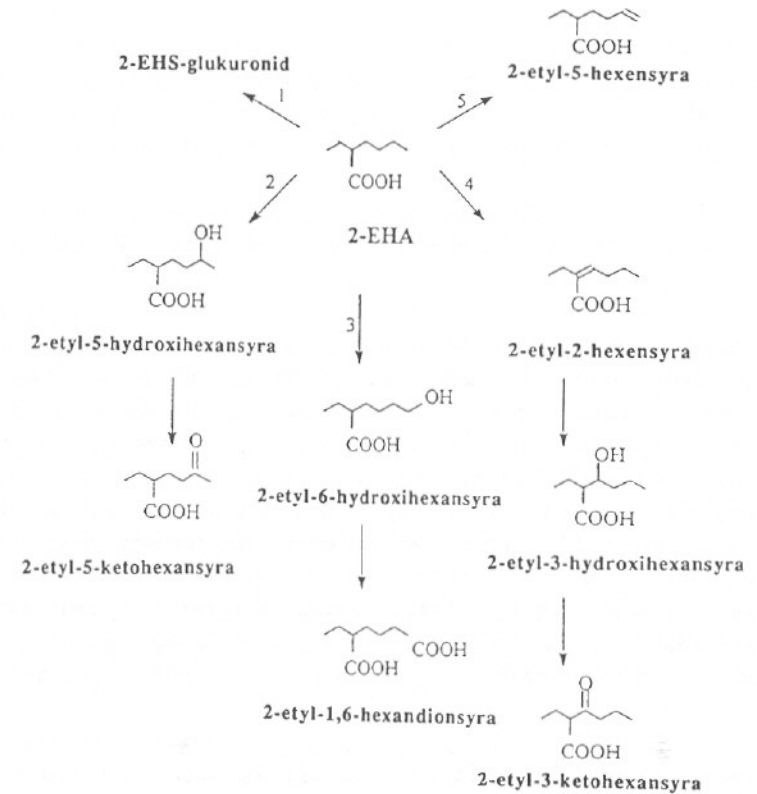
I Figur 1 presenteras ett förslag till modell för 2-EHS metabolism.

### 7.2.3. Distribution

Fördelningen av  $2\text{-}^{14}\text{C}$ -EHS mellan olika organ blev preliminärt undersökt, efter intraperitoneal tillförelse, med analys av radioaktivitet i blod, lever, njure och hjärta samt autoradiografi av hela kroppen hos råttor och möss (46). 2-EHS distribuerades snabbt till vävnader, och de högsta aktiviteterna fanns i lever och njure. Endast litet av aktiviteten fanns i hjärnan. Radioaktiviteten avsöndrades snabbt, detektionsgränsen uppnåddes i alla vävnader inom 24 timmar.

## 8. Biologiska monitoreringsmetoder

Med tanke på ovanstående data om 2-EHS metabolism kan man föreställa sig metoder för bestämmande av upptaget av 2-EHS i människa, så snart relevant kinetiska och metaboliska data är tillgängliga. Detta är tillsvidare inte möjligt. På grund av detta, även om känsliga metoder för analys av 2-EHS bl.a. i urin har utvecklats (17, 24), är dessa inte lämpliga för biologisk monitorering. Ett intressant fynd bland ett litet antal sågarbetare var den synbarligen dosbetingade ökningen i avsöndringen av arginin och ornitin (45). Mekanismen av denna effekt är ännu oklar, men den beror antagligen på störningar i urea-cykeln vilket har påvisats hos råttor redan vid låga doser av 2-EHS (31). Avsöndring av arginin och ornitin via urinen kan därför eventuellt möjliggöra monitorering av den biologiska effekten av 2-EHS, även om de preliminära resultaten ännu inte är bekräftade.



Figur 1. Metabolismen av 2-etylhexansyra i råttor enligt ett förslag av Pennanen (43): 1 = glukuronid-bildning; 2 = ( $\omega$ -1)-oxidering; 3 = ( $\omega$ )-oxidering; 4 =  $\beta$ -oxidering och 5 = ( $\delta$ )-dehydrogenering

## 9. Toxicitetsmekanismer

Tre typer av effekter av 2-EHS vilka kan leda till betydande toxicitet är kända från djurexperiment: ökning av antalet peroxisomer (22, 28, 35), störningar i embryonal- eller fosterutveckling (8, 47, 49) och rubbningar i leverns metabolism (31, 36, 59).

Peroxisomer är subcellulära organeller vars främsta uppgift är att bryta ned långkedjade fettsyror, och därigenom komplettera fettsyrametabolismen i mitokondrierna. Ökning av antalet peroxisomer i leverceller är associerat med betydande förstöring av levern, och orsakas av både cellulär hyperplasi och hypertrofi (se 3, 25 för en översikt). Hyperplasin beror på stimulering av

replikativ DNA-syntes och därpå följande celledelning. De hypertrofiska cellerna uppvisar ökning av endoplastiskt retikulum och specifik induktion av cytokrom P450IVA som har hög specificitet för  $\omega$ -oxidering av långkedjade fettsyror (t.ex. laurinsyra). De producerade långkedjade fettsyror, vilka främst metaboliseras av peroxisomala  $\beta$ -oxidations-system, anses inducera ökning av antalet peroxisomer. Ökning av peroxisomer medföljs av en selektiv induktion av specifika aktiviteter hos vissa peroxisomala enzymer, speciellt de som deltar i  $\beta$ -oxidation av fettsyror (t.ex. cyanid-okänslig palmitoyl-CoA oxidation och karnitin acetyltransferas), medan andra enzymer såsom uratoxidase och katalas är relativt opåverkade. Denna obalans bland peroxisomala enzymer kan tyda på ökad produktion av aktivt syre och därigenom cellulära effekter av syrestress, t.ex. deposition av lipofuscin och indirekta DNA-skador. Upptäckten av det faktum att cytosoliskt epoxidhydrolas induceras i muslever efter tillförsel av 2-EHS via födan stöder också hypotesen om produktionen av aktivt syre (väteperoxid), vilket leder till ökning av fettperoxider i cellen (28). Många föreningar som ökar antalet peroxisomer, bl.a. di(etylhexyl)ftalat (DEHP) och di(etylhexyl)adipat (DEHA) vilka båda bildar 2-EHS under däggdjursmetabolismen, inducerar levertumörer i råttor och mus. Dessutom identifierades 2-EHS som det mest sannolika alternativet för ökning av peroxisomer av DEHA i primära hepatocytkulturer från råttor och mus (9). Det finns ingen djurkarcinogenicitetsdata om 2-EHS i sig självt.

Händelsekedjan som leder till produktion av peroxisomer och tillväxt av levern är mycket komplex, och den grundläggande orsaken till detta är inhibition av mitokondrial fettsyrametabolism via CoA (25). Ett stort antal olika organiska föreningar, främst syror såsom alkykarboxysyror, kan orsaka produktion av peroxisomer. De aktiva föreningarna bland alkykarboxysyrorna har alla C-2-substitutioner vilka gör dem resistent för  $\beta$ -oxidation (3). I en serie av hexansyror hade den mest effektiva induceraren av ökad peroxisom-produktion en etyl-grupp i C-2-positionen (29). 2-EHS är av allt att döma i sig självt en aktiv förening, och fenomenet är stereoselektivt. (S)-Enantiomeren var mera aktiv än (R)-formen, vilket tyder på att den molekylära mekanismen inbegriper en kiral endogen receptor (30).

Det är viktigt att notera att gnagare såsom marsvin, i likhet med primater och människor, är okänsliga för föreningar som inducerar proliferering av peroxisomer (inklusive DEHP och DEHA) vid doser som är aktiva hos möss och råttor. En studie med primära cellkulturer av hepatocyter visade att även om celler från råttor och mus var känsliga för produktion av peroxisomer inducerade av 2-EHS, var hepatocyter från marsvin och marmosettapa okänsliga för induktion (9). Relevansen av möjlig produktion av peroxisomer inducerad av 2-EHS hos människor är därför mycket osäker.

Många karboxysyror är teratogena, och ett fåtal översikter har gjorts om förhållandet mellan deras struktur och aktivitet (11, 39). De kritiska strukturella delarna är (a) en fri karboxylgrupp, (b) en väteatom vid C-2, (c) förgrenande av kolkedjor, (d) inga dubbelbindningar vid C-2 eller C-3, och (e) en substituerande alkylgrupp större än metyl vid C-2.

Största delen av forskningen har koncentrerat sig på effekterna av valpronsyra (2-propylpentan-pentanonsyra), en anti epileptisk medicin och isomer av 2-EHS. Valpronsyra är en känd teratogen hos människa (50). Även om valpronsyran är en effektivare teratogen än 2-EHS (racemisk blandning), verkar effekterna (defekter hos neuraltuben och skelettet) vara identiska (39, 49). Den teratogena effekten av 2-EHS verkar emellertid vara stereoselektiv. (R)-enantiomeren var mera effektiv än (S)-formen (8, 19) och, eftersom inga betydande kinetiska skillnader fanns mellan de två antipoderna hos embryot, innefattar mekanismen antagligen en interaktion mellan teratogenerna och kirala molekyler i embryot.

Den teratogena aktiviteten av 2-EHS antas bero på dess metaboliska stabilitet (resistens emot  $\beta$ -oxidation) och förmåga att bindas till receptorer (11). Eftersom föreningen är en svag syra (pKa 4,0), kan man vänta sig att den fångas upp av embryot under tidig organogenes när pH-nivån i cellerna stiger temporärt (47). Denna mekanism har visat sig vara ansvarig för ökning av den embryonala valpronsyrakoncentrationen (40, 55).

2-EHS inhiberade oxidationen av ett flertal endogena substrater (palmitoyl-karnitin, glutamat och  $\alpha$ -ketoglutarat) i råttleverbcellernas mitokondrier *in vitro* i likhet med valpronsyra (59). Den bakomliggande inhibitionsmekanismen kan vara beroende av en hämmande effekt på CoA. Förutom att orsaka störningar i lipid-metabolismen, beskrivet i samband med ökning av peroxisomer, vilket leder till hypolipidemi (36), kan 2-EHS även inhibera syntesen av urea (citrullinsyntesen) hos råttor (31). Arbetare som exponerats för 2-EHS avsevärt mängder av arginin och ornitin i urinen i proportion till exponeringsgraden; orsaken till avsevärdheten av aminosyror var antagligen inhibition av urea-cykeln (45). Hyperammonemi utan indikationer på hepatotoxicitet är ett vanligt fynd bland patienter som behandlas med valpronsyra. Störningar i hepatiska mitokondriernas citrullinogenes var den primära orsaken till hyperammonemi efter matning av råttor med aminosyror (32).

Det kan noteras att valpronsyra orsakar flera olika slag av metaboliska effekter i levern (för en översikt, se 10). Många av dessa kan vara gemensamma med 2-EHS, men relevant forskningsdata om detta saknas.

## 10. Effekter hos djur och i *in vitro*-studier

### 10.1. Irritation och sensibilisering

Outspädd 2-EHS orsakade moderat eller svår irritation i huden under direkt 24-timmars hudkontakt hos kaniner (52, 54). I en senare studie exponerades honor av F344-råttor via huden för utspädd 2-EHS (ca. 1 g/kg kroppsvikt) under 24, 48, 72 eller 96 timmars tid (12). Endast minimala synliga skador konstaterades i huden, men histopatologiska undersökningar visade fläckiga områden med nekros genom hela epidermis, och underliggande dermis och hypodermis visade klara

tecken på inflammation. Efter de första 24 timmarna fortsatte regenerationen av epidermis.

En 15% lösning av 2-EHS (antagligen i propylenglykol) orsakade svår irritation i ögonen hos kaniner när en dos på 0,5 ml applicerades (53, 54).

Inga studier har upptäckts angående 2-EHS potentiellt sensibiliserande effekt.

## 10.2. Akut toxicitet

Den akuta letala dosen (LD<sub>50</sub>) av 2-EHS vid sondmatning (hanar av Wistar-råttor och honor av Sprague-Dawley-råttor) var 1600 - 3200 mg/kg kroppsvikt (54, 57). Honor av Sprague-Dawley-råttor som sondmatats med 3200 mg/kg låg orrliga 4 timmar efter behandlingen, och samtliga råttor dog inom 24 timmar. Inga större patologiska förändringar noterades vid obduktionen. Råttor som behandlats med 800 eller 1600 mg 2-EHS/kg kroppsvikt visade svaghetstecken genast efter dosen, men hade normal viktökning under den 14 dygn långa observationsperioden. Inga kliniska abnormiteter hittades i djur som behandlats med 90 mg 2-EHS/kg kroppsvikt (57).

Ett dermalt LD<sub>50</sub>-värde på 6,5 ml/kg kroppsvikt konstaterades i ett test med marsvin (54). Djuren behandlades med 2-EHS under 4 dygn och observerades under 14 dygn.

Ingen dödlighet observerades bland råttor som exponerats för 8 timmar i en atmosfär mättad med ånga av 2-EHS (koncentrationen angavs inte men den var antagligen lägre än 100 mg/m<sup>3</sup>) (54).

## 10.3. Toxiska korttidseffekter

Studier med upprepade doser av 2-EHS under två veckor har gjorts med möss och råttor, antingen med hjälp av sondmatning eller tillförsel via födan (5, 6, 16). Dessa kompletta rapporter från industrin har överlämnats till US-EPA, och har därigenom blivit tillgängliga för allmänheten. De har även blivit evaluerade för OECD:s HPV-program (under arbete).

### 10.3.1. Sondmatning av försöksdjur

Grupper på fem hanar och fem honor av *B6C3F1-möss* gavs 0, 200, 800 eller 1600 mg 2-EHS/kg kroppsvikt utspätt med majsolja i 11 doser under 15 dagar. Djurens beteende observerades och tillväxttakten uppföljdes. Inga hematologiska eller klinisk-kemiska undersökningar gjordes. Levern och njurarna samt alla makroskopiska skador blev histologiskt undersökta. Balansstörningar, svaghet och viktnedgång observerades i en enda hona i högdosgruppen under de två första dagarna av experimentet. Inga skillnader i viktökning eller konsumtion av föda mellan grupperna av någotdera av könen kunde observeras. Absoluta och relativa (till kroppsvikten) vikter av levern ökade i gruppen av hanar med hög dos (men i inga andra grupper), och alla dessa djur uppvisade hypertrofi i hepatocyter vid histologisk examinering. Inga patologiska förändringar förknippade med behandlingen kunde konstateras i njurarnas histologiska analyser (16).

*F344-råttor*, fem hanar och fem honor per dosgrupp, behandlades och undersöktes på samma sätt som ovan. Den högsta dosen (1600 mg/kg kroppsvikt) var letal för största delen av råttorna efter bara två doser. Dosen på 800 mg/kg orsakade ännu letargi och svaghet hos djuren efter behandlingen. Djur som behandlats med 200 mg/kg visade inga abnorma kliniska tecken. Störningar i viktökningen konstaterades hos den enda överlevande hanen och honan i högdosgrupperna, och även hanarna i 800 mg/kg-gruppen hade nedsatt ökning av kroppsvikt (även om konsumtionen av föda var jämförbar med kontrollgruppen). De absoluta och relativa vikterna av levern ökade i takt med dosen hos djur av båda könen vid höga och medelhöga doser; i förhållande till kroppsvikten ökade vikten av levern hos honor med 200 mg/kg kroppsvikt/dag. Djuren i högdosgruppen som dog efter en eller två doser uppvisade degeneration av hepatocyter och vakuolisering av cytoplasmat. I de två överlevande djuren från högdosgruppen och i en hane från 800 mg/kg-gruppen konstaterades minimal hypertrofi av hepatocyter, men inga klara bevis för hepatotoxicitet (6).

### 10.3.2. Tillförsel via födan

Grupper på fem hanar och fem honor av *B6C3F1-möss* behandlades med 0, 0,75, 1,5 eller 3% 2-EHS i födan under två veckor. De motsvarande uträknade doserna var ca. 0, 1600 - 2000, 3100 - 4000 och 5800 - 9200 mg/kg kroppsvikt/dag för respektive hanar och honor. Djuren undersöktes såsom ovan. De slutliga kroppsvikterna var lägre än hos kontrollerna för båda könen vid den högsta dosnivån (konsumtionen av mat hos hanar som inte spillde sin föda minskade vid alla doser). De absoluta och relativa (till kroppsvikt) levervikterna hos hanar som behandlades med höga- och medelhöga doser och hos honor vid alla doser ökade dosbetingat. Histopatologiska undersökningar tydde på hypertrofi av hepatocyter vid alla doser (med undantag av djuren i 0,75%-gruppen), främst bland celler i det periportala området. Lindrig multifokal koagulativ nekros i hepatocyter konstaterades vid alla dosnivåer, men med större frekvens bland djuren på de två högsta dosnivåerna. Dessutom konstaterades kortikal atrofiering av brässen (hos två hanar och en hona) och atrofiering av celler i mjälten (fyra hanar och två honor) vid den högsta dosen. Inga behandlingsrelaterade effekter i njurarna kunde konstateras (15).

Grupper på fem hanar och fem honor av *F344-råttor* gavs 0, 0,75, 1,5 eller 3% 2-EHS i födan under två veckor. De motsvarande doserna för respektive hanar och honor var 0, 710 - 760, 1350 - 1400 och 2300 - 2700 mg/kg kroppsvikt/dag. Honorna i högdosgruppen hade urinbefläckad päls och piloerektion. De flesta av honorna i medeldosgruppen visade även tecken på samma symtom. De slutliga kroppsvikterna minskade bland djuren av båda könen i högdos- och medeldosgrupperna. De absoluta och relativa vikterna av levern ökade med dosen på alla dosnivåer hos båda könen. Hypertrofi av hepatocyter i det periportala området observerades hos alla djuren som erhöll 3%- och 1,5%-dieten. Multifokal koagulativ nekros av individuella hepatocyter noterades hos alla hanar och honor i högdosgruppen, och i mindre utsträckning i medeldosgruppen. Inga behandlingsrelaterade effekter i njurarna kunde konstateras (5).

#### 10.4. Toxiska långtidseffekter och carcinogenicitet

Inga rapporter om toxiska långtidseffekter eller carcinogenicitetsstudier om 2-EHS finns tillhanda. Subkroniska 90-dagars matningsstudier (tillförsel via födan) har emellertid gjorts med 2-EHS i möss och råttor (4, 14). Dessa kompletta rapporter av industrin har också överlåtits till US-EPA, och de är tillgängliga för allmänheten. De har även blivit evaluerade för OECD:s HPV-program (under arbete).

Grupper av tio *B6C3F1*-möss av båda könen gavs 0, 0,2, 0,5 eller 1,5 % 2-EHS i födan under 91 - 93 dagar. De motsvarande uträknade genomsnittliga doserna var ungefär 180, 890 eller 2730 mg/kg kroppsvikt/dag för hanar och 200, 1040 eller 3140 mg/kg kroppsvikt/dag för honor. Separata grupper av kontroller och högdosdjur hölls på standard-diet efter 90-dagarsperioden för ytterligare en månad för att undersöka reversibiliteten av effekter.

Högdosgrupperna och honorna i medeldosgruppen hade lägre slutliga kroppsvikter. Konsumtionen av föda minskade tidvis, speciellt bland hanarna utsatta för den högsta dosen. Inga kliniska symtom som kunde förknippas med upptag av 2-EHS kunde konstateras. De mest betydande effekterna av 2-EHS konstaterades i levern. Levervikterna ökade med hög- och medeldos; histopatologiska undersökningar avslöjade hypertrofi av hepatocyter och ökad eosinofili främst i portala områden. Inga förändringar i levern konstaterades hos djuren i lågdosgruppen. Triglycerid-koncentrationerna i serum minskade i 1,5%- och 0,5%-grupperna, medan koncentrationerna av kolesterol ökade hos samma grupper i takt med dosen. Bilirubin-koncentrationerna var något lägre hos båda könen i högdosgruppen och honorna i medeldosgruppen. Koncentrationerna av alaninamino-transferas (ALAT) ökade signifikant hos hanarna och en hona i högdosgruppen. Djuren i gruppen med hög dos visade tecken på ökad cytoplasmisk basofili i njurarna och tidvis andra förändringar i de cellulära organelerna hos proximala tubulära celler. De flesta av hanarna i gruppen med hög dos konstaterades lida av akantos och hyperkeratos i den icke-sekretoriska delen av frammagen.

Vid slutet av återhämtningsperioden var förändringarna som observerades efter 90 dagar för det mesta försvunna. Några enstaka möss av båda könen visade ännu tecken på hypertrofi av hepatocyter; inga förändringar kunde längre konstateras i njurarna eller matsmältningsskanalen.

Grupper av tio *Fischer F-344*-råttor av båda könen gavs 0, 0,1, 0,5 eller 1,5 % 2-EHS i födan under 90 dagar. De motsvarande genomsnittliga doserna var ca. 60, 300 eller 920 mg/kg kroppsvikt/ dag för hanarna och 70, 360 eller 1070 mg/ kg kroppsvikt/dag för honornas del. Separata grupper av kontroller och djur med hög dos utfodrades med standard-dieten under ytterligare 28 dagar efter 90-dagarsperioden för att undersöka reversibiliteten av effekter.

Högdosgruppen visade tecken på reducerad ökning av kroppsvikt och lägre terminal kroppsvikt; konsumtionen av föda minskade också. Smärre hematologiska effekter i röda blodkroppar kunde även konstateras: MCH var lägre i 0,5 %- och 1,5 %-grupperna och den tidvis observerade poikilocytosen var mera allmän i de behandlade grupperna. Kolesterolvärden ökade med dosen i alla

dosgrupper hos hanar; nivåerna av triglycerider var signifikant lägre i högdosgrupperna och hos honorna i medeldosgruppen. Koncentrationerna av kväve från urea samt albumin ökade något hos hanarna i högdosgruppen. Levervikterna ökade dosbetingat i högdos- och medeldosgrupperna; histopatologiska analyser tydde på hypertrofi av hepatocyter och förminskad cytoplasmisk vakuolisering (eosinofili). Njurarnas relativa (till kroppens/hjärnans vikt) vikter ökade något i högdosgrupperna och hos honorna i medeldosgruppen; njurvävnadens histopatologiska egenskaper var inom normala gränser. Efter återhämtningsperioden var de enda fortbestående effekterna av behandlingen av hanarna i högdosgruppen något lägre kroppsvikter, samt ökade levervikter i förhållande till kroppsvikten.

#### 10.5. Mutagenicitet och genotoxicitet

Mutageniciteten av 2-EHS undersöktes i Ames test med *Salmonella typhimurium*-stammarna TA98 och TA100, med och utan metabolisk aktivering (60), och i ett annat experiment med *S. typhimurium* TA97, TA98, TA100 och TA1535, med och utan metabolisk aktivering (61). Båda experimenten gav negativa resultat.

En obetydlig dosresponseeffekt i ökade systerkromatidutbyten (sister chromatid exchanges; SCE:s) kunde observeras i humana lymfocyter vilka inkuberats med 2-EHS (0,63 - 2,5 mM) under 48 timmar (51). Eftersom det maximala antalet observerade SCE:n var mindre än en fördubbling av kontrollnivån, påpekade författarna att resultatet skulle tolkas med försiktighet. Dosresponseeffekten kunde inte förklaras med förändringar i pH under odlingen.

#### 10.6. Reproduktions- och utvecklingstoxikologi

En reproduktionstoxikologisk undersökning av 2-EHS under en generation har utförts hos råttor (48), och ett flertal studier om utvecklingstoxikologin och teratogeniciteten av 2-EHS har utförts hos möss (8, 19), råttor (20, 37, 38, 47, 49) och kaniner (20).

##### 10.6.1. Reproduktionstoxikologi

I studien av Pennanen et al. (48) gavs 100, 300 eller 600 mg 2-EHS (som natriumsalt)/ kg kroppsvikt/dag åt Wistar-råttor (24 djur per kön och dosgrupp) i dricksvattnet. Hanråttor behandlades med 2-EHS för 10 veckor och honor för 2 veckor innan parning. Båda könen behandlades under parningstiden och honorna under hela dräktighetsperioden och hela digivningsperioden. 2-EHS orsakade en kort dosbetingad försening i befruktningen: kontrolldjuren befruktades under tidsrymden av två ägglossningscykler medan ett flertal djur behandlade med 2-EHS, speciellt i högdosgruppen, behövde tre eller fyra cykler, och alla obefruktade honorna var i grupperna behandlade med 2-EHS. Spermier hos hanarna i grupper som erhållit 100 eller 600 mg 2-EHS/ kg kroppsvikt var signifikant mindre rörliga än i kontrollgruppen. Abnormala spermier förekom rikligare hos de två högre dosgrupperna. Den genomsnittliga storleken på kullarna minskade 16% i högdosgruppen. Kroppsvikterna hos ungarna påverkades inte men viktökningen

var långsammare i början av digivningsperioden i högdosgruppen. Flera av ungarna var missbildade (knorr på svansen, slöhet, paralyserade ben) och den fysiska utvecklingen (öppnande av ögonen, tandsprickningen, hårväxten, grip-reflexen, undvikande av stup) var försenad i de två högsta dosgrupperna.

I en separat förstudie gavs en engångsdos på 600 mg 2-EHS/ kg kroppsvikt åt dräktiga råttor via sondmatning under 4:e, 5:e, 6:e eller 7:e dräktighetsdagen, och antalet implantationer räknades på den 10:e dräktighetsdagen. Antalet implantationer var lägst efter behandling med 2-EHS under 6:e dagen; resorption upptäcktes hos 80% (4/5) av de dräktiga honorna, vilket översteg det historiska värdet på 0,6 resorptioner per kull i denna råttstam i detta laboratorium. Enligt författarnas mening kunde den reducerade fertiliteten hos råttor orsakad av 2-EHS främst bero på störningar i implantationen, medan förändringar i spermier skulle spela en mindre betydande roll. Ungarnas hämmade utveckling förknippades med 2-EHS teratogenicitet samt pre- och postnatale toxicitet.

#### 10.6.2. Utvecklingstoxikologi

Upptäckten av att valpronsyran (2-propylpentansyra) är teratogen i försöksdjur och människa (se 39 för en översikt) väckte ett aktivt intresse för att undersöka den teratogena potentialen av enkla organiska syror inkluderande 2-EHS, en isomer av valpronsyra.

Ritter et al. (49) upptäckte att en enkel sondmatningsdos på 900 mg outspädd 2-EHS/ kg kroppsvikt (6,25 mmol/kg kroppsvikt) under 12. dräktighetsdagen orsakade missbildningar hos 0,8% av de levande födda ungarna av Wistar-råttor, medan 1800 mg/ kg kroppsvikt (12,5 mmol/ kg kroppsvikt) orsakade missbildningar hos 67,8% av ungarna. När djuren i lågdosgruppen dessutom injicerades intraperitonealt med 150 mg koffein/ kg kroppsvikt, ökade andelen av missbildade ungar till 31,5%, vilket pekade på en potentiell effekt. Den högre dosen producerade dessutom embryo- och fetaltoxiska effekter, vilka uttryckte sig i en sänkning (30%) i fostervikten och en ökning (30%) i andelen döda och resorberade foster. De upptäckta typerna av defekter var främst missbildningar i extremiteterna, hydronefros, kort knorrig svans och missbildningar i hjärta och blodkärl. Liknande missbildningar orsakades också av valpronsyra i samma undersökning, men valpronsyran verkade vara ca. två gånger mera effektiv.

Fyra intraperitoneala injektioner, morgon och kväll under 7:e och 8:e dräktighetsdagen, i NMRI-möss med 500 mg 2-EHS (Na-salt) / kg kroppsvikt orsakade embryotoxicitet och teratogenicitet på ett stereoselektivt sätt (19). (S)-2-EHS orsakade ingen teratogen eller embryotoxisk respons över kontrollnivån, medan (R)-2-EHS inducerade en stark teratogen respons med exencefalit bland 59% av de levande födda ungarna. En signifikant minskning av vikten på foster och ett ökat antal resorptioner och döda foster pekade på embryotoxicitet. Ökningen av exencefalit av den racemiska blandningen av 2-EHS var i storleksgrad mellan de två enantiomererna.

De tidigare observationerna har senare bekräftats och vidare studerats av Collins et al. (1992) i SWV- och C57BL/6NCR1BR-möss med doser av ungefär samma storleksgrad. SWV-stammen var mera känslig för induktion av exencefalit

än C57BL/6NCR1BR-stammen. (R)-enantiomeren av 2-EHS var en starkare teratogen än (S)-enantiomeren för induktion av exencefalit och andra slag av missbildningar: förändringar i axiella skelettdelar och ablefaron. Inga större farmakokinetiska skillnader mellan antipoderna kunde konstateras. Speciellt betydelsefullt var att inga skillnader i de maximala 2-EHS-koncentrationerna i embryona kunde konstateras, vilket anses vara kritiskt för den teratogena responsen. Eftersom valpronsyra inte har en asymmetrisk kolatom i likhet med 2-EHS, verkade det inte finnas större skillnader i styrka mellan (R)-2-EHS och valpronsyra.

Pennanen et al. (47) gjorde en utvecklingstoxikologisk undersökning med 2-EHS i Wistar-råttor. Dräktiga honor (20 - 21 per dosgrupp) behandlades med doser på 100, 300 eller 600 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag under 6:e - 19:e dräktighetsdagarna. Kontrolldjuren erhöll rent vatten. 2-EHS var marginellt toxisk hos honorna på högdosnivån eftersom de terminala kroppsviktarna minskade med 11%. De genomsnittliga vikterna på fostren var även en aning lägre, vilket tydde på fetaltoxicitet när djuren exponerades för 600 mg/kg kroppsvikt/dag. Behandlingarna inverkar inte på antalet implantationer eller levande foster. Förekomst av klubbfoot var den allvarligaste skelettmissbildningen orsakad av behandlingen. Den ökade dosbetingat vid alla dosnivåerna, men mest märkbart vid doser på 300 och 600 mg/kg kroppsvikt/dag. Vinglande ben, mild skolios och lordos förekom även vid dosen på 100 mg/kg. Fallen av olika slag av allvarliga skelettmissbildningar ökade även bland de 2-EHS-behandlade djuren, inkluderande 100 mg/kg-gruppen. Endast ett fåtal fall av visceral missbildningar kunde konstateras. Hjärnventrikulära var något utvidgade i grupper som behandlats med 300 och 600 mg/kg, vilket antagligen kan förknippas med försenad fosterutveckling. När alla missbildningar i skelettet och visceral missbildningar kombinerades, kunde en dosbetingad effekt av 2-EHS skönjas, med statistiskt signifikanta skillnader i medel- och högdosgrupperna. Proportionerna av drabbade foster per kull var 4,9, 8,9 och 15,3% i grupperna behandlade med 2-EHS, jämfört med 2,4% i kontrollgruppen.

Utvecklingstoxikologiska tester i Fischer 344-råttor och "New Zealand white"-kaniner utfördes med 2-EHS av en grupp forskare (20). Resultaten av både preliminära tester och det egentliga arbetet rapporterades.

*Studier hos råttor:* I den preliminära studien behandlades dräktiga råttor (8 djur per dosgrupp) med 125, 250, 500 eller 1000 mg 2-EHS i majsolja/kg kroppsvikt/dag via sondmatning under 6:e - 15:e dräktighetsdagen. Kontrolldjuren erhöll majsolja. I den egentliga studien var de uträknade doserna 100, 250 eller 500 mg/kg kroppsvikt/dag, och de behandlade grupperna innehöll 25 djur var. Svåra toxiska effekter bland de dräktiga honorna konstaterades i gruppen som exponerats för 1000 mg/kg kroppsvikt/dag: honorna uppvisade ataxi, urogenital fuktighet, ljudlig andhämtning och röd periokulär skorbildning, och sju av åtta djur dog mellan 7:e och 9:e dräktighetsdagarna. Den enda överlevande modern hade en fullständigt resorberad kull. Den totala förlusten av foster efter implantationen ökade och den motsvarande procenten av levande foster minskade vid

500 mg/kg kroppsvikt/dag); kroppsvikterna av fostren minskade också. Djuren som exponerades för 500 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag, i den egentliga studien, uppvisade vissa kliniska toxicitetstecken: rinnande ögon, periokulär skorpbildning, men inga tecken på minskad viktökning under behandlingen eller minskad terminal kroppsvikt kunde konstateras. Levervikterna däremot visade tecken på ökning. Inga skillnader mellan exponerade grupper och kontrollgruppen kunde konstateras i förlusten av foster eller procenten av levande foster efter implantationen. Fetala kroppsvikter minskade hos båda könen på högdosnivån. I högdosgruppen konstaterades en ökning av kullar med förhindrad benbildning i ryggraden, fram- och bakbenens proximala falanger, bakbenens metatarsier och sternbrae. Mindre utbredd minskning av benbildningen konstaterades hos fostren i gruppen som exponerats för 250 mg/kg kroppsvikt/dag. Utvidgning av laterala hjärnventriklar tillsammans med sammanpressning av vävnader (visceral missbildning) observerades hos ett foster per grupp vid 100 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag och hos sex foster (i sex kullar) vid 500 mg/kg/dag, jämfört med två foster (i två kullar) i kontrollgruppen: skillnaderna var dock inte statistiskt signifikanta. Utvidgning av laterala hjärnventriklar utan sammanpressning av vävnader (visceral förändring) ökade dosbetingat och uppnådde en statistiskt signifikant skillnad vid den högsta dosnivån.

*Studier med kaniner:* I den preliminära studien erhöll dräktiga kaniner (8 djur per grupp) 125, 250, 500 eller 1000 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag i majsolja under 6:e - 18:e dräktighetsdagarna. Kontrolldjuren erhöll majsolja. I den egentliga studien var de motsvarande doserna 25, 125 eller 250 mg/kg kroppsvikt/dag och grupperna innehöll 15 djur var. Behandling med 500 och 1000 mg/kg kroppsvikt/dag var mycket toxiskt för de dräktiga kaninerna; sju av åtta, respektive alla åtta, honor dog under förloppet av experimentet vid dessa två dosnivåer. Grupperna som behandlats med 125 och 250 mg/kg/dag hade en hona var med missfall. Kaniner som behandlats med 1000 mg/kg/dag var överaktiva, hade andningssvårigheter och led av ataxi. Överaktivitet observerades även i grupper som behandlats med 250 och 500 mg/kg/dag. Inga klara tecken på utvecklings- toxikologiska symtom hos aykomman kunde konstateras i den preliminära studien. I den egentliga studien dog en dräktig hona var i grupperna behandlade med 125 och 250 mg/kg/dag. En minskning i viktökningen hos de dräktiga honorna konstaterades i högdosgruppen under perioden efter behandlingen. Behandlingen hade ingen effekt på den prenatala mortaliteten eller på procenten av levande foster. Inga signifikanta förändringar i kroppsvikterna hos fostren kunde konstateras, även om dessa hade en tendens att vara lägre i högdosgruppen. Inga skillnader kunde konstateras i förekomsten av skelettmisbildningar samt ytliga och visceral missbildningar eller variationer bland samtliga grupper.

I *in vivo*-studier för "screening" av toxicitet under fosterutvecklingen av Narotsky et al. (38, 39, citerat mera detaljerat av Hendrickx et al. (20)), behandlades Sprague-Dawley-råttor med 900 eller 1200 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag genom sondmatning under 6:e - 15:e dräktighetsdagarna, och de levande födda ungarna undersöktes på den 6:e dagen efter födseln. Behandlingarna

orsakade respiratorisk toxicitet och tydlig sänkning av motoriska färdigheter bland mödrarna. De observerade utvecklings- toxikologiska effekterna var försenad födsel, minskad livsduglighet, minskad fostervikt och missbildningar i ryggkotor och revben.

#### 10.7. Andra studier

Det har påvisats hos möss att stora doser av 2-EHS (ca. 1000 mg/kg kroppsvikt/dag i dieten under fyra dygn) orsakade proliferering av peroxisomer och relaterade enzymförändringar (28). Keith et al. (22) fann att induktionen av peroxisomal  $\beta$ -oxidation (mätt som oxidation av cyanidokänslig palmitoyl CoA) var lineärt dos-beroende i området mellan 390 och 1900 mg/kg kroppsvikt/dag (sondmatning under 20 dagar) i B6C3F1-möss och Fischer 344-råttor. De relativa levervikterna ökade signifikant dos-beroende vid 770 mg/kg/dag och större doser. Manninen et al. (31) exponerade Wistar-råttor för ca. 8,6, 94,3, 370 eller 570 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag via dricksvattnet under 20 dagar och fann en dosbetingad ökning (statistiskt signifikant redan från den lägsta dosen) av karnitin acetyltransferas i råttlevermitokondrier (det bör noteras att det mesta av enzymaktiviteten i mitokondrierna, enligt Lundgren et al. (28), i själva verket härstammar från peroxisomerna). I samma studie observerades inhibition av citrullinsyntesen (syntesen av urea) i råttlevermitokondrier redan vid den lägsta dosnivån (8,6 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag).

### 11. Observationer hos människa

Det finns endast ett fåtal publicerade observationer av skadliga effekter orsakade av 2-EHS hos människa.

#### 11.1. Akuta effekter

Ett fall med ögonskada som läktes inom två dagar har rapporterats; inga ytterligare detaljer gavs (33).

#### 11.2. Effekter av upprepad hudkontakt

En översiktlig studie av hud effekter utfördes på 114 sågarbetare vilka exponerats för träskyddsmedlet Sinesto B<sup>®</sup> som innehåller 14% (w/w) trimetylkokosammoniumklorid, 26% 2-etylhexanoat-natrium och 5,6% borax, samt på 84 kontroller (21). Epikutant hudtestning enligt rekommendationerna av *International Contact Dermatitis Research Group* med 0,05% 2-etylhexanoat i vatten gav en positiv allergisk reaktion hos två personer (den sista avläsningen efter tre dagar). Den ena av dessa två hade eksem på handen och han var även allergisk för trimetylkokosammoniumklorid. Inga positiva reaktioner för 2-EHS konstaterades bland kontrollerna.

### 11.3. Inverkan på leverns ämnesomsättning

Pennanen et al. (45) fann två till tre gånger högre koncentrationer av arginin och ornitin i urinen bland sågarbetare efter måttlig exponering för 2-EHS (den genomsnittliga 2-EHS-koncentrationen i urin var 1,8 µmol/mmol kreatinin, variationsbredd 0,5 - 5,4; n = 5), jämfört med mycket lindrigt exponerade arbetare (2-EHS-koncentrationen i medeltal 0,03 µmol/mmol kreatinin, variationsbredd 0,01 - 0,04; n = 4) och oexponerade kontroller; skillnaden var statistiskt signifikant. Författarna föreslog att fyndet kunde reflektera störningar i den hepatiska ureacykeln. Denna slutsats var baserad på deras tidigare fynd av att låga doser av 2-EHS (8,6 mg/kg kroppsvikt/dag i dricksvatten för 20 dagar) inhiberade citrullinsyntesen i råttlevermitokondrier (31), och på analoga effekter i råttor och människopatienter som erhållit valpronsyra (2-propylpentansyra) (32).

### 12. Dos-effekt- och dos-respons-förhållanden

Dos-effekt- och, i mindre grad, dos-respons-förhållanden av 2-EHS kan undersökas på basen av experimentell data från djurförsök i vilka toxicitets- och utvecklingstoxicitets-studier har gjorts med upprepade doser i möss, råttor och kaniner. De huvudsakliga observationerna är sammanfattade i Tabellerna 1 och 2. Vanligen görs en bestämning av nivån för ingen observerad skadlig effekt (*no-observed-adverse-effect-level*; NOAEL) och nivån för ingen observerad effekt (*no-observed-effect-level*; NOEL) för varje studie. Detta ansågs inte relevant för denna översikt; NOAEL och NOEL kan slutledas från kolumnen "Lägsta effektsakande dosen" och doserna som användes i de olika studierna.

För andra effekter än de som bestäms i konventionella toxicitetsstudier, t.ex. förändringar i hepatisk biokemi, är de verksamma doserna märkbart lägre än de direkt toxiska. 2-EHS (8,6 mg/kg kroppsvikt/dag i dricksvatten under 20 dagar) inhiberade citrullinsyntesen i råttlevermitokondrier (31). Det finns för närvarande inga bevis för att detta i sig självt skulle orsaka hepatisk (eller annan systemisk) toxicitet.

### 13. Evaluering av hälsorisker hos människa

#### 13.1. Högriskgrupper

Eftersom 2-EHS i ett flertal djurförsök har visat sig vara en potentiell inducerare av reproduktiv och ontogenetisk toxicitet, bör kvinnor i fertil ålder betraktas som en speciellt viktig riskgrupp.

Tabell 1. Samband mellan dos och effekt för 2-etylhexansyra i djurförsök med upprepad dosering; M = hanar, F = honor

Art/stam	Tillförselväg	Lägsta effektsakande dosen (mg/kg kv/dag)	Effekt	Referens
Mus/B6C3F1	I dieten: 2 veckor	1600 (M), 2000 (F)	Lägre terminal kroppsvikt (M) Ökad levervikt (F) Multifokal koagulativ nekros i hepatocyter	15
Råtta/F344	Sondmatning: 2 veckor	1600 800	Letal för de flesta råttor efter endast 2 doser Något lägre ökning av kroppsvikt Letargi och svaghet efter dosering Ökad levervikt Ökad relativ levervikt (F)	6
Råtta/F344	I dieten: 2 veckor	1350 (M), 1400 (F)	Lägre terminal kroppsvikt Multifokal koagulativ nekros i enskilda hepatocyter Ökad levervikt	5
Mus/B6C3F1	I dieten: 90 dagar	890 (M), 1040 (F)	Lägre terminal kroppsvikt (F) Ökad levervikt Hypertrofirade hepatocyter Minskning i S-triglycerider Ökad S-kolesterol	14
Råtta/F344	I dieten: 90 dagar	920 (M), 1070 (F) 300 (M), 360 (F)	Lägre terminal kroppsvikt Ökad levervikt Hypertrofirade hepatocyter Ökade relativa njurvikter (F) Lägre MCH i röda blodkroppar Minskning i S-triglycerider (F) Ökad S-kolesterol (M)	4
Råtta/Wistar	I dricksvatten: 20 dagar	8,6	Induktion av karnitin acetyltransferas i leverns "mitokondrier" Inhibition av citrullinsyntesen i levermitokondrier	31

Tabell 2. Dos-effekt- och dos-respons-samband vid reproduktionstoxikologiska effekter av 2-etylhexansyra

Art/stam	Tillförelseväg	Lägsta effektsakande dosen (mg/kg kv/dag)	Effekt/respons	Referens
Råtta/Wistar	I dricksvattnet, hanar i 10 veckor före parningen, honor 2 veckor före parningen, under parningsstuden, dräktigheten, digivningen	600 300 100	Minskad genomsnittlig kullstorlek Försenad postnatal fysisk utveckling Något försenad befruktning	48
Råtta/Wistar	En sondmätningdos på 12 dräktighetsdagen	900	0,8% av levande ungarna missbildade	49
	En sondmätningdos på 12. dräktighetsdagen + 150 mg/kg kaffein i.p.	900	31,5% av levande ungarna missbildade	
Mus/NMRI	Fyra i.p. injektioner på morgonen av 7 och 8 dräktighetsdagarna	500 (racemisk) 500 (R)-enantiomeren	32% av levande foster med exencefalit 59% av levande foster med exencefalit	19
Råtta/Wistar	I dricksvattnet under 6-19 dräktighetsdagarna	600 300 100	Lägre terminal kroppsvikt hos honorna Lägre genomsnittliga fostervikter Statistiskt signifikant ökning av missbildningar (8,9% vs 2,4% hos kontrollerna) Förekomst av klubbfoot med dos-respons (inga bland kontrollerna)	47
Råtta/Fischer	Via sondmätning i majsolja under 6-15 dräktighetsdagarna	1000 500 250	Sju av åtta honor dog Något toxisk bland honor Lägre fetala kroppsvikter Förminskad fetal benbildning på flera ställen	20
Kanin/New Zealand White*	Via sondmätning i majsolja under 6-18 dräktighetsdagarna	500 125	Sju av åtta honor dog En hona dog och en aborterade	20

Tabell 3. Uppskattning av dagligt upptag av 2-EHS via inhalering och det beräknade interna upptaget på basen av avsöndringen av 2-EHS och konjugater (n=19) (23).

2-EHS i luften (mg/m <sup>3</sup> )	2-EHS konjugater i urin (mg/g kreatinin)	Upptag via lunga <sup>(a)</sup> (mg/dag)	Internt upptag <sup>(b)</sup> (mg/dag)
0,3 (medeltal)	0,37	1,5	1,7
0,7 (max)	1,8	3,5	8,0

(a) Baserar sig på en andningsvolym av 10 m<sup>3</sup> och 50% retention.

(b) Baserar sig på följande antaganden: (1) Den dagliga avsöndringen är lika stor som absorptionen, (2) den dagliga avsöndringen av 2-EHS kan uppskattas genom en enkel korrektion med en 24-timmars kreatininavsöndring på 1,5 g/dag, (3) en tredjedel av absorberad 2-EHS avsöndras i urinen som 2-EHS och konjugater.

### 13.2. Uppskattning av hälsorisk

*Exponering:* 2-EHS har lågt ångtryck och förångas därför inte i någon större grad vid vanlig rumstemperatur på arbetsplatsen; vätskeaerosoler kan emellertid produceras beroende på processen i fråga. Exponering via hudkontakt, med tanke på omfattningen av hudkontaminering och upptag genom huden, har inte karakteriserats hos arbetare. 2-EHS trängde effektivt genom huden hos råttor, men appliceringsområdet var övertäckt för 96 timmar, och epidermis var allvarligt skadat. Upptag via hudkontaminering hos arbetare är antagligen betydligt mindre, men i brist på autentiska mätningar kan upptaget inte närmare uppskattas. Risken av upptag via huden förminskas av det faktum att substansen kan lätt avlägsnas med tvättning.

I en evaluering av arbetares exponering för 2-EHS i sågverk, där individuella prover av inandningsluften och urinprover analyserades för 2-EHS, verkade de inhalede koncentrationerna korrelera med koncentrationerna av 2-EHS i urin. De uppskattade mängderna av upptag via inhalering var även av samma storleksklass som uppskattningen av det dagliga interna upptaget, vilket beräknades från dygnsavsöndringen av 2-EHS i urinen (Tabell 3). Studien pekade emellertid ut en enskild arbetare (lyftkransförare) vars koncentration av 2-EHS i urinen var så hög som 6,9 mg/g kreatinin, vilket motsvarar ett internt upptag på 31 mg/dag. Koncentrationen av 2-EHS under lyftkranen var låg (0,2 mg/m<sup>3</sup> i medeltal). Det verkar följaktligen som om andra rutter av upptag än inhalation skulle vara ansvariga för exponering i detta fall.

Enligt Kröger et al. (23) och Pennanen et al. (45) kan exponering bland arbetare som sysslat med träskydd i sågverk, och under detta använt en lösning på 1,3% 2-EHS, grovt karakteriseras på basen av genomsnittlig kroppsvikt (70 kg) enligt följande:

Dagligt upptag:	medeltal	24 µg/kg kroppsvikt/dag
	maximum	114 µg/kg kroppsvikt/dag
	undantagsvis	442 µg/kg kroppsvikt/dag



*Effekter:* Djurförsök har visat att 2-EHS är huvudsakligen toxiskt för levern och i samband med fortplantningen. Ökade levervikter och hypertrofi i hepatocyter, tydligen orsakade av störningar i lipidmetabolismen och proliferering av peroxisomer, konstaterades vid dagliga doser av 200 - 300 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag. Svåra hepatocellulära skador (multifokal koagulativ nekros) upptäcktes vid en betydligt högre (1400 mg/kg kroppsvikt/dag) dosnivå. Den tidigast förekommande effekten i en 90-dagars studie, antagligen förknippad med störningar i den hepatiska metabolismen, var en ökning i serumkolesterol hos hanrättor vid 60 mg/kg kroppsvikt/dag (4).

Ökning av kamitinacetyltransferas i råttlevern (ett tecken på proliferering av peroxisomer, även om författarna analyserade aktiviteten i mitokondriefraktion) observerades vid en så pass låg nivå som 8,6 mg 2-EHS/kg kroppsvikt/dag (3 mg per råtta per dag) (31). Dessutom inhiberade 2-EHS citrullinsyntesen (syntesen av urea) i levermitokondrier vid den lägsta använda dosnivån i samma studie. Valpronsyra har en likadan metabolisk effekt i mitokondrier, resulterande i arteriell hyperammonemi efter intraperitoneal injektion av 50 mg/kg kroppsvikt av djur matade med aminosyror (32). (Inga motsvarande öknings i blodets ammoniumhalter observerades när rättor gavs 150 mg 2-EHS/kg kroppsvikt med en intraperitoneal injektion, enligt en opublicerad rapport till Arbetskyddsfonden i Finland).

I en utvecklingstoxikologisk studie med rättor exponerade för 300 mg 2-EHS per kg kroppsvikt/dag konstaterades en signifikant ökning av klubbfoot, och alla missbildningar kombinerade, medan 100 mg/kg kroppsvikt/dag orsakade en lägre (icke-signifikant) ökning av klubbfoot, skolios, lordos och slapphet i benen (inga av dessa förekom bland kontrollerna) och variationer i skelettet. Antalet foster med missbildningar i skelettet och visceral missbildningar ökade på ett dosbetingat sätt ( $p < 0,001$ ) med 4,9, 8,9 och 15,3% per kull i grupperna exponerade för 100, 300 och 600 mg/kg kroppsvikt/dag, jämfört med 2,4% i kontrollgruppen (47). Det verkade följaktligen som om utvecklingstoxikologiska effekter skulle förekomma (i en känslig råtstam) till och med under 100 mg/kg kroppsvikt/dag. I andra studier med rättor och möss har större doser av 2-EHS använts (ofta med specifika protokoll under känsliga utvecklingsperioder) för att inducera teratogenicitet eller fetalt toxicitet. Teratogenicitet upptäcktes inte i en studie med kaniner som, emellertid, nog visade att honorna är exceptionellt känsliga för 2-EHS toxiska effekter.

Förutom utvecklingstoxikologiska effekter, kan 2-EHS även orsaka störningar i fortplantningsprocessen med hjälp av andra mekanismer, såsom inhibition av implantationen. Detta visades i en studie med 600 mg/kg kroppsvikt/dag; en liten försening i tidpunkten för befruktningen observerades till och med vid 100 mg/kg kroppsvikt/dag (48).

Konsekvenserna av hepatisk peroxisom proliferering, speciellt med tanke på utveckling av levertumörer, vid behandling med 2-EHS kan också diskuteras eftersom, även om carcinogenicitetsstudier med 2-EHS saknas, (1) 2-EHS är den proximala proliferatorn härstammande från DEHA, och (2) DEHA är en lever-

carcinogen hos B6C3F1-möss (42). Aspekterna av hepatisk peroxisomproliferering hos gnagare och cancerrisken hos människa har diskuterats i nyligen publicerade omfattande översikter (3, 34). Även om frågan ännu är omtvistad, antyder nuvarande data att den hepatocarcinogena risken hos människa vid låga exponeringsnivåer av peroxisomprolifererare inte är signifikant.

*Värdering:* Utvecklingstoxikologiska effekter av 2-EHS upptäcktes i de mest känsliga arterna/stammarna vid 100 mg/kg kroppsvikt/dag, och svaga indikationer på störningar i fortplantningen kunde konstateras på samma dosnivå. NOEL är inte känt. Begränsade mätningar av yrkesrelaterad exponering för 2-EHS antyder att de dagligen absorberade doserna är antagligen ungefär 100 gånger lägre än den effektiva dosen hos djur. Även om utvecklingstoxikologiska effekter är mycket allvarliga till sin natur, tror man att (1) den teratogena effekten orsakad av enkla organiska syror har ett tröskelvärde, och (2) enkla höga doser under den känsligaste perioden är mera skadliga än långa exponeringstider med låga doser (8, 41). Förhindrande av hög exponering i samband med olyckor borde därför prioriteras.

Med avseende på förändringar i leverns (och möjligen njurarnas) metabolism, kan olika slag av inverkan orsakas av olika doser av 2-EHS. Låga doser, lägre än 10 mg/kg kroppsvikt/dag, var förknippade med enzymatiska förändringar vilka förutspådde peroxisom proliferering och störningar i metabolismen av ammonium. De starkare exponerade sågarbetarna, vars uppskattade doser av 2-EHS var ca. 100 µg/kg kroppsvikt/dag, avsånde högre halter av arginin och ornitin i urinen möjligen som en kompenserande effekt till förändringar i ureacykeln. Frågan om dessa effekter i grund och botten är adaptiva, eller endast smärre förändringar i den normala biokemiska balansen som en frisk människa lätt kan kompensera för, kommer antagligen att besvaras i framtida studier. Det finns tillsvidare inga bevis på att dessa effekter skulle vara indikatorer för organisk eller systemisk toxicitet.

Positiva allergiska reaktioner till 2-EHS i epikutan testning rapporterades hos två sågarbetare vilka exponerats för Sinesto B<sup>®</sup> år 1989. Trots långvarig användning av träskyddsmedlet har inga nya rapporter av positiva reaktioner eller fall av allergisk kontaktdermatit dykt upp. Ren 2-EHS och koncentrerade lösningar av denna väntas vara måttligt till starkt irriterande för slemhinnor och ögon och mindre irriterande för huden.

### 13.3. Vetenskaplig basis för arbetsrelaterat exponeringsgränsvärde

Utvecklingstoxikologiska verkningar är de mest allvarliga effekterna av 2-EHS i kvinnliga arbetare. För manliga arbetare är förändringar i lipid- och ammoniummetabolismen (i levern) de mest kritiska effekterna.

På grund av de positiva bevisen för 2-EHS hudgenomträngande förmåga i råtta (visserligen överdrivna av de konstgjorda förhållandena), bör en varnande anmärkning om potentiell hudabsorption ges.

## 14. Forskningsbehov

Data om exponering för 2-EHS samt toxikokinetiken och biologiska effekter hos människa är mycket begränsat. Möjligheten för perkutan exponering borde i synnerhet undersökas, och vidare studier behövs för att verifiera och utvidga de preliminära observationerna angående metaboliska effekter i levern (och njurarna). Toxikokinetiska studier med 2-EHS borde tillämpas för metodutveckling inom biologisk monitorering, och vidare toxikodynamiska studier av den endogena metabolismen behövs för att undersöka möjligheten för monitorering av biologiska effekter.

## 15. Sammanfattning

Riihimäki V. 2-Etylhexansyra. Nordiska expertgruppen för kriteriedokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:87-116.

Det finns endast begränsat med data om toxiciteten av 2-etylhexansyra (2-EHS) hos människa. Studier med försöksdjur har visat att 2-EHS orsakar skadliga effekter främst i levern och i samband med fortplantningen. Olika slag av dosrelaterade effekter i levern, från metaboliska störningar till cytotoxicitet, har observerats vid upprepad dosering i råtta och mus. Halter på <10 mg/kg kroppsvikt/dag var förknippade med enzymatiska förändringar i cellerna, vilket förbådar peroxisomproliferering och störningar i metabolismen av ammonium i råtta. Utvecklingstoxikologiska effekter av 2-EHS upptäcktes hos de mest känsliga arterna/stammarna vid 100 mg/kg kroppsvikt/dag, tillsammans med indikationer på reproduktiva störningar vid samma dosnivå. Nivån för ingen observerad effekt (NOEL) är inte känd.

Den kritiska effekten vid exponering för 2-EHS bland kvinnliga arbetare gäller utvecklingstoxikologiska effekter. För manliga arbetare är störningar i metabolismen av lipider och ammonium (i levern) de kritiska effekterna.

En engelsk version finns publicerad i *Arbete och Hälsa* 1994;31:1.31.

**Nyckelord:** Ammoniummetabolism, arbetshygieniska gränsvärden, 2-etylhexansyra, levertoxicitet, lipidmetabolism, peroxisomproliferering, reproduktionstoxikologi, utvecklingstoxikologiska effekter.

## 16. References

1. Albro P W, Lavenhar S R. Metabolism of di(2-ethylhexyl) phthalate. *Drug Metab Rev* 1989;21:13-34.
2. Albro PW. The metabolism of 2-ethylhexanol in rats. *Xenobiotica* 1975;5:625-636.
3. Bentley P, Calder I, Elcombe C, Grasso P, Stringer D, Wiegand H-J. Hepatic proliferation in rodents and its significance for humans. *Fd Chem Toxic* 1993;31:857-907.
4. Bernard LG. *90-Day oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1988. (Unpublished report TX-87-207).
5. Bernard LG. *Two-week oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-129).
6. Bernard LG. *Two-week oral (gavage) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-90).
7. CHEMINFO. *2-Ethylhexanoic acid*. Canadian Centre for Occupational Health and Safety, 1989, revised 1993.
8. Collins MD, Scott WJ, Miller SJ, Evans DA, Nau H. Murine teratology and pharmacokinetics of the enantiomers of sodium 2-ethylhexanoate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1992;112:257-265.
9. Cornu MC, Lhuguenot JC, Brady AM, Moore R, Elcombe CR. Identification of the proximate peroxisome proliferator(s) derived from di(2-ethylhexyl)adipate and species differences in response. *Biochem Pharmacol* 1992;43:2129-2134.
10. Cotariu D, Zaidman JL. Valproic acid and the liver. *Clin Chem* 1988;34:890-897.
11. DiCarlo FJ. Structure-activity relationships (SAR) and structure-metabolism relationships (SMR) affecting the teratogenicity of carboxylic acids. *Drug Metab Rev* 1990;22:411-449.
12. English JC, Deisinger PJ, Perry LG, Guest D. *Pharmacokinetic studies with 2-ethylhexanoic acid in the female Fischer 344 rat*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-173).
13. 2-Ethylhexanoic acid. Chemical Safety Data Sheet. Rochester Eastman Kodak Company.
14. Gordon DR. *90-Day oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the mouse*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1988. (Unpublished report TX-88-3).
15. Gordon DR. *Two-week oral (dietary administration) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the mouse*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-125).
16. Gordon DR. *Two-week oral (gavage) toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the mouse*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-75).
17. Gorski T, Goehl TJ, Jameson CW, Collins BJ, Bursey J, Moseman R. Gas chromatographic determination of 2-ethylhexanol and 2-ethylhexanoic acid as derivatives suitable for electron-capture and nitrogen-phosphorus detection after single renetion with heptafluorobutylimidazole. *J Chromatogr* 1990;509:383-389.
18. Guest D, Katz GV, Astill BD. Aliphatic carboxylic acids (2-Ethylhexanoic acid). In: Clayton GD, Clayton FE, eds. *Patty's Industrial Hygiene and Toxicology*, 3rd ed. New York:John Wiley & Sons, 1982: 4925-4926.

19. Hauck R-S, Wegner C, Blumtritt P, Fuhrhop J-H, Nau H. Asymmetric synthesis and teratogenic activity of (*R*)- and (*S*)-2-ethylhexanoic acid, a metabolite of the plasticizer di-(2-ethylhexyl)phthalate. *Life Sci* 1990;46:513-518.
20. Hendrickx AG, Peterson PE, Tyl RW et al. Assessment of the developmental toxicity of 2-ethylhexanoic acid in rats and rabbits. *Fundam Appl Toxicol* 1993;20:199-209.
21. Jäppinen P, Eskelinen A, Jokinen A. Sinistymänestoaineen vaikutus terveyteen (The effect of an anti-sapstain chemical on health). *Suom lääk l* 1989;44:3033-3035. (in Finnish)
22. Keith Y, Canning PM, Foster J, Lhuguenot JC, Elcombe CR. Peroxisome proliferation due to di-(2-ethylhexyl) adipate, 2-ethyl hexanol and 2-ethyl hexanoic acid. *Arch Toxicol* 1992;66:321-326.
23. Kröger S, Liesivuori J, Manninen A. Evaluation of workers' exposure to 2-ethylhexanoic acid (2-EHA) in Finnish sawmills. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;62:213-216.
24. Kröger S. Gas chromatographic determination of 2-ethylhexanoic acid in urine as its pentafluorobenzyl ester. *Analyst* 1989;114:1647-1648.
25. Lock EA, Mitchell AM, Elcombe CR. Biochemical mechanisms of induction of hepatic peroxisome proliferation. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1989;29:145-163.
26. Loftus NJ, Laird WJD, Steel GT, Wilks MF, Woollen, BH. The pharmacokinetics of di-(2-ethylhexyl)adipate in human volunteers following oral administration. *Fd Chem Toxicol* 1993;31:609-614.
27. Loftus NJ, Woollen BH, Steel DT, Wilks MF, Castle L. An assessment of the dietary uptake of di-2-(ethylhexyl)adipate (DEHA) in a limited population study. *Fd Chem Toxicol* 1994;32:1-5.
28. Lundgren B, Meijer J, DePierre JW. Characterization of the induction of cytosolic and microsomal epoxide hydrolases by 2-ethylhexanoic acid in mouse liver. *Drug Metab Dispos* 1987;15:114-121.
29. Lundgren B, Meijer J, DePierre JW. Examination of the structural requirements for proliferation of peroxisomes and mitochondria in mouse liver by hypolipidemic agents, with special emphasis on structural analogues of 2-ethylhexanoic acid. *Europ J Biochem* 1987;163:423-431.
30. Macherey AC, Grégoire S, Tainturier G, Lhuguenot JC. Enantioselectivity in the induction of peroxisome proliferation by 2-ethylhexanoic acid. *Chirality* 1992;4:478-483.
31. Manninen A, Kröger S, Liesivuori J, Savolainen H. 2-Ethylhexanoic acid inhibits urea synthesis and stimulates carnitine acetyltransferase activity in rat liver mitochondria. *Arch Toxicol* 1989;63:160-161.
32. Marini AM, Zaret BS, Beckner RR. Hepatic and renal contributions to valproic acid-induced hyperammonemia. *Neurology* 1988;38:365-371.
33. McLaughlin RS. *Am J Ophthalmol* 1946;29:1355.
34. Moody DE, Reddy JK, Lake BG, Popp JA, Reese DH. Peroxisome proliferation and nongenotoxic carcinogenesis: Commentary on a symposium. *Fundam Appl Toxicol* 1991;16:233-248.
35. Moody DE, Reddy JK. Hepatic peroxisome (microbody) proliferation in rats fed plasticizers and related compounds. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978;45:497-504.
36. Moody DE, Reddy JK. Serum triglyceride and cholesterol contents in male rats receiving diets containing plasticizers and analogues of the ester 2-ethylhexanol. *Toxicol Lett* 1982;10:379-383.
37. Narotsky MG, Francis EZ, Kavlock RJ. Continued evaluation of structure-activity relationships in the developmental effects of aliphatic acids in rats. *Teratology* 1991;43:433.
38. Narotsky MG, Mervin SJ, Francis EZ, Kavlock RJ. Structure-activity relationships for the developmental effects of aliphatic acids in rats. *Teratology* 1989;39:470.
39. Nau H, Hauck R-S, Ehlers K. Valproic acid-induced neural tube defects in mouse and human: Aspects of chirality, alternative drug development, pharmacokinetics and possible mechanisms. *Pharmacol Toxicol* 1991;69:310-321.
40. Nau H, Scott WJ Jr. Weak acids may act as teratogens by accumulating in the basic milieu of the early mammalian embryos. *Nature* 1986;323:276-278.
41. Nau H. Species differences in pharmacokinetics and drug teratogenesis. *Environ Health Perspect* 1986;70:113-129.
42. NTP. *NTP technical report on the carcinogenesis bioassay of di(2-ethylhexyl)adipate in F344 rats and B63CF<sub>1</sub> mice (feed study)*. National Toxicology Program, 1982. (NTP Technical Report Series No. 212).
43. Pennanen S. *Assessment of exposure to and toxicity of 2-ethylhexanoic acid with special reference to biological monitoring and reproductive and developmental effects*. Doctoral dissertation. Kuopio: University of Kuopio, 1994: 1-62. (Publications of the National Public Health Institute A4/19949).
44. Pennanen S, Auriola S, Manninen A, Komulainen H. Identification of the main metabolites of 2-ethylhexanoic acid in rat urine using gas chromatography - mass spectrometry. *J Chromatogr* 1991;568:125.
45. Pennanen S, Manninen A, Savolainen H. Urinary arginine and ornithine in occupational exposure to 2-ethylhexanoic acid. *Arch Toxicol* 1990;64:426-427.
46. Pennanen S, Manninen A. Distribution of 2-ethylhexanoic acid in mice and rats after an intraperitoneal injection. *Pharmacol Toxicol* 1991;68:57-59.
47. Pennanen S, Tuovinen K, Huuskonen H, Komulainen H. The developmental toxicity of 2-ethylhexanoic acid in Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 1992;19:505-511.
48. Pennanen S, Tuovinen K, Huuskonen H, Kosma V-M, Komulainen H. Effects of 2-ethylhexanoic acid on reproduction and postnatal development in Wistar rats. *Fundam Appl Toxicol* 1993;21:204-212.
49. Ritter EJ, Scott WJ, Randall JL, Ritter JM. Teratogenicity of di-(2-ethylhexyl)phthalate, 2-ethylhexanol, 2-ethylhexanoic acid, and valproic acid, and potentiation by caffeine. *Teratology* 1987;35:41-46.
50. Robert E. Valproic acid as a human teratogen. *Cong Anom* 1988;28, Suppl:S71-S80.
51. Sipi P, Järventaus H, Norppa H. Sister-chromatid exchanges induced by vinyl esters and respective carboxylic acids in cultured human lymphocytes. *Mutation Res* 1992;279:75-82.
52. Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS, Pozzani UC. Range-finding toxicity data: List V. *Arch Ind Hyg* 1954;10:61-68.
53. Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS. Range-finding toxicity data: List IV. *Arch Ind Hyg* 1951;4:119-122.
54. Smyth HF Jr, Carpenter CP. The place of the range finding test in the industrial toxicology laboratory. *J Ind Hyg Toxicol* 1944;26:269-273.
55. Srivastava M, Collins MD, Scott WJ Jr, Wittfoht W, Nau H. Transplacental distribution of weak acids in mice: Accumulation in compartments of high pH. *Teratology* 1991;43:325-329.
56. Takahashi T, Tanaka A, Yamaha T. Elimination distribution and metabolism of di(2-ethylhexyl)adipate (DEHA) in rats. *Toxicology* 1981;22:223-233.
57. Topping DC. *Acute toxicity study of 2-ethylhexanoic acid in the rat*. Health and Environment Laboratories, Rochester: Eastman Kodak Company, 1987. (Unpublished report TX-87-64).
58. United States General Accounting Office, Oct. 1991. (PEMD-92-3).
59. Veitch K, Van Hoof F. In vitro effects of eight-carbon fatty acids on oxidations in rat liver mitochondria. *Biochem Pharmacol* 1990;40:2153-2159.
60. Warren JR, Lalwani ND, Reddy JK. Phthalate esters as peroxisome proliferator carcinogens. *Environ Health Perspect* 1982;45:35-40.
61. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor, T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity test: IV. Results from the testing of 300 chemicals. *Environ Mut* 1988;11(Suppl 12):1-158.

## Appendix

### Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av 2-etylhexansyra i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	-	-		1988	1
Finland	-	-		1993	2
Island	-	-		1989	3
Nederländerna	-	-		1994	4
Norge	-	-		1989	5
Serige	-	-		1993	6
USA (ACGIH)	-	-		1994-95	7
(NIOSH)	-	-		1990-91	8

## Referenser

1. *Gränsvärder for stoffer og materialer*. København: Arbejdstilsynet, 1988 (Anvisning Nr.3.1.0.2).
2. *HTP-värden 1993*. Tammerfors: Arbetsministeriet, 1993 (Säkerhetsmeddelande 25). ISBN 951-47-8343-3.
3. *Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun*. Skrá yfir mengunarmörk. Reykjavik: Vinnuefurlit Ríkisins, 1989.
4. *De Nationale MAC-lijst 1994*. Den Haag: 1994 (Arbeidsinspectie P 145). ISBN 90-399-0600-9.
5. *Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere*. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Oslo: Direktoratet for arbeidstilsynet, 1989 (Bestillingsnr. 361).
6. *Hygieniska gränsvärden..* Stockholm: Arbetarskyddsstyrelsen, 1993 (AFS 1993:9). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. *Rules and Regulations. Federal Register Vol.54*. Washington: US Government, 1990:2329-2984.

# 1,3-Butadien

Marja Sorsa  
Kimmo Peltonen

Avdeleningen för arbetshygien och toxikologi  
Institutet för arbetshygien  
Topeliusgatan 41 a A  
FIN-00250 Helsingfors

## Innehåll

1. Introduktion
2. Identifiering av substansen
3. Fysikaliska och kemiska egenskaper
4. Förekomst, produktion och användning
  - 4.1. Förekomsten av BD
  - 4.2. Produktionen av BD
  - 4.3. Användningen av BD
5. Arbetsrelaterad exponering
  - 5.1. Produktion av butadienmonomer
  - 5.2. Produktion av polymerer och derivat
  - 5.3. Industri som tillverkar gummi produkter
6. Provtagning och analys av substansen på arbetsplatsen
  - 6.1. Provtagning inomhus
  - 6.2. Monitorering av stadsluft
7. Tokikokinetik
  - 7.1. Upptag och distribution
  - 7.2. Biotransformation
  - 7.3. Eliminering
  - 7.4. Relevanta kinetiska interaktioner
8. Biologiska monitoreringsmetoder
9. Effekter hos djur och *in vitro*-studier
  - 9.1. Irritation och sensibilisering
  - 9.2. Akut toxicitet
  - 9.3. Toxiska korttidseffekter
  - 9.4. Toxiska långtidseffekter/carcinogenicitet
  - 9.5. Genotoxicitet och mutagenicitet
    - 9.5.1. *In vitro*-studier av BD
    - 9.5.2. *In vivo*-studier av BD
  - 9.6. Reproduktions- och utvecklingstoxikologi
  - 9.7. Immunotoxicitet
10. Studier hos människa
  - 10.1. Akuta effekter
  - 10.2. Effekter av upprepad exponering
  - 10.3. Genotoxiska effekter
  - 10.4. Carcinogena effekter
11. Dos-effekt och dos-respons-förhållanden
  - 11.1. Genotoxikologiska korttidseffekter
  - 11.2. Långvarig exponering

12. Tidigare evalueringar av internationella organisationer
13. Evaluering av hälsorisker hos människa
  - 13.1. Uppskattning av hälsorisk
  - 13.2. Rekommenderad basis för arbetsrelaterat exponeringsgränsvärde
14. Forskningsbehov
15. Sammanfattning
16. Referenser
- Appendix

## 1. Introduktion

1,3-Butadien (BD) är en viktig industriell kemikalie med en uppskattad årlig världsomfattande produktion som överstiger 5 miljoner ton. BD används främst som monomer vid produktion av en bred skala av polymerer och kopolymerer, varvid det mest betydande enskilda användningsområdet är produktionen av styren-butadiengummi för bilringar och besläktade produkter.

BD förekommer även som kontaminant i omgivningen. Det har uppskattats att största delen av BDmissionerna härstammar från trafikutsläpp; även om läckage och utsläpp från produktionsanläggningar kan ha betydelse lokalt. Förbränning av organiskt material producerar alltid emissioner som innehåller små mängder BD. Exponering för små mängder av BD är därför karakteristiskt för hela människosläktet.

BD har hög prioritet vid riskuppskattning - inte endast på grund av den allmänt utbredda exponeringen - men också på basen av dess kända toxikologiska egenskaper. BD orsakar cancer i flera olika organ hos råttor och möss. Möss är speciellt känsliga för den carcinogena effekten av BD. Det är emellertid inte klart om BD är carcinogent hos människa vid de låga exponeringsnivåerna som har konstaterats, även om epidemiologiska studier har avslöjat en stark association mellan arbetsrelaterad exponering för BD och ökad risk för hematopoetiska cancerformer.

Denna rapport sammanfattar den mest relevanta datan om toxicologi och exponering för denna viktiga förening och strävar till att ge ett vetenskapligt underlag för sättande av standarder inom de nordiska länderna.

## 2. Identifiering av substansen

Kemiskt namn:	1,3-butadien
CAS:	1,3-butadien
IUPAC:	1,3-butadien
Synonymer:	bivinyll, butadien, buta-1,3-dien, transbutadien, divinyl, erytren, vinyletylen
CAS nummer:	106-99-0
Kemisk grupp:	omättade kolväten
Empirisk formel:	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub>
Strukturformel:	CH <sub>2</sub> =CH-CH=CH <sub>2</sub>
Molekylvikt:	54,09

## 3. Fysikaliska och kemiska egenskaper

1,3-Butadien (BD) är en färglös, icke-korrosiv gas med bensinliknande lukt. Den är mycket reaktiv och kan forma 4-vinylcyklohexen-dimerer. BD polymeriseras lätt, speciellt vid kontakt med syre. BD kan producera akrolein och peroxider i luften (99). Övriga fysikalisk-kemisk data sammanfattas nedan.

Kokpunkt:	-4,4 °C (115)
Smältpunkt:	-108,9 °C (115)
Täthet:	0,6211 g/ml vid 20 °C/vätska (113)
Tröskelvärde för lukt:	1,0 - 3,5 mg/m <sup>3</sup> (6)
Flyktighet:	ångtryck, 2,477 hPa Hg vid 20 °C, relativt ångtryck, 1,87 (113)
Löslighet:	735 mg/l H <sub>2</sub> O vid 20 °C, löslig i etanol, dietyleter och organiska lösningsmedel (113, 99, 19)
Flampunkt:	-76 °C (99)
Spektroskopi:	UV, NMR, MS har rapporterats (53)
Omräkningsfaktorer:	1 mg/m <sup>3</sup> = 0,455 ppm (vid 20 °C; 1,013 hPa) 1 ppm = 2,249 mg/m <sup>3</sup>

## 4. Förekomst, produktion och användning

### 4.1. Förekomsten av BD

BD finns att få kommersiellt som flytande gas under tryck i olika renhetsgrader, inkluderande en speciellt ren gas, gaser för forskningsändamål, för teknisk-kommersiella användningsområden, samt för användning inom gummi-industrin. Renhetsgraderna för analytiska ändamål, polymer- och gummitillverkning varierar mellan 99,0 och 99,5%; 1,2-butadien, acetaldehyd, cetylen, propadien, 4-vinylcyklohexen, peroxider, svavel och C<sub>5</sub>-kolväten är de mest typiska föroreningarna (5, 67). Polymeriseringen av BD förhindras genom tillsättning av hydrokinon, di-n-butylamin, tert-butylkatekol, alifatiska merkaptaner eller o-dihydroxibensen (19).

BD förekommer inte normalt i naturen, men den har påträffats i samband med förbränning av organiskt material, husbränder etc. (53).

Tabell 1. Utsläpp av 1,3-Butadien från produktionsanläggningar i USA mellan åren 1984-86<sup>1</sup>

Aktivitet	Antal anläggningar	Totala antalet utsläpp (ton/år)		Episodiska utsläpp (1986)		
		Medeltal	Variationsbredd	Medlehasighet (kg/min)	Högsta medelhastighet (kg/min)	Genomsnittlig varaktighet (min)
Produktion av 1,3-butadien	10 <sup>a</sup>	135.9	6.8-752	355	1600 <sup>b</sup> 1100 <sup>c</sup>	2170
Produktion av polybutadien	7	57.4	22.1-176	24	81.4 <sup>e</sup> 24.0 <sup>d</sup>	7.5
Produktion av Kloropren/neopren	2	10, 32.2		2.9	181 <sup>b</sup>	38.8
Styrene-butadiene styren-butadiengummi	17	49.3	0.9-145	3.9	9.9 <sup>e</sup> 9.2 <sup>c</sup>	49.6
Användning av 1,3-butadien	11 <sup>f</sup>	63.5	2.2-350	IR	IR	IR

<sup>1</sup>Citerat av IARC (53); IR, värden har inte rapporterats; <sup>a</sup>Episodiska utsläpp i 8 anläggningar; <sup>b</sup>Tryckuttömning; <sup>c</sup>Oavsiktliga vätskeutsläpp; <sup>d</sup>Öppningar i apparaturen; <sup>e</sup>Oavsiktliga gasutsläpp; <sup>f</sup>Episodiska utsläpp i fem anläggningar

Tabell 2. Trender i produktionen av 1,3-butadien i olika länder (tusen ton)<sup>1</sup>.

Land	1980	1981	1982	1983	1984	1985	1986	1987	1988	1989	1990
Kanada	IT	126	118	133	127	132	146	167	182	175	192
Frankrike	259	266	258	281	303	288	291	307	335	329	281
Tyskland <sup>a</sup>	IT	IT	579	717	754	840	683	701	761	717	771
Italien	183	166	159	195	181	IT	IT	IT	IT	IT	IT
Japan	574	518	522	556	627	639	656	707	780	827	827
Mexiko	17	12	15	19	20	18	18	21	12	IT	IT
Storbritannien	192	207	228	237	259	297	192	231	239	226	195
USA <sup>b</sup>	1270	1356	869	1068	1113	1062	1156	1329	1437	1417	1435
Finland	~17	~17	~17	~17	~17	~17	~17	~17	~17	~17	~17

<sup>1</sup>Citerat av IARC (53); IT, Icke tillgängligt; <sup>a</sup>Värden före 1990 gäller endast Förbundsrepubliken Tyskland; <sup>b</sup>Gummikvalitet



1989 estimerades att den totala emissionen av BD i luften i USA var ca 2512 ton från 158 olika ställen: de totala landutsläppen var ca 6,7 ton (53). Data om årliga emissioner av BD från produktionsanläggningar i USA som producerade BD, polybutadien, neopren/kloropren och styren-butadiengummi, samt från olika anläggningar där BD användes, samlades in 1984 av US Environmental Protection Agency (EPA) (Tabell 1).

Det finns inte mycket data om nivåer av BD i omgivningsluften. Koncentrationer i stadsluften varierar i allmänhet mellan 2 och 22  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (88, 27). I USA var de kombinerade värdena av BD och 2-butene mellan 0,01 och 0,05  $\text{mg}/\text{m}^3$  år 1978 i Tulsa, Oklahoma (10), och 0-0,042  $\text{mg}/\text{m}^3$  åren 1973-74 i Houston, Texas (102). Nivåerna av BD i olika städer i Texas var 0-0,028  $\text{mg}/\text{m}^3$ . Stadsluften i Los Angeles och Riverside, California, hade nivåer av BD upp till 0,02  $\text{mg}/\text{m}^3$  och BD upptäcktes i 32% av 24-timmarsproverna av luften i 19 städer i USA åren 1987-88; den genomsnittliga koncentrationen var 1,4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (53).

BD har påträffats i dricksvattnet i USA (61). Det totala utsläppet av BD i bruksvattnet uppskattades till ca 65 ton år 1989 (53).

Nivåer på ca 0,2  $\mu\text{g}$  BD/kg har mätts i mjuka, sk. "lättbredda", margariner från matvaruhandeln. Margarinerens plastbehållare innehöll 5-310  $\mu\text{g}$  BD/kg (105).

US EPA uppskattade år 1990 att mängden av BD i utsläpp från biltrafiken var ca 6  $\text{mg}/\text{km}$  och att den utgör ca 0,35% av den totala mängden kolväten i avgasutsläpp. BD har upptäckts i rök från husbränder i koncentrationer av 33,74  $\text{mg}/\text{m}^3$  (15 ppm) (13). I en kvantitativ undersökning av carcinogena föreningar i utomhusluften, estimerade US EPA att BD är den viktigaste enskilda föreningen, hack i häl på produkter från ofullständig förbränning, som orsakare av cancer i nationell skala (111).

Mängden BD i sidostrommen av cigarettök är 200-360  $\mu\text{g}$  och 75  $\mu\text{g}$  i huvudströmmen av rök per cigarett. Rökiga lägenheter innehåller i allmänhet 2-20  $\mu\text{g}$  BD/ $\text{m}^3$  (75, 18).

#### 4.2. Produktionen av BD

BD producerades för första gången år 1886 genom pyrolys av kolväten från bensen, och dess kommersiella produktion startade på 1930-talet (58). BD har producerats kommersiellt genom tre olika processer; katalytisk dehydrogenering av n-butan och n-buten (Houndry-processen), oxidativ dehydrogenering av n-buten (Oxo-D- eller O-X-D-processen) och återvinning ur strömmen av C4-delprodukter från ångkrackningsprocessen vid produktionen av etylen. Alla dessa tre processer innefattar produktion av BD ur en ström av C4-kolväten; extraktion med lösningsmedel och destillering används i dessa processer för vidare koncentrerad av BD. En övergång till billigare, tyngre råvaror för produktion av etylen, med en samtidig ökning i volym av delprodukter innehållande BD har skett under den senaste tiden (65). Delproduktprocessen för etylen står för ca 95% av produktionen i USA och 85% av den världsomfattande produktionen (86).

Produktionen av BD sker i två steg: 1) produktionen av en C4-delprodukt under framställning av etylen, och 2) utvinning av BD från delprodukten. Det första

steget består av krackning av ett kolväte såsom nafta för att producera etylen - den primära produkten - och ett delflöde av C4-kolväten. Mängden BD i delprodukten beror på råvaran i fråga och styrkan av krackningsprocessen; tyngre råvara och starkare krackning medför större produktion av BD. Mängden BD i flödet av C4-delprodukter är 20-70%, och C4-inmatningsflöden blandas vanligen med ett flöde av 40-50% BD för processering. I extraktionsanläggningarna används lösningsmedel såsom dimetylformamid, acetonitril, furfural, dimetylacetamid och metylpyrrolidon för att selektivt ändra på flyktigheten av komponenterna vid fraktioneringsdestilleringen, och för att öka på renhetsgraden av BD-monomeren (65).

Den världsomfattande konsumtionen av BD var ca 5,5 miljoner ton år 1987, av vilken 1,5 miljoner ton användes i USA. Eftersom förbrukningen av BD i USA översteg betydligt produktionen i landet, importerades ca 227 000 ton BD-monomer år 1987 (86). En mera detaljerad beskrivning av produktionen av BD i flera olika länder 1980-90 presenteras i Tabell 2.

#### 4.3. Användningen av BD

BD används huvudsakligen som monomer vid tillverkning av olika slag av polymerer och copolymerer. Det största enskilda användningsområdet för BD är produktion av styren-BD-gummi genom polymerisering av styren och BD. Nästan 80% av den producerade styren-BD:n används för produktion av bilringar. Nitrilgummi produceras genom kopolymerisering av BD och akrylonitril. Denna polymer används i packnings- och tätningsmaterial, slangar, latex, tejp och skoplugg. Akrylonitril-butadien-styrenhartser är terpolymerer av polybutadien fästa vid en styren-akrylonitrilkopolymer. Dessa används i bildelar, rör, kontorsapparater och telefoner. Latex av styren-BD är suspensioner av partiklar eller små kulor av elastomeren i vatten och används för ytbehandling av papper och i målfärger samt som stödämne i mattor (53). BD används som kemisk mellanprodukt vid produktion av en rad viktiga kemikalier. Neopren tillverkas genom klorering av BD och behandling av den bildade kloroprenen med natriumhydroxid. Ungefär 70% av den producerade neoprenen används till bildelar och industriella produkter av gummi. Adiponitril produceras genom klorering av BD och cyanering av produkten till 1,4-dicyanobuten, vilket därpå reduceras till adiponitril. Adiponitrilen omvandlas till hexametylendiamin för produktion av Nylon 66. När BD reagerar med etylen fås 1,4-hexadien, en monomer för tillverkning av etylen-propylen-polymerer. Sulfolan, en dehydrogenerad reaktionsprodukt av svaveldioxid och BD, är ett användbart lösningsmedel för extrahering. 1,5,9-Cyklodekatrien produceras genom trimerisering av BD och används för tillverkning av olika nylonfibrer och hartser. Andra områden för användning av den opolymeriserade råvaran inbegriper bl.a. tillverkningen av fungicider för jordbruk och vissa färgmedel (53).

I USA 1990 användes 30% av all BD till produktion av styren-butadiengummi, 20% till polybutadiengummi, 15% till adiponitril/hexametylamin, 10% till styren-butadienlatex, 5% till akrylonitril-butadien-styrenhartser, 4% till epoxider, 3% till nitrilgummi, och 8% till andra polymerer (8).

## 5. Arbetsrelaterad exponering

Uppskattningsvis 52 000 arbetare var potentiellt exponerade för BD i USA under åren 1981-83. Potentiell exponering för BD kan förekomma i samband med raffinering av bensin och liknande processer, produktionen av renade BD-monomerer, produktionen av olika BD-baserade gummi- och plastpolymerer och vid tillverkning av gummi- och plastprodukter (se Tabell 3). Även om bensin i sig självt innehåller endast försvinnande små mängder av BD, har exponering för BD rapporterats i samband med bensinhantering (52).

**Tabell 3.** Genomsnittliga 8-timmars tidsvägda medelvärden av 1,3-butadien för vilka arbetare inom olika arbets kategorier i bensinraffinerier och petrokemiska anläggningar har exponerats för sedan 1984<sup>1</sup>.

Arbetsområde	Antal anläggningar	Medeltal (mg/m <sup>3</sup> )	Variationsbredd (mg/m <sup>3</sup> )
Produktion	7	0,53	0,02 - 4,4
Underhåll	6	0,24	0,04 - 0,82
Distribution	1	64,1	
Laboratorium	4	0,40	0,16 - 0,88

<sup>1</sup>Citerat av IARC (53); <sup>a</sup>Proportionerade enligt antalet exponerade arbetare

**Tabell 4.** Tidsvägda medelvärden av mätningar från andningszonen med personburen apparatur under hela arbetsskiftet vid fyra produktionsanläggningar för 1,3-butadienmonomerer i USA år 1985<sup>1</sup>.

Arbetskategori	Antal prov	Exponeringsnivå (mg/m <sup>3</sup> )		Variationsbredd
		Aritmetiskt medelvärde	Geometriskt medelvärde	
Processtekniker	10	1,0	0,2	<0,04 - 4,1
Kontrollrum				
Processtekniker	28	4,9	1,4	<0,2 - 77,1
Processområdet				
Lastningsområdet				
Tågagn	9	32,4	2,2	0,3 - 273,1
Tankbil	3	5,9	2,3	0,2 - 12,1
Tanklager	5	0,9	0,4	<0,1 - 3,4
Laboratorietekniker	29	2,3	0,9	0,1 - 14,0
Tömning av cylinder	3	277,4	16,5	0,9 - 825,5

<sup>1</sup>Från Krishnan *et al* (65,66)

### 5.1. Produktion av butadienmonomer

Den genomsnittliga exponeringsnivån för ren BD i Tyskland var ca 11,3 mg/m<sup>3</sup> med exponeringstoppar upp till 67,5 mg/m<sup>3</sup> (32).

Ytterligare exponeringsdata kommer från en anläggning i Finland som producerar ren BD. Nivåerna av BD i denna anläggning var i allmänhet lägre än 22,5 mg/m<sup>3</sup> i areamätningar från olika ställen av fabriken. Koncentrationerna av BD varierade mellan värden som var lägre än 0,2 mg/m<sup>3</sup> och 1 005 mg/m<sup>3</sup> i prover tagna med personburen apparatur hos 16 processarbetare. De högsta värdena uppmättes under provtagning av BD. Arbetarna använde skyddskläder och andningsapparater under arbetet (106). I en annan studie vid samma anläggning var koncentrationerna av BD i luften vanligen lägre än 22,5 mg/m<sup>3</sup>, men koncentrationstoppar upp till 674,7 mg/m<sup>3</sup> förekom i enstaka fall (3).

Detaljerade hygieniska undersökningar utfördes år 1985 av US National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) i fyra anläggningar i USA där man producerade BD genom extraktion av C4-fraktioner från delproduktströmmen av etylen med lösningsmedel (66). Nivåerna av BD för vilka arbetarna med olika uppgifter exponerades är sammanfattade i Tabell 4. Uppgifter som kräver att arbetare handskas med eller transporterar behållare, t.ex i samband med tömning av provcylindrar eller lastning och lossning av tankbilar eller tåg-vagnar, skapar de mest potentiella exponeringssituationerna. De geometriska medelvärdena av exponeringsnivåerna under hela skiftet för andra typer av arbetsuppgifter låg under 2,2 mg/m<sup>3</sup>. Korttidsprover visade att uppgifter såsom provtagning av BD under processen och tömning av cylindrar orsakade exponeringstoppar på 22,5 mg/m<sup>3</sup>. Ytprover tagna under hela skiftet visade att luftkoncentrationerna av BD var som högst vid tågagnsterminalerna (4,1 mg/m<sup>3</sup>) och i förvaringslagret för behållare (4,7 mg/m<sup>3</sup>).

I en nyligen utförd undersökning av US National Institute for Occupational Safety and Health studerades graden av exponering vid produktion av BD-monomeren, polymeren, samt inom industrin som tillverkar BD-produkter, för att värdera den arbetsrelaterade exponeringen och för att evaluera kontrollteknologier. Inspektioner av 11 monomerproducerande anläggningar utfördes, och noggrannare arbetshygieniska undersökningar gjordes i 4 monomerfabriker. Luftkoncentrationer av BD mättes i samband med olika arbetsuppgifter genom personlig provtagning. Data om luftmätningar av BD under hela skift och från tidsmässigt kortare insamlingar är sammanfattade i Tabellerna 5, 6 och 7 (38).

### 5.2. Produktion av polymerer och derivat

Koncentrationerna i produktionsanläggningar för BD-polymerer i Tyskland varierade mycket, mest beroende på typen av polymeriseringsprocess och förhållandena under processen. De genomsnittliga värdena från 465 mätningar under arbetsskift och 691 bakgrundsmätningar visade att de flesta exponeringsnivåerna låg mellan 10 och 40,5 mg/m<sup>3</sup> (32). Arbetshygieniska undersökningar

Tabell 5. Koncentrationer av 1,3-butadien i luftprover från monomerindustrin tagna med personburen apparatur under hela arbetsskiftet<sup>1</sup>

Arbetskategori	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variationsbredd	Aritmetiskt		Geometriskt	
			Medelvärde	SD	Medelvärde	SD
Laboratorietechniker	29	0,07 - 14,2	2,4	3,6	0,9	9,8
Tömmning av bomben	3	0,9 - 841,1	283,4	483,5	16,7	75,6
Process tekniker						
Kontroll	10	< 0,04 - 4,2	1,0	1,6	0,2	17,8
Laddning	12	0,2 - 278,9	26,1	79,4	2,2	17,6
Produktion	29	< 0,1 - 78,5	4,9	14,3	1,3	10,0
Lagring	5	< 0,1 - 3,4	1,0	1,4	0,5	9,6
<b>Totalt</b>	<b>88</b>	<b>&lt; 0,04 - 841,1</b>	<b>15,7</b>	<b>94,0</b>	<b>1,1</b>	<b>14,6</b>

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

Tabell 6. Koncentrationer av 1,3-butadien i kortidsprover som tagits med personburen apparatur från luften i monomerindustrin<sup>1</sup>

Arbetskategori	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variationsbredd	Aritmetiskt		Geometriskt	
			Medelvärde	SD	Medelvärde	SD
Provtagnings från bomben	8	< 1,6 - 330,6	48,4	114,0	7,7	15,4
Tömmning av bomben	6	< 0,2 - 242,9	51,5	96,3	5,1	41,2
Underhåll	7	0,1 - 37,8	11,6	15,4	2,2	26,1
Process	2	< 0,7 - 0,8	0,6	0,3	0,6	3,7
<b>Totalt</b>	<b>23</b>	<b>&lt; 0,1 - 330,6</b>	<b>34,0</b>	<b>82,1</b>	<b>3,8</b>	<b>23,0</b>

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

Tabell 7. Koncentrationer av 1,3-butadien i areaprover från helt arbetsskift i monomerindustri<sup>1</sup>

Arbetskategori	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variationsbredd	Aritmetiskt		Geometriskt	
			Medelvärde	SD	Medelvärde	SD
Produktion	25	< 0,1 - 4,8	1,3	1,3	0,8	7,0
Tågagn, lastning	20	0,2 - 144,6	23,6	41,4	4,2	19,3
Semi-trailer, lastning	4	0,2 - 4,3	1,3	2,0	0,5	9,0
Laboratorium	18	0,1 - 13,2	2,3	4,3	0,5	13,1
Tanklagret	5	0,3 - 53,5	17,5	23,4	4,8	18,8
<b>Delsomma</b>	<b>72</b>	<b>0,1 - 144,6</b>	<b>8,9</b>	<b>24,5</b>	<b>1,2</b>	<b>15,1</b>
Anläggningens gränsovr.	25	< 0,04 - 1,1	0,2	0,3	0,1	6,7
<b>Totalt</b>	<b>97</b>	<b>&lt; 0,04 - 144,6</b>	<b>6,6</b>	<b>21,3</b>	<b>0,6</b>	<b>17,9</b>

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

utfördes år 1986 i 5 av 17 anläggningar i USA där BD användes för att producera styren-butadiengummi, nitril-butadiengummi, polybutadiengummi, neopren och adiponitril (53). Nivåerna för BD-exponering presenteras i Tabell 8. Processarbetare som arbetade i tanklagret, sysslade med lossning, rening, polymerisering och reaktioner, laboratoriepersonal och underhållsarbetare exponerades för de högsta nivåerna. Korttidsprovtagning visade att aktiviteter som provtagning från en präm och laboratoriearbete kunde förknippas med exponeringstoppas som översteg 22,5 mg/m<sup>3</sup>. Areamätningar under hela arbetsskiftet antydde att de geometriska medelvärdena av BD:s koncentrationer i luften var lägre än 1,1 mg/m<sup>3</sup> och vanligen lägre än 0,2 mg/m<sup>3</sup> på alla undersökta platser i de fem anläggningarna.

Fajen et al (38) gjorde en undersökning bland 17 polymerfabriker och två fabriker som använde polymerer. Under fem grundliga undersökningar av butadienpolymerutverkningen insamlades 452 personliga prover och 132 stationära luftprover i olika områden. Tabellerna 9 och 10 presenterar resultaten från hela skift respektive individuell korttidsprovtagning enligt arbetsuppgift. Nivåerna under hela arbetsskift varierade från obefintliga värden till så höga värden som 96,7 mg/m<sup>3</sup>, medan korttidsprovtagningen gav värden mellan noll och 629,9 mg/m<sup>3</sup> (38). Det högsta värdet under personlig exponeringsmätning (96,7 mg/m<sup>3</sup>) vid ett helt arbetsskift, uppmättes hos en underhållsarbetare som arbetade med en butadienkompressor. Det högsta värdet under korttidsprovtagningen (629,9 mg/m<sup>3</sup>) fanns hos en processarbetare som tog BD-prover från en präm.

Tabell 11 presenterar en indelning enligt arbetsomgivning av resultaten från stationära areamätningar under hela skiftet. Koncentrationerna av BD i de olika arbetsområdena varierade mellan obetydligt värden och 20,2 mg/m<sup>3</sup>. Den högsta koncentrationen mättes i ett laboratorium för kvalitetskontroll. I de 51 prover som togs vid anläggningens gränsovråden konstaterades ett aritmetiskt medelvärde på 0,07 mg/m<sup>3</sup>, varvid ett geometriskt medelvärde på 0,02 mg/m<sup>3</sup> kunde uträknas (38).

### 5.3. Industri som tillverkar gummiprodukter

Genomsnittliga 8-timmars tidsvägda medelvärden av BD i två styrenbutadiengummifabriker varierade enligt mätningar gjorda i slutet av 1970-talet mellan 0,2 och 130 mg/m<sup>3</sup>, även om nivåerna i största delen av mätningar låg under 5 mg/m<sup>3</sup> (53).

I en nyligen utförd studie i två olika fabriker som tillverkade gummiprodukter kunde ingen exponering för BD konstateras. Fabriken (fabriken) använde styren-butadien, polybutadien och akrylonitril-butadiengummi. Totalt 124 exponeringsprover insamlades under tre skift, 34 i en avdelningen för tillverkning av slangar och 90 i en bildäcksavdelning. Koncentrationerna av BD var under detektionsgränsen (0,01 mg/m<sup>3</sup> i 25-litersprov) i alla insamlade prover (38).

Tabell 8. Tidsvägda medelvärden av exponeringsnivåer i luftprover från andningszonen tagna med personburen apparatur under hela arbetsskiftet i fem anläggningar i USA som producerar 1,3-butadienbaserade polymerer och derivat.<sup>1</sup>

Arbetskategori/ arbetsområde	Antal prov	Exponeringsnivå (mg/m <sup>3</sup> )		
		Arithmetiskt medelvärde	Geometriskt medelvärde	Variations- bredd
Processtekniker				
Avlastningsområde	2	32.3	10.4	1.7 - 63.0
Tanklagret	31	4.6	0.6	< 0.01 - 52.4
Rening	18	17.2	13.5	3.0 - 53.3
Polymerisering eller reaktion	81	0.9	0.1	< 0.01 - 25.0
Lösningar och koagulering	33	0.1	0.1	< 0.01 - 0.4
Smulning och torkning	35	0.1	0.1	< 0.01 - 0.3
Emballering	79	0.1	0.1	< 0.01 - 0.3
Lagerarbete	20	0.04	0.02	< 0.01 - 0.2
Kontrollrum	6	0.1	0.04	< 0.03 - 0.2
Laboratorietekniker	54	5.0	0.5	< 0.01 - 82.7
Underhållstekniker	72	3.0	0.3	< 0.01 - 95.5
Blandade uppgifter	6	0.3	0.1	< 0.01 - 0.7

<sup>1</sup>Från IARC (53)

Tabell 9. Koncentrationer av 1,3-butadien i luftprover från polymerindustrin tagna med personburen apparatur under hela arbetsskiftet<sup>1</sup>.

Arbetskategori/ arbetsområde	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variations- bredd	Aritmetiskt Medelvärde	SD	Geometriskt Medelvärde	SD
Laborarietekniker	49	< 0.01 - 85.2	6.9	15.5	0.7	27.2
Tanklageroperatör	23	0.02 - 54.0	4.4	11.3	0.6	21.6
Främre ändan (reaktion)	108	< 0.01 - 55.6	4.0	9.0	0.3	27.2
Underhållstekniker	42	0.03 - 96.5	4.1	15.4	0.3	16.7
Slutändan (slutbehandling)	79	< 0.01 - 16.0	0.8	2.4	0.1	16.0
Annat	137	< 0.01 - 0.4	0.1	0.1	0.1	6.8
Totalt	438	< 0.01 - 96.5	2.6	9.0	0.2	20.8

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

Tabell 10. Koncentrationer av 1,3-butadien i kortidsprover som tagits med personburen apparatur från luften i polymerindustrin<sup>1</sup>.

Arbetskategori/ arbetsområde	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variations- bredd	Aritmetiskt Medelvärde	SD	Geometriskt Medelvärde	SD
Provtagning för kvalitetskontroll	10	< 0.2 - 629.7	109.5	194.3	21.1	26.5
Underhåll	4	0.2 - 32.4	10.1	15.2	2.4	22.4
Totalt	14	0.2 - 629.7	81.2	168.5	11.3	28.8

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

Tabell 11. Koncentrationer av 1,3-butadien från areamätningar under hela arbetsskiftet i polymerindustrin<sup>1</sup>.

Arbetskategori/ arbetsområde	Antal prov	Koncentration av 1,3-butadien (mg/m <sup>3</sup> )				
		Variations- bredd	Aritmetiskt Medelvärde	SD	Geometriskt Medelvärde	SD
Präm	1	0.1 - 0.1	1.1	-	1.1	-
Tanklagret	8	0.2 - 3.9	1.5	1.5	0.9	7.5
Laboratorium	3	0.1 - 20.3	6.8	11.6	0.4	61.8
Främre ändan (reaktion)	50	< 0.01 - 6.3	0.6	1.1	0.2	12.1
Slutändan (slutbehandling)	19	< 0.01 - 0.1	0.02	0.02	0.01	4.9
Delsumma	81	< 0.01 - 20.3	0.8	2.4	0.1	16.8
Anläggningens gränsoområde	51	< 0.01 - 0.4	0.1	0.1	0.03	7.6
Totalt	132	< 0.01 - 20.3	0.5	1.9	0.1	14.8

<sup>1</sup>Från Fajen (38); SD, standardavvikelse

## 6. Provtagning på arbetsplatsen och analys av substansen

### 6.1. Mätningar inomhus

BD har mätts med olika analytiska metoder i arbetsplatsluften, men insamlingen av luftprov på aktiverade adsorbenter, desorption av provet i ett organiskt lösningsmedel och därpå följande analys med gaskromatograf tillsammans med en FID-detektor tycks vara den mest populära strategin (14, 36, 44, 46, 47, 48, 89).

En kort beskrivning av de använda metoderna och rekommendationerna i tre olika institut kommer att presenteras. Alla dessa tre har en del gemensamma drag, och de skiljer sig från varandra endast i fråga om små detaljer. De tre instituten är: US National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Institutet för arbetshygien i Finland och Health and Safety Executive i Storbritannien (UK HSE).

*NIOSH 1024-metoden:* Luftprovet samlas in genom att leda en känd luftvolym genom en serie hopkopplade rör innehållande träkol av kokosnöt vilka adsorberar BD från luftströmmen. Insamlad BD desorberas från adsorbenten genom extrahering med metylenklorid. Vid injicering av metylenkloridlösningen i en GC-FID-analysator separeras BD från andra, störande substanser, som kan förekomma i extraktet. Valet av kromatografikolonn för bestämningen är inte avgörande, förutsatt att den förmår separera BD från de övriga föreningarna effektivt. Den estimerade detektionsgränsen för denna metod är 0,02 µg/ml, med

ett användbart område på 1 - 480 µg per prov. Precisionen för denna metod verkar att bero på provets koncentration, främst på grund av att effektiviteten för desorption ändras som en funktion av provkoncentrationen. Beredande av standardprover blir allt mera komplicerat med ökande koncentrationer. Kvantitering av BD i NIOSH 1024-metoden sker genom att integrera arean av det okända provets signal till arean av standardprovet. Preparering och injicering av BD-standarder i gasform är tämligen svårt; det måste ske ytterst noggrant för att undvika felaktiga resultat. Förvaring av provet tycks ha en dramatisk effekt på mätresultatet. Prover som förvarats vid -4°C visade att 93 - 98% av BD återfanns under en period på 21 dygn, medan prover som förvarats vid rumstemperatur visade att endast 61 - 95% av BD kunde återfinnas. Metoder i litteraturen om bestämning av BD i prover från personburna insamlare kan eventuellt råda bot på en del av dessa problem (89).

*UK HSE-metoden:* Metoden som rekommenderas av UK HSE går ut på insamling av luft med personburna pumpar (10 - 50 ml/min) genom ett Perkin Elmer ATD 50 adsorbenttrör packat med 900 mg Tenax med en molekylvikt på 13. Röret värmedesorberas till en kylfälla på -30°C. De uppfångade komponenterna reinjiceras sedan genom ballistisk upphettning i en 50 m PLOT silikakapillärkolonn som hålls isotermt vid 130°C. BD separeras helt från övriga C4-isomerer. Metoden är lämplig för mätning av luftburen BD vid koncentrationer mellan 0,2 och 100 mg/m<sup>3</sup> i femliters luftprover (47, 48).

*Metoden vid Institutet för arbetshygien:* En metod för monitorering av BD i luften har utvecklats vid Institutet för arbetshygien i Finland. Två olika metoder för insamling av prover beskrivs, där den ena baserar sig på passiv diffusion i en kommersiell dosimeter och den andra på aktiv insamling av prov i ett rör fyllt med aktiverat träkol. Båda typerna av prover desorberas med acetonitril och analyseras med GC-FID. BD separeras helt ifrån de övriga lågmolekylära föreningarna när en 50 m PLOT silika-kapillärkolonn används. Detektionsgränsen är 800 ng/m<sup>3</sup> och ca 90% av BD:n kan tas tillvara (0,6 l luft). Två timmars insamlingstid vid aktiv provtagning rekommenderas, men en insamlingstid på 8 timmar kan användas med dosimeterna (BD-koncentrationer lägre än 400 µg).

Metoderna som tillämpas vid NIOSH och Institutet för arbetshygien är likartade. Metoden vid Institutet för arbetshygien har emellertid vissa aspekter som gör den mera användbar än NIOSH-metoden. Vid Institutet för arbetshygien används acetonitril vid desorption av provet, vilket också används vid rening av BD från andra C4-föreningar. BD bildar en azeotrop med acetonitril, vilket kan vara orsaken till den goda desorptionseffektiviteten i studier gjorda vid Institutet för arbetshygien. UK HSE och Institutet för arbetshygien använder samma typ av analytisk kolonn. Som redan tidigare har konstaterats, behövs kapillärkolonner av PLOT-typ för tillräckligt effektiv separering från andra kolväten av låg molekylvikt.

UK HSE-metoden baserar sig på termodesorption med apparatur från en speciell tillverkare. Detta är en nackdel hos metoden, eftersom termodesorption i allmänhet inte används rutinmässigt i analytiska laboratorier.

## 6.2. Monitorering av stadsluft

Det finns två olika beskrivningar av metoder för insamling av prover ur stadsluft för analys av BD. Expertkommittén för standarder inom arbetsmiljön (Expert Committee for Occupational Standards) i Holland har gjort följande översikt av metoder för monitorering arbetsmiljön:

En luftmängd på 25 l samlas in på en solid adsorbent. Det övre gränsvärdet för insamlaren är 220 mg/m<sup>3</sup>, och mätområdet ligger mellan 0,044 och 19 mg/m<sup>3</sup>. Desorptionen sker med metylenklorid; under 0,9 mg/m<sup>3</sup> sjunker desorptionseffektiviteten under 75%. BD analyseras med GC-FID. Pentan, metylacetylen och höga koncentrationer av vinylklorid stör analysen. Hög luftfuktighet (över 80%) och mätbara mängder av andra kolväten minskar betydligt insamlarens kapacitet för BD (89).

Infraröd spektrometri kan användas för fortlöpande monitorering av BD i luft. Detektionsgränsen är tämligen hög i detta fall och störningar från andra källor kan förekomma, men dessa kan i allmänhet minimeras med val av rätt våglängd.

Det finns även olika typer av gasdetektortuber vilka baserar sig på enkla kolorimetriska reaktioner för detektion av BD. Dessa reaktioner inkluderar reduktionen av kromat eller dikromat till kromatjoner, och reduktion av ammoniummolybdat tillsammans med palladiumsulfat till molybdenblått (96).

## 7. Toxikokinetik

### 7.1. Upptag och distribution

Upptaget av BD sker via inandning. BD absorberas väl i kroppen och distribueras från alveolerna till blodet och vidare till olika vävnader och organ (29). Bond et al (17) behandlade fullvuxna Sprague-Dawley-råttor och B6C3F<sub>1</sub>-möss med korta 6-timmars exponeringar för <sup>14</sup>C-märkt BD, varefter upptag, distribution och metabolismen av BD studerades. Möss exponerades (endast via nosen) för halter av BD från 0,2 till 2 249 mg/m<sup>3</sup>, och råttor för halter upptill 15 968 mg/m<sup>3</sup>. Mössen visade sig ha effektivare upptag av BD än råttor; andelen <sup>14</sup>C som absorberades och bibehölls efter 6 timmar var mellan 1,5 och 17% hos råttor och från 4 till 20% hos möss. I ett annat experiment (45), med låga (23 mg/m<sup>3</sup> eller lägre) exponeringsnivåer, visade sig möss ha 5 gånger effektivare upptag av inhaled BD (20%) än råttor (4%) eller cynomolgus-apor (3%).

## 7.2. Biotransformation

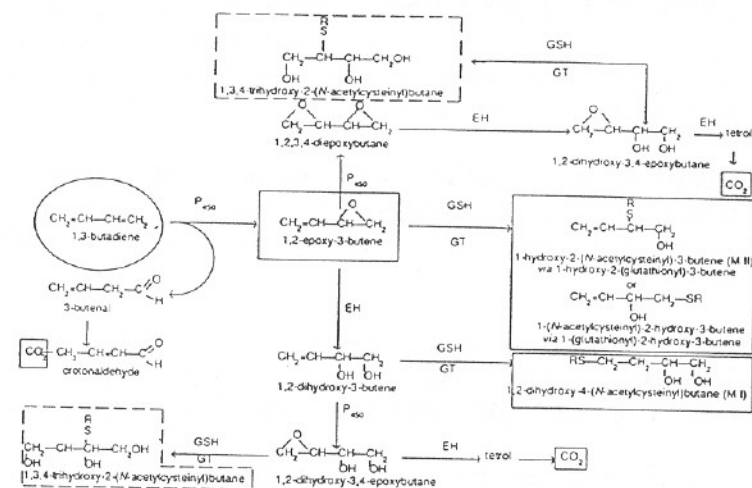
BD metaboliseras till 1,2-epoxi-3-buten (BMO) av cytokrom P450-beroende mono-oxygenaser och BMO detoxifieras av epoxid hydrolaser och glutation transferaser, medan vidareepoxidering av mono-oxygenaser förvandlar BMO till 1,2,3,4-diepoxybutan (DEB), vilket har visats av ett flertal författare både *in vitro* och *in vivo* (Fig. 1).

Ett antal cytokrom P450 isoenzymer är uppenbarligen inblandade i metabolismen av BD. Cytokrom P450 isoenzym CYP2E1, som också är involverad i metabolismen av styren, är den viktigaste enzymen vid oxidering av BD till BMO (43). Enligt Filser et al (41) kan detta vara betydelsefullt med tanke på den parallella exponeringen för dessa två föreningar hos människa (41). Undersökningar av lever- och lungvävnad hos Sprague-Dawley-råttor och B6C3F<sub>1</sub>-möss, samt biopsiprover från samma organ hos människa har visat signifikanta skillnader i metabolismen (16). Levermikrosomerna hos B6C3F<sub>1</sub>-möss har en förmåga att oxidera BD som klart överstiger aktiviteten i levermikrosomerna hos råttor och människa. Med undantag av möss skedde oxidationen av BD signifikant lägre/Långsammare med lungmitokondrier än med levermitokondrier. Levermikrosomer hos människa hydrolyserade i allmänhet butadien monoepoxid med glutation var effektivare hos mus än hos människa och råttor. Proportionerna av butadienaktivering (P450): detoxifiering (hydrolys och konjugering) är märkbart olika i levervävnaden hos möss (74:1), råttor (6:1) och människor (6:1) (16). Hos möss, den enda djurarten som hittills har undersökts, hade benmärgen mycket högre nivåer av butadien monoepoxid per gram vävnad än blodet, vilket tydde på att butadien monoepoxid bildades i benmärgen *in situ* (45).

## 7.3. Eliminering

BD elimineras, enligt experiment med <sup>14</sup>C, främst via utandningsluften och urinen (17). Inga större skillnader i eliminering mellan olika djurarter har observerats. Ungefär hälften av det radioaktiva materialet avsköndades i urinen, 5-10% i avföringen, 5-10% via utandningen som koldioxid, 15-20% via utandningen som flyktiga metaboliter och 10-20% blev kvar i kroppen. Aporna verkade emellertid metabolisera den bibehållna mängden <sup>14</sup>C-butadien effektivare, eftersom hälften av den interna dosen utandades som <sup>14</sup>C-märkt koldioxid (45).

De två viktigaste rutterna för detoxifiering av BMO *in vivo* var konjugering med glutation-S-transferas och klyvning av epoxiden med epoxid hydrolas varvid 3-buten-1,2-diol bildas. Även om dessa enzymssystem var verksamma hos både råttor och mus, är de viktigaste rutterna för detoxifiering av epoxiden olika för de två djurarterna. Muslevers glutation-S-transferas har hög affinitet för BMO medan nivåerna av epoxid hydrolas är låga hos möss och höga hos råttor (100). Dessa olikheter kan vara orsaken till att den metaboliska kapaciteten för BD och



Compounds enclosed in boxes have been identified *in vivo* as metabolites of butadiene; those that have been identified only tentatively are enclosed with broken lines. GSH, glutathione; GT, glutathione S-transferase; EH, epoxide hydrolase.

Fig. 1. Metabolismen av 1,3-butadien (45). Föreningar inneslutna i fyrkanter har identifierats *in vivo* som butadienmetaboliter; streckade linjer omger de metaboliter som endast är preliminärt identifierade. GSH, glutation; GT, glutationtransferas; EH, epoxidhydrolas.

BMO var saturerade vid lägre koncentrationer hos möss än hos råttor och att glutationhalterna minskade märkbart hos möss.

Ett elimineringsmönster av första ordningsgraden observerades för BMO i Sprague-Dawley-råttor efter exponering till epoxiden i en sluten inhaleringskammare vid koncentrationer upp till 11 245 mg/m<sup>3</sup>; ingen saturering av BMO-metabolismen observerades (40, 63). Möss uppnådde metabolisk saturering vid mycket lägre koncentrationer av BMO, ca 1 123 mg/m<sup>3</sup> (63). De estimerade värdena för V<sub>max</sub> vid BMO:s satureringsnivå var 350 µmol/tim/kg för möss och 2 600 µmol/tim/kg för råttor. Vid lägre halter, då elimineringskinetiken var av första ordningsgraden, hade möss en ca fem gånger lägre elimineringshastighet än råttor. Den viktigaste observationen i dessa studier var att jämviktssaturationen för BMO i möss var ca 10 gånger högre än hos råttor.

När metabolismen av BD var saturerad, förekom BMO i utandningsluften hos både möss och råttor (63). När möss exponerades för koncentrationer av BD över 4 498 mg/m<sup>3</sup> minskade dessutom halterna av icke-hepatiska sulfhydrylföreningar som inte var proteiner (NPSH; främst glutation), vilka sjönk ned till 20% av det ursprungliga värdet efter 7 timmar och 4% efter 15 timmar. Hos råttor var sänkningen av NPSH lägre; 65-80% av kontrollvärdena kunde konstateras efter 7 tim,

varefter minskningen stabiliserades (62, 64). En vidare jämförelse av de två arterna vid olika koncentrationer och i olika vävnader visade en dosberoende minskning av NPSH i lungorna, hjärtat och levern hos möss. Hos råttor observeras en dylik minskning bara i samband med höga exponeringskoncentrationer (33).

Betydande skillnader mellan djurarter har observerats för de DB- metaboliter BD avsågade i urinen (12). De två identifierade huvudmetaboliterna är merkaptursyror som bildats vid konjugering av glutation med antingen butadienmonoepoxid [1-hydroxi-2-(N-acetylcysteiny)-3-buten; M-II] eller butendiol [1,2-dihydroxi-4-(N-acetylcysteiny)butan; M-I] (se Figur 1). Bildningen av M-I torde vara beroende av djurens förmåga att hydrolysera butadien monoepoxid till butendiol. Proportionen av M-I och M-I + M-II var högst hos cynomolgus-aporerna och lägst hos möss. Endast M-I kunde konstateras i urinen hos arbetare exponerade för BD (45).

#### 7.4. Relevanta kinetiska interaktioner

BD används allmänt för produktion av styrenkopolymerer. Vid produktion av SBG (styren-butadiengummi) förekommer samtidig exponering för båda föreningarna. Båda föreningarna biotransformeras av cytokrom P-450-beroende monooxygenaser till epoxider (1,2-epoxi-3-buten och styren-7,8-oxid) och deras farmakokinetiska interaktioner borde därför anses vara relevanta. I råttor som exponerats för en blandning av BD (45 - 1 349 mg/m<sup>3</sup>) och styren (0 - 1 125 mg/m<sup>3</sup>) var hastigheten av den metaboliska elimineringen av BD delvis inhiberad av styren. Inhibitionen var kompetitiv vid styrenkoncentrationer upp till 90 ppm, medan högre koncentrationer resulterade endast i smärre ytterligare inhibering (69). BD hade ingen effekt på metaboliseringen av styren. Detta fynd ger stöd åt tanken att exponering för BD allena producerar mera genotoxiska/carcinogena metaboliter än koexponering med styren (se epidemiologin nedan).

### 8. Biologiska monitoreringsmetoder

Det finns för närvarande inga standardiserade metoder för bestämning av BD eller dess metaboliter i biologiska vävnader. Nyligen har emellertid en metod beskrivits där koncentrationer av specifika N-acetylcysteinkonjugater av BD-metaboliter har bestämts i försöksdjur som exponerats för BD (45).

En annan potentiell strategi för biologisk monitorering är möjligheten att mäta specifika addukter i proteiner som hemoglobin eller albumin. BMO-addukter i den N-terminala valinen i hemoglobin bestämdes i hanar av B6C3F<sub>1</sub>-möss, Sprague-Dawley- råttor och Wistar-råttor efter exponering via inhalation (0, 5, 23, 113, 225, 449, 1 125, 2 924 mg/m<sup>3</sup> BD, 6 tim/dag, 5 dagar/vecka, under 2 veckor; djuren dödades 1 timme efter den sista exponeringen). Adduktivåerna ökade lineärt med koncentrationen av BD i möss, medan en avvikelse från lineariteten observerades hos råttor. Efter exponering för 23 mg/m<sup>3</sup> BD var adduktivåerna

4 - 5 gånger högre hos möss än hos råttor; vid lägre koncentrationer av BD var skillnaden mellan arterna mindre (4, 90).

Mängden av BMO-addukter i N-terminal valin hos hemoglobin var ca 1 - 3 pmol/g globin i människor (icke-rökare) som arbetade i utrymmen där BD-halter på ca 2,2 mg/m<sup>3</sup> hade konstaterats i en undersökning som utfördes 3 - 9 månader före blodtagning. Ökade nivåer av hemoglobinaddukter konstaterades även hos cigarettörkare som inte exponerades för BD i arbetet (90).

### 9. Effekter hos djur och *in vitro*-studier

#### 9.1. Irritation och sensibilisering

Möss och råttor som exponerats för 198 000 - 308 000 mg BD/m<sup>3</sup> under okända tidslängder konstaterades ha irriterade slemhinnor, resulterande i konjunktivit, irritation av näsa och luftrören och slutligen i förhindrad andning, i en studie som rapporterats av expertkommittén i Holland (35).

Inga ögonskador kunde konstateras hos kaniner som exponerats för BD-halter upp till 14 740 mg/m<sup>3</sup> i 7,5 tim/dag under 6 dagar/vecka i 8 månader. Ett negativt resultat konstaterades även i en parallel men mindre studie med hundar (35).

#### 9.2. Akut toxicitet

Den akuta toxiciteten av BD är låg. Shugarev (101) rapporterade att LC50-värdet hos råttor efter en 4-timmars exponeringsperiod var 290 121 mg/m<sup>3</sup>, medan en koncentration på 274 378 mg/m<sup>3</sup> resulterade i 50% dödlighet hos möss efter två timmar av exponering. Exponering för 562 250 mg/m<sup>3</sup> under ca 30 minuter var dödlig för kaniner (20).

#### 9.3. Toxiska korttidseffekter

Inga behandlingsrelaterade toxiska effekter, förutom ökad salivavsöndring hos honorna, konstaterades i råttor som exponerats subakut under 13 veckor (6 tim/dag, 5 dagar/vecka) för halter av BD upp till 17 992 mg/m<sup>3</sup> (28).

Försening i utvecklingen av hematopoetiska stamceller observerades då hanar av B6C3F<sub>1</sub>-möss exponerades för 2 700 mg BD/m<sup>3</sup> under 31 veckor. Förändringar observerades i tidslängden av differentieringen av förstadierna till granulocyt-/makrofagceller, resulterande i en ökning av omogna pluripotenta stamceller i behandlade djur (72).

Irons et al (55) undersökte effekten av BD på den perifera hematologin och i benmärgen hos hanar av B6C3F<sub>1</sub>-möss. Djuren exponerades för 2 750 mg BD/m<sup>3</sup> för 6 tim/dag, 6 dagar/vecka i 3, 6, 12, 18 eller 24 veckor. Totalt 80 djur användes i denna studie.

Analys av DNA-histogram gjordes på benmärgceller isolerade från möss som behandlats med BD under 6 veckor, samt kontrolldjur. Exponeringen resulterade i en ökning på 58% i proportionen av celler i S-fasen, jämfört med kontroller. Signifikanta skillnader i den perifera hematologin konstaterades mellan kontrollerna och de behandlade djuren vid alla undersökta tidpunkter; dessa skillnader inkluderade även leukopeni. Behandlingsrelaterade förändringar i erythrocytparametrarna inkluderade en minskning av erythrocyter, lägre hemoglobin- och hematokritvärden, och en ökning i den genomsnittliga volymen av cirkulerande erythrocyter. Ingen signifikant ökning i cirkulerande retikulocyter kunde observeras, men en 5-6-faldig ökning i antalet lymfocyter med mikrokärnor konstaterades efter behandlingen. Enligt forskarna var de observerade förändringarna i benmärgen och blodet efter BD-exponering förenliga med behandlingsrelaterad makrocytisk anemi utan (eller endast med en obetydlig) hemolytisk inverkan. Minskningen i antalet cirkulerande leukocyter och erythrocyter var i kontrast med ökad celldelningsaktivitet i benmärgen och till den i grund och botten normala cellulära strukturen i benmärgen (55).

#### 9.4. Toxiska långtidseffekter/carcinogenicitet

Kroniska toxicitetsstudier har gjorts av National Toxicology Program (NTP) i B6C3F<sub>1</sub>-möss exponerade för 0, 1 406 eller 2 811 mg BD/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar/vecka, för 60-61 veckor) (84, 87). Atrofiering av hanarnas testiklar och motsvarande symptom i ovarierna hos honorna konstaterades vid 1 406 mg/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar/vecka). I en senare studie med 0, 14, 450 eller 1 406 mg BD/m<sup>3</sup>, konstaterades även toxiska effekter i benmärgen efter 40 veckor med minskning i antalet erythrocyter och hemoglobin, samt en cellvolym på 141 mg/m<sup>3</sup> i erythrocyter. Ökning av den genomsnittliga cellvolymen konstaterades vid 1 406 mg/m<sup>3</sup>.

Carcinogeniciteten av BD studerades i hanar och honor av B6C3F<sub>1</sub>-möss, 50/grupp, exponerade för 0, 1 406 eller 2 811 mg BD/m<sup>3</sup> under 60 (hanar) eller 61 (honor) veckor (6 tim/dag, 5 dagar/vecka) (49). Undersökningen skulle ursprungligen fortsätta i två år, men mortalitet på grund av letala tumörer under ett tidigt skede resulterade i att studien avslutades tidigare än beräknat. Efter 60 veckor var mindre än 20% av hanarna i högdosgruppen och 25% av hanarna i lågdosgruppen ännu vid liv. Vid denna tidpunkt var 95% av kontrollerna ännu vid liv. Maligna T-cell lymfom, vilka orsakade största delen av dödsfallen i ett tidigt skede, förekom hos både hanar och honor i lågdosgruppen (1 406 mg/m<sup>3</sup>). Dessa lymfom skiljer sig ifrån de spontana lymfom som förekommer i denna musstam och härstammar ifrån B-celler. Hemangiosarkom i hjärtat, en ytterst sällsynt tumör, förekom även hos båda könen, tillsammans med tumörer i lunga och frammagen. Förekomsterna av hemangiosarkom, lymfom och lungtumörer var likadana vid båda koncentrationerna. En observerad minskning av tumörer i frammagen i högdosgruppen kan bero på den omfattande tidiga dödligheten. Dessutom konstaterades tumörer i mjölkörtlarna, ovarierna och levern hos honorna i högdosgruppen. BD orsakade med andra ord tumörer i ett flertal organ hos båda könen av B6C3F<sub>1</sub>-möss.

I en carcinogenicitetsstudie som utfördes av NTP (84) lade man speciell vikt på både dos-responsförhållanden och tidpunkten för uppkomsten av tumörer. Studien var en sk. "stop-exposure study", vilket betyder att man avbröt exponeringen efter en tid och observerade djuren under resten av undersökningstiden. Hanar och honor av B6C3F<sub>1</sub>-möss, 70/grupp, exponerades för 0, 14, 45, 141, 450 eller 1 406 mg BD/m<sup>3</sup> under 40, 65, eller 104 veckor (6 tim/dag, 5 dagar/vecka). Dessutom exponerades hanmöss (50/grupp) för 450 mg/m<sup>3</sup> under 40 veckor, 1 406 mg/m<sup>3</sup> under 13 veckor, 702 mg/m<sup>3</sup> under 52 veckor, eller 1 406 mg/m<sup>3</sup> under 26 veckor, resulterande i en totalexponering på ca 17 992 eller 36 546 mg/m<sup>3</sup> x veckor. Likadant som i den tidigare studien var andelen överlevande djur mycket låg hos båda könen vid 1 406 mg/m<sup>3</sup>; alla djuren avled före 70e exponeringsveckan. Andelen överlevande djur var även låg vid 450 mg/m<sup>3</sup>, men denna effekt var mindre påtaglig vid lägre doser. Hos honorna var lymfom den största orsaken till minskad överlevnad vid 450 mg/m<sup>3</sup>. Den enda dosen som inte inverkar på överlevnadsprocenten var 14 mg/m<sup>3</sup>.

Likadant som i den tidigare studien, uppenbarade sig tumörer i flera olika organ hos båda könen av möss. En signifikant ökning av elakartade tumörer konstaterades vid 45 mg/m<sup>3</sup> hos hanar och 14 mg/m<sup>3</sup> hos honor. Vid sidan av lymfom, hemangiosarkom, samt tumörer i lunga och frammage, observerades tumörer även i Harders körtel, preputialkörteln och i levern hos hanar, samt i Harders körtel, levern, ovarierna samt mjölkörtlarna hos honor. Upptäckten av dessa övriga typer av tumörer tycks hänga ihop med försvinnandet av tymusrelaterade lymfom vid de låga exponeringsnivåerna. Lymfom uppkommer vanligen i ett tidigt stadium; de kan ofta konstateras inom 26 veckor från början av exponeringen. Hemangiosarkom, däremot, uppträder vanligen efter 40 veckor. Vid den lägre koncentrationen av BD förekommer inga lymfom, vilket ger en möjlighet för andra elakartade tumörer att utveckla sig. Ett liknande mönster är synbart vid induktion av lungtumörer, vilka också utvecklas efter 40 veckor av exponering. Förekomsten av lungtumörer, vilka uppträdde med en statistiskt signifikant ökning vid den lägsta dosen i ovan nämnda studie (14 mg/m<sup>3</sup>), är den mest känsliga markören för carcinogen verkan hos honmöss. Studier av dosresponskurvor för induktion av tumörer i både han- och honmöss bekräftar observationen om att T-cellresponsen är en högdoseffekt. Däremot kunde ett lineärt förhållande konstateras mellan förekomsten av de andra mest förekommande tumörerna (lunga, Harders körtel, hjärta, frammage) och exponeringskoncentrationen.

Studier där ett konstant koncentration-tid-förhållande uppehölls visade att den höga exponeringskoncentrationen var ansvarig för induktionen av lymfom. Bara 13 veckor av exponering för 1 406 mg/m<sup>3</sup> resulterade i tymusrelaterad lymfom hos 47% av hanmössen, medan inga signifikanta öknningar förekom när mössen exponerades för 450 mg/m<sup>3</sup> under 40 veckor.

Endast ett fåtal långfristiga carcinogenicitetsstudier har gjorts med råttor. Sprague-Dawley-råttor exponerades för 0, 2 249 eller 17 992 mg/m<sup>3</sup> BD (6 tim/dag, 5 dagar/vecka under 111 veckor (hanar) eller 105 veckor (honor)).



Signifikant ökning av tumörer kunde konstateras i bukspottkörteln och testiklarna hos hanar och i mjölkkörtlarna och Zymbals körtel i honor (91).

BD orsakar alltså tumörer i olika organ hos båda könen av råttor och möss. Den lägsta tumörorsakande dosen hos möss är 13,5 mg/m<sup>3</sup>, medan motsvarande koncentration för råttor är 2 249 mg/m<sup>3</sup>. Den enda gemensamma tumören mellan arterna var tumör i mjölkkörteln hos honor. Tumörerna hos råttor ligger alla i den endokrina vävnaden. BD är klart och tydligt en djurcarcinogen med "sufficient evidence", enligt IARC:s klassificering (53).

## 9.5. Genotoxicitet och mutagenicitet

BD är en effektiv indirekt mutagen både i *in vivo*- och *in vitro*-tester, och dess aktivitet orsakas av de reaktiva metabolerna BMO och/eller DEB (se Figur 1). Översikter av den genetiska toxiciteten av BD har gjorts av de Meester (80) och IARC (53).

### 9.5.1. *In vitro*-studier av BD

Huvudmetaboliten BMO reagerar med DNA och producerar därvid två isomerer av både N7-alkylerad guanin och N6-alkylerad deoxiadenosin (23, 59, 93).

Diepoxibutan inducerar tvärbryggor (cross-links) mellan DNA-strängarna via N7-positionen i guanin (70). Leuratti et al (73) har också rapporterat om en specifik N6-adeninaddukt, utan tecken på cross-links.

Det är tämligen svårt att handskas med BD vid *in vitro*-testning, och detta faktum kan vara orsaken till en del motstridiga rapporter om BD:s genotoxicitet. Butadiengas ökade betydligt antalet revertantkolonier i *Salmonella*-stammen TA1530 (80). Förutom detta arbete, baserar sig bevisen på att rättlever-S9 kan aktivera BD på en svag aktivitet i samma *Salmonella*-stam (9) och svag induktion av systerkromatidutbyte (SCE) i ovarieceller från Kinahamster (97). BD i gasform inducerade inte SCE i odlade humana lymfocyter, med eller utan S9 mix (9). När BD tillförs nedkyld i vätskeform till lufttäta odlingar, har den en svag SCE-inducerande effekt som går att upprepa, oberoende av tillsättning av S9 mix (98). Erythrocyter verkar inte spela någon roll vid aktiveringen av BD, eftersom en liknande svag induktion av SCE konstaterades i lymfocytodlingar av humant helblod och i odlingar av isolerade mononukleära celler (98). Induktion av genmutationer i *hprt*-genen i en human lymfoblastoid cellinje, TK 6, har även rapporterats efter exponering för BD (24).

### 9.5.2. *In vivo*-studier av BD

När B6C3F<sub>1</sub>-möss och Wistar-råttor exponerades för <sup>14</sup>C-BD i slutna exponeringskammare, återfanns radioaktiviteten i hepatiska nukleoproteiner och DNA hos båda arterna. Radioaktiviteten var ca två gånger starkare i nukleoproteiner hos möss än hos råttor, medan radioaktiviteterna i DNA var likvärdiga (62). Syrahydrolys av DNA från levern av möss exponerade för <sup>14</sup>C-BD avslöjade existensen av två identifierbara N7-alkylguaniner. Dessa kunde inte finnas hos likadant exponerade råttor (57).

Efter en sju timmars exponeringsperiod för 562, 1 125 eller 2 249 mg BD/m<sup>3</sup>, visade alkaliska elutionsprofiler från lever och lunga hos möss och råttor förekomsten av protein-DNA och DNA-DNA cross-links vid alla doser av BD (57). I en annan studie fanns inga bevis för bildning av cross-links i DNA som isolerats från levern av BD-behandlade möss och råttor (95).

Nyligen utförda studier har visat att specifika N6 BMO-alkylerade deoxiadenosinaddukter bildades i BD-exponerade möss och råttor (60). De studerade organen där addukter analyserades kvalitativt var lunga, lever och hjärta. En dos-respons upptäcktes i lungprover från råttor; lunga var det enda organet som studerades igenom hela dosområdet (113, 450, 1 125 och 2 924 mg/m<sup>3</sup>, 6 tim/dag, 5 dagar/vecka, två veckor).

BD inducerar både kromosomala effekter och genmutationer i gnagare exponerade för denna förening. BD orsakar kromosomaberrationer i benmärgen hos möss exponerade via inhalation för 2 811 mg/m<sup>3</sup> under 6 timmar eller 1 406 mg/m<sup>3</sup> under 10 dagar, SCE (14 - 1 406 mg/m<sup>3</sup> under 10 dagar) och mikrokärnor (MN) (14 - 1 410 mg/m<sup>3</sup> under 13 veckor eller 2 811 mg/m<sup>3</sup> under 3 - 24 veckor) men ingen aneuploidi (2 811 mg/m<sup>3</sup> under 6 timmar) (30, 54, 56, 109). Dessa fynd står i skarp kontrast till fynd hos råttor som exponerats via inhalation, där ingen ökning av SCE eller MN kunde konstateras i benmärgen och inga kromosomala aberrationer fanns i lymfocyter efter exponering för 225 - 2 249 mg/m<sup>3</sup> BD under två dagar (30). SCE verkar således vara den mest känsliga indikatorn, eftersom den lägsta effektiva koncentrationen var 14 mg/m<sup>3</sup> i möss (109).

Induktion av mikrokärnor är den mest studerade cytogenetiska effekten. Victorin et al (114) exponerade NMRI-möss av hankön under 23 timmar för 0, 23 eller 1 125 mg BD/m<sup>3</sup> och tog benmärgsprov efter 30 timmars exponering. MN-frekvensen i polykromatiska erythrocyter ökade signifikant redan vid den lägre dosen (0,82% mikronukleära polykromatiska erythrocyter (MNPCE) hos exponerade jämfört med 0,14% hos kontrolldjur).

Adler et al (2) exponerade (102/Elx3H/Ei)F<sub>1</sub>-möss av båda könen för 0, 113, 450, 1 125 eller 2 924 mg BD/m<sup>3</sup>, 6 tim/dag under 5 dagar. En signifikant ökning av MN-frekvensen observerades redan vid den lägsta dosen (0,54% MNPCE:n hos exponerade jämfört med 0,13% hos kontrollerna). Dos-responsen var linjär upp till 450 mg/m<sup>3</sup>. Vid högre koncentrationer planade kurvan ut och MN-frekvenserna hos hanar var signifikant högre än hos honor. Inga skillnader kunde konstateras mellan MN-frekvenserna i benmärgen och hos PCE i det yttre blodomloppet.

Autio et al (11) exponerade B6C3F<sub>1</sub>-möss av honkön och hanar av Wistar-råttor genom inhalation för samma koncentrationer av BD som Adler et al (2). Formen av dos-responskurvan för MNPCE i benmärg och blod var likadan som i studien av Adler et al (2), även om MN-frekvenserna i sig själva var något högre. I motsats till detta skiljde sig inte MN-frekvenserna hos exponerade (113, 450 eller 1 125 mg/m<sup>3</sup>) råttor signifikant från kontrollerna, varken i benmärgen eller i blodet.

Tabell 12. Genotoxiciteten av 1,3-butadien *in vivo*.

Art	Typ av test	Resultat	Referens
Mus	Hb addukter	+	4
	DNA alkylering	+	57
	SSBs i DNA	+	57
	SCE	+	109
	MN	+	109
	CA	+	54
	HPRT	+	26
	Färgfläckar i pålsen	+	2
	Dominant letalitet	+	1
	Medfödda missbildningar	+	7
Råtta	Hb addukter	(+)	4
	DNA alkylering	+	57
	SSBs in DNA	-	57
	SCE	-	30
	MN	-	11
Människa	Hb addukter	+	90
	SCE	-	104
	MN	-	104
	CA	-	104
	HPRT	+	71

Som slutledning av det föregående kan det konstateras att det finns påfallande skillnader i den klastogena responsen hos råttor och möss.

Studier av Goodrow et al (42) har visat att protoonkogener aktiveras i muslevern och i lungtumörer samt i lymfom efter BD-exponering. Den aktiverande mutationen befinner sig i kodon 13 i *K-ras* onkogenen, en mutation som aldrig ses i levertumörer som uppkommer spontant. Med hjälp av transgena möss har Recio et al (94) påvisat *in vivo*-aktivering av transgener efter exponering för 1 410 mg BD/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar). Analys av mutationer i *lacI*-genen påvisade mutationer i A:T-baspar inducerade av BD, medan de spontana mutationerna i kontrolljuren fanns vid C:G-baspar (94, 103).

Två studier har visat att BD inducerar mutationer i *hprt*-genen hos möss. Möss som exponerats för 1 420 mg/m<sup>3</sup> BD under två veckor uppvisade en genomsnittlig *hprt*-mutationsfrekvens på  $6,2 \times 10^{-6}$  i T-celler hos mjälten, medan kontrollfrekvensen var  $1,2 \times 10^{-6}$  (25, 26). En dosberoende ökning i *hprt*-mutationer påträffades i splenocyter hos möss som exponerats för 450, 1 125 eller 2 924 mg/m<sup>3</sup> BD (6 tim/dag, 5 dagar). En trefaldig ökning i den spontana mutations-frekvensen konstaterades vid den högsta exponeringsnivån (107). Data om genotoxiciteten av BD hos råttor och möss *in vivo* verkar vara förenligt med den klart och tydligt starkare carcinogeniteten av föreningen hos möss än hos råttor (se Tabell 12).

## 9.6. Reproduktions- och utvecklingstoxikologi

Reproduktions- och utvecklingstoxikologiska effekter av inhalerad BD studerades i Sprague-Dawley-råttor och Swiss (CD-1)-möss med doser på 0, 90, 450 eller 2 249 mg/m<sup>3</sup> BD för 6 tim/dag under 6e - 15e dräktighetsdagarna. Djuren dödades vid 18e (möss) eller 20e dräktighetsdagen (råttor). Hos råttor konstaterades toxicitet bland mödrarna i 2 249 mg/m<sup>3</sup>-gruppen, vilket manifesterade sig i reducerad ökning av kroppsvikten (då fostrens och den växande livmoderns vikt subtraherats), och under första behandlingsveckan, reducerad viktökning. Under dessa omständigheter fanns inga tecken på utvecklingstoxikologiska effekter hos råttor. I motsats till detta tydde utvecklingstoxikologiska undersökningar hos möss på att foster kan vara mera känsliga än modern för inhalerad BD. Toxicitet bland mödrar konstaterades hos möss vid inhalation av 450 och 2 249 mg BD/m<sup>3</sup>, medan 90 mg/m<sup>3</sup> och högre koncentrationer av BD orsakade signifikant exponeringsrelaterade minskningar av genomsnittliga kroppsvikter hos foster av hankön. De genomsnittliga kroppsvikterna av foster av honkön minskade också vid 450 och 2 249 mg BD/m<sup>3</sup>. Ingen ökning i missbildningar kunde observeras i denna något-dera av studierna (85).

Små men koncentrationsrelaterade öknningar i onormal spermimorfologi observerades i B6C3F<sub>1</sub>-möss efter fem veckor av exponering för 450, 2 249 eller 11 245 mg BD/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar/vecka) (85).

Allt som allt har tre studier av dominant letalmutationer gjorts med BD. Morrissey et al (85) rapporterade att exponering av B6C3F<sub>1</sub>-möss av hankön för så låga koncentrationer av BD som 450 mg/m<sup>3</sup> ledde till en ökning i procenten av honor med två eller flera implantationer under den första veckan efter exponeringens början. Under de två första exponeringsveckorna ökade antalet döda implantationer (tidiga), även om inget egentligt förhållande mellan koncentration och respons kunde konstateras. Resultaten tyder på att de mera mogna cellerna i spermatogenesis (spermier och spermatider) kunde vara skadade.

Upptäckten av BD:s mutagenitet i groddceller styrktes senare av två oberoende studier med CD-1-möss (7) eller 102/E1 x C3H/E1-F<sub>1</sub>-hybrider (1). En signifikant dominant letaleffekt observerades i dessa två studier; den ena med 2 811 mg BD/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar/vecka under 10 veckor) (7) och den andra med 2 924 mg/m<sup>3</sup> (6 tim/dag under 5 dagar) (1).

Resultaten tydde på att den dominant letaleffekt som observerades efter 10 veckors exponering är representabel för de tre sista behandlingsveckorna, dvs. effekter i behandlade spermier och spermatider. Resultaten från de tre oberoende experimenten styrker slutsatsen om att BD orsakar mutationer i groddceller.

Mutageniteten av BD i groddceller hos hanmöss kan vara den mekanistiska förklaringen för det mycket ovanliga fyndet av missbildningar som härstammar från fadern i avkomman till CD-1-hanmöss som exponerats under 10 veckor för 28 mg/m<sup>3</sup> eller 2 811 mg/m<sup>3</sup> BD (6 tim/dag, 5 dagar/vecka). Även den lägre dosen orsakade en ökning i missbildningar och senare förekommande dödsfall, men inverksade inte på tidigare förekommande dödsfall (7).

## 9.7. Immunotoxicitet

Immunotoxiciteten av BD undersöktes i B6C3F<sub>1</sub>-möss som exponerades för 2 811 mg/m<sup>3</sup> (6 tim/dag, 5 dagar/vecka) under 12 veckor. Inga effekter konstaterades varken i humoral eller cellulär immunitet (108).

## 10. Studier i människa

### 10.1. Akuta effekter

BD är praktiskt taget icke-toxiskt vid inhalation och uppvisar endast svaga symptom på irritation. Koncentrationer på flera tusen ppm BD orsakar enligt olika rapporter irritation av huden, ögonen och strupen (53). I en studie med frivilligt deltagande arbetare konstaterades irritation av ögonen vid 6 - 8 timmars exponering för 4 498 mg BD/m<sup>3</sup> (20).

BD i vätskeform orsakar kylskador vid hudexponering; inga data om sensibilisering finns tillgängligt (37).

### 10.2. Effekter av upprepad exponering

Vissa indikationer på förändrade hematologiska effekter har rapporterats hos arbetare som exponerats för 45 mg BD/m<sup>3</sup> tillsammans med olika lösningsmedel (22).

Ett antal studier har rapporterats om effekterna av arbetsrelaterad exponering för BD i forna Sovjetunionen och i Bulgarien. Endast ett fåtal av dessa rapporter innehåller detaljerade uppgifter om koncentrationer av BD i arbetsplatsluften samt om längden av exponeringen. De rapporterade effekterna inkluderar hematologiska störningar, njurdysfunktion, laryngotrakeit, irritation i de övre andningsvägarna, konjunktivit, gastrit, olika hudsymptom och ett antal neurasteniska symptom, samt högt blodtryck och neurologiska störningar (53).

### 10.3. Genotoxiska effekter

Endast ett fåtal studier med människa har rapporterats. Cytogenetiska analyser av perifera blodlymfocyter gjorda bland arbetare inom BD-producerande industri i Finland som exponerats för låga nivåer av BD (vanligen lägre än 2,2 mg/m<sup>3</sup>) avslöjade inga exponeringsrelaterade effekter i frekvensen av kromosomaberrationer (CA), SCE eller MN (3).

Negativa resultat konstaterades även i studier av två andra grupper av arbetare som exponerats för något högre nivåer av BD under dess produktion (vanligen lägre än 2,2 mg/m<sup>3</sup>) och under produktionen av styren-butadiengummi (vanligen lägre än 4,5 mg/m<sup>3</sup>) i två produktionsanläggningar i Portugal och Tjeckiska republiken. Även om effekter av rökning återspeglades i en ökning av SCE och MN och åldern visade sig öka frekvensen av CA och MN hos kvinnor,

korrelerade inga av dessa cytogenetiska parametrar med BD-exponeringen som mättes med personburen utrustning (104).

Hittills är den enda konstaterade positiva BD-inducerade genotoxiska effekten i människa ett preliminärt fynd av ökade mutationer i *hprt*-genen hos arbetare i en BD-producerande anläggning i Texas, USA. Exponeringsnivåerna låg vanligen mellan 2,2 och 6,7 mg BD/m<sup>3</sup>. Endast icke-rökande arbetare deltog i undersökningen, där den specifika urinmetaboliten av BD, "MI" (1,2-dihydroxi-4-(N-acetylcysteinyl)butan) användes som markör för individuell exponering. En statistiskt signifikant korrelation konstaterades mellan nivåerna av MI-metaboliten i urin och frekvensen av *hprt*-mutanter i lymfocyter (71).

### 10.4. Carcinogena effekter

Både kohort- och case-control-studier av BD-exponering vid arbetsplatsen har rapporterats. Ett allmänt problem i dessa studier har varit svårigheten att bedöma graden av exponering retrospektivt. Medeltalet av ca 4000 BD-mätningar i arbetsplatsluften i anläggningar i USA är 17,8 mg/m<sup>3</sup> med en mycket stor standardavvikelse (54,0 mg/m<sup>3</sup>) (76, 77).

En kohort av arbetare i USA som sysslade med produktion av BD-monomeren uppvisade en statistiskt signifikant ökad risk för lymfosarkom och retikulosarkom. Även om det inte upptäcktes någon ökning i risken för leukemi i kohorten som helhet, kunde en antydning till ökad risk konstateras i en undergrupp av arbetare som exponerats "icke-rutinmässigt" för BD (34).

I en studie som gjordes i USA bland arbetare i två produktionsenheter för styren-butadiengummi, upptäcktes en antydning till ökad risk för leukemi med exponering för BD i en av anläggningarna. Ingen ökad risk för andra lymfatiska eller hematopoetiska cancer typer än leukemi kunde upptäckas (81, 82).

I en case-control-studie inom gummi-industrin observerades en betydande ökning i lymfatiska och hematopoetiska cancer typer, inkluderande lymfatisk leukemi, hos människor som arbetade med styren-butadienproduktion (79).

I en studie av arbetare vid åtta anläggningar i USA som producerade styren-butadiengummi, upptäcktes totalt ingen ökad risk för leukemi; en undergrupp av produktionsarbetare hade emellertid en signifikant ökad risk. Det fanns ingen tydlig ökad risk för "andra lymfatiska" cancer typer, även om en signifikant risk kunde konstateras för produktionsarbetarnas del (78).

En studie förknippade specifikt den ökade risken för leukemi med exponering för BD men inte för styren. I andra studier förekom ökad risk för leukemi och andra lymfatiska cancer typer bland arbetare som exponerats vid produktion av BD eller styren-butadiengummi. En senare analys av uppskattade höga exponeringsnivåer och lymfohemato-poetiska cancer typer i en kohort som fokuserats på specifika arbetsområden med exponering för butadien och ökad risk för leukemi och Hodgkins sjukdom (76) (Tabell 13).

Tabell 13. "Standardized mortality ratios" (SMR) i förhållande till lymfohematopoietiska cancertyper bland arbetare i tre anläggningar.

Dödsorsak	Konstaterade	SMR	95 % CI
Alla lymfohematopoietiska cancertyper	34	1,63	1,13 - 2,27
Lymfosarkom och retikulosarkom	5	1,16	0,37 - 2,70
Hodgkins sjukdom	5	2,43	0,78 - 5,68
Leukemi och aleukemi	15	1,81	1,01 - 2,99
Annan lymfatisk vävnad	9	1,49	0,68 - 2,82

CI, konfidensintervall

## 11. Dos-effekt och dos-respons-förhållanden

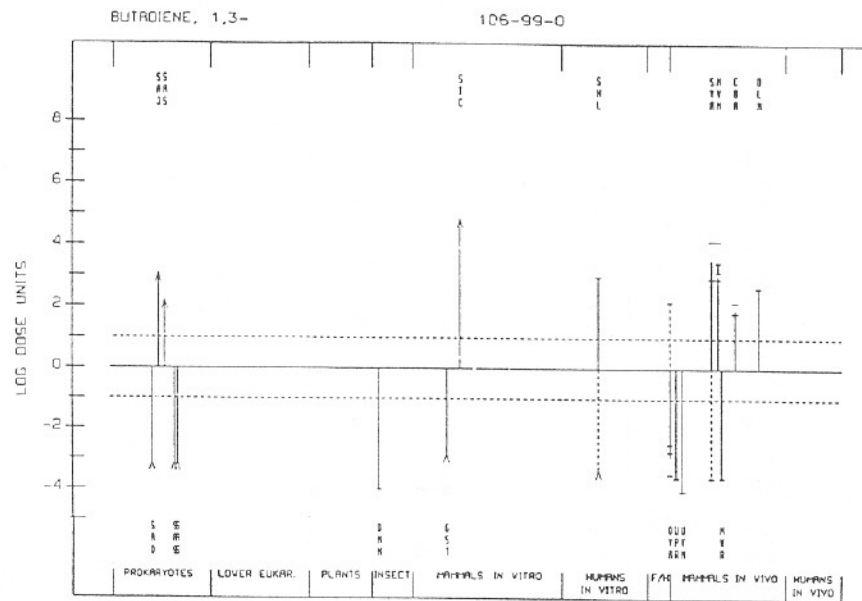
### 11.1. Genotoxikologiska korttidstester

I en nyligen gjord evaluering av carcinogeniteten av BD inkluderade IARC (53) dos-relaterade aktivitetsprofiler för genetiska och besläktade effekter av BD och dess två epoxidmetaboliter, monoepoxiden BMO och diepoxiden DEB (Figurena 2, 3, 4).

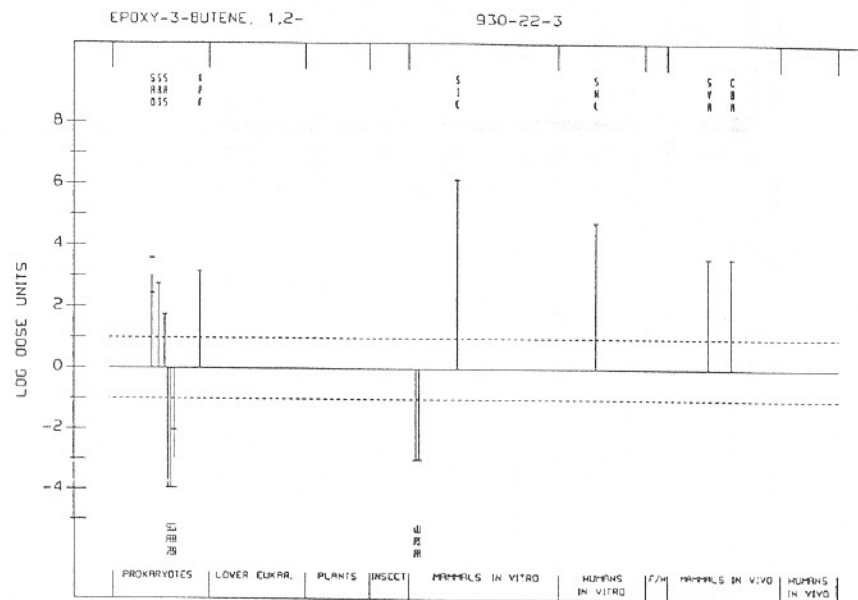
Aktivitetsprofilerna som har utvecklats av EPA i USA presenterar på ett lättåskådligt sätt testresultaten av olika substanser i en fylogenetisk sekvens enligt typen av testmetod, och värdena på y-axeln representerar den logaritmiskt transformerade lägsta effektiva dosen ("lowest effective dose", LED) och högsta ineffektiva dosen ("highest ineffective dose", HID) av den testade substansen. Begreppet "dos", såsom den används i denna rapport, tar inte i beaktande längden av behandling eller exponering och kan därför anses vara synonymt med koncentration. I praktiken blev koncentrationerna som användes i alla *in vitro*-test förvandlade till  $\mu\text{g/ml}$ , och i *in vivo*-test uttrycktes doserna i  $\text{mg/kg}$  kroppsvikt. Eftersom dosenheterna skrivs ut på logaritmisk skala, inverkar skillnaderna i molekylvikter av kemiska föreningar i de flesta fall inte på jämförelser av deras aktivitetsprofiler.

Höjden (längden) av profillinjen är en funktion av LED eller HID, vilket har ett samband med egenskaperna hos varje enskilda testsystem. Vid negativa testresultat definieras HID som den högsta testade dosen som inte ger någon märkbar toxicitet. På motsvarande sätt definieras LED som den lägsta effektiva dosen i samband med positiva testresultat

Den indirekta mutageniteten av BD förtydligas i Figur 2; aktiviteten ses endast när metabolisk aktivering används *in vitro*, eller när *in vivo*-testsystem används. En jämförelse av epoxidmetaboliterna visar att DEB (Figur 4) är 10-100 gånger effektivare än BME (Figur 3) i samma testsystem.



Figur 2. Genetisk aktivitetsprofil av BD (53).



Figur 3. Genetisk aktivitetsprofil av BME (53).

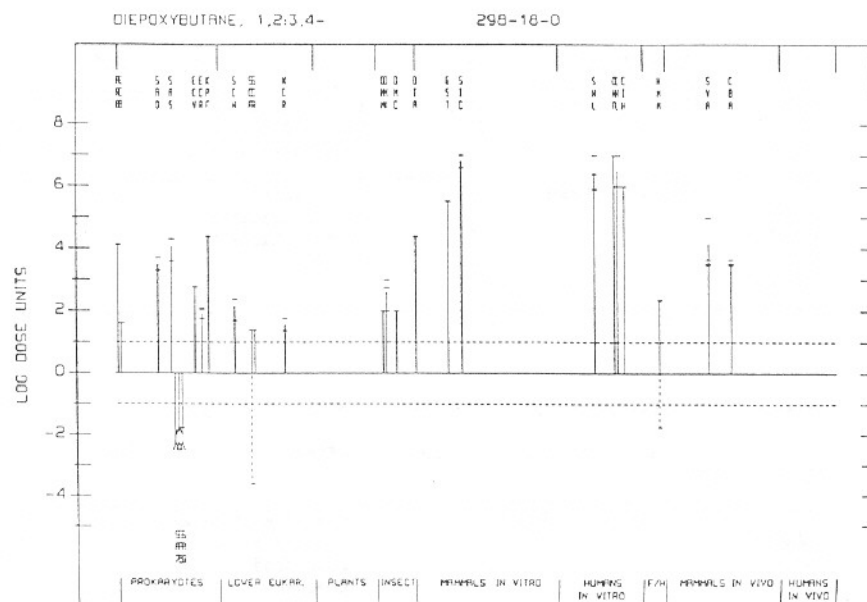


Figure 4. Genetisk aktivitetsprofil av DEB (53)

### 11.2. Långvarig exponering

De mest betydelsefulla undersökningarna för carcinogenitet har utförts med Sprague-Dawley-råttor som exponerats för två år (92), och med B6C3F<sub>1</sub>-möss som exponerats för 60-61 veckor (49) och upp till två år (84).

Hos råttor var BD carcinogent i flera olika organ vid de båda undersökta exponeringskoncentrationerna, 2 249 mg/m<sup>3</sup> och 17 992 mg/m<sup>3</sup> (Tabell 14). Faktum är att metabolismen av BD satureras hos råttor vid koncentrationer över 2 249 mg/m<sup>3</sup> (68), och detta kan vara förklaringen till platån i förekomsten av tumörer i hjärnan, livmodern och i mjölkkörtlarna.

Hos möss ökade förekomsten av lymfom, hemangiosarkom i hjärtat och neoplasi i lungor signifikant i båda könen vid båda exponeringskoncentrationerna (Tabell 15). En annan studie med möss utfördes för att bättre karakterisera förhållandet mellan exponering och respons vid lägre koncentrationer av BD. En ökning av annars mycket sällsynta fall av hemangiosarkom i hjärtat hos hanar

Tabell 14. Förekomsten av primära tumörer i Sprague-Dawley-råttor som exponerats för 1,3-butadien under två år (83).

Kön	Organ	Neoplasm	Exponeringskoncentration (mg/m <sup>3</sup> )*		
			0	2 249	17 992
Hanar	Bukspottkörtel	Exokrin <sup>a</sup>	3	1	11 <sup>b</sup>
	Testikel	Leydig-cell <sup>a</sup>	0	3	8 <sup>b</sup>
	Hjärna	Gliacell <sup>a</sup>	1	4	5
Honor	Livmoder	Sarkom i stromat <sup>a</sup>	1	4	5
		Carcinom <sup>a</sup>	0	0	4
	Zymbalkörtel	Follikelceller <sup>a</sup>	0	4	11 <sup>b</sup>
	Sköldkörtel	Fibroadenom <sup>a</sup>	32	64 <sup>b</sup>	55 <sup>b</sup>
		Carcinom	18	15	26
	Mjölkkörtel	Totalt <sup>a</sup>	50	79 <sup>b</sup>	81 <sup>b</sup>
Medeltalet av fibroadenom i mjölkkörteln/råttor med fibroadenom			1,38	3,70	3,33

Från Owen et al (92)

\*Exponeringskoncentrationer anges i ppm i originalartikeln

<sup>a</sup> Ökande trend,  $p < 0,05$

<sup>b</sup> Ökning i förhållande till kontroller i exponeringskammaren (0 mg/m<sup>3</sup>),  $p < 0,05$

Tabell 15. Förekomsten av primära tumörer i B6C3F<sub>1</sub>-möss som exponerats för 1,3-butadien under 60-61 veckor (83).

Organ	Neoplasm	Exponeringskoncentration (mg/m <sup>3</sup> )*					
		Hanar			Honor		
		0	1 406	2 811	0	1 406	2 811
Hematopoetiska systemet	Malignant lymfom	0/50 <sup>a</sup>	23/50 <sup>b</sup>	29/50 <sup>b</sup>	1/50 <sup>a</sup>	10/49 <sup>b</sup>	10/49 <sup>b</sup>
Hjärtat	Hemangiosarkom	0/50 <sup>a</sup>	16/49 <sup>b</sup>	7/49 <sup>b</sup>	0/50 <sup>a</sup>	11/48 <sup>b</sup>	18/49 <sup>b</sup>
Lungan	Alveolär-bronkial	2/50 <sup>a</sup>	14/49 <sup>b</sup>	15/49 <sup>b</sup>	3/49 <sup>a</sup>	12/48 <sup>b</sup>	23/49 <sup>b</sup>
Frammagen	Squamous-cell	0/49	7/40 <sup>b</sup>	1/44	0/49 <sup>a</sup>	5/42 <sup>b</sup>	10/49 <sup>b</sup>
Mjölkkörteln	Acinarcell	0/50	0/50	0/50	0/50 <sup>a</sup>	2/49	6/49 <sup>b</sup>
Äggstockarna	Granulosacell-	-	-	-	0/49 <sup>a</sup>	6/45 <sup>b</sup>	12/48 <sup>b</sup>
Levern	Hepatocellulär	8/50	6/49	2/49	0/50 <sup>a</sup>	2/47	5/49 <sup>b</sup>

Från Huff et al (49)

\*Exponeringskoncentrationer anges i ppm i originalartikeln

<sup>a</sup> Ökande trend,  $p < 0,05$ ; förekomsten av neoplastiska förändringar analyserades med "life table" metoder och med Fishers exakta test för parvis jämförelser av högdos- eller lågdos-grupper med kontroller

<sup>b</sup> Ökning i förhållande till kontroller i exponeringskammaren (0 mg/m<sup>3</sup>),  $p < 0,05$

**Tabell 16.** Förekomsten av primära tumörer i hanar av B6C3F<sub>1</sub>-möss som exponerats för 1,3-butadien under två år eller kortare tid (83).

Organ	Neoplasm	Exponering <sup>a</sup>				
		0	450 mg/m <sup>3</sup>	1406 mg/m <sup>3</sup>	702 mg/m <sup>3</sup>	1 406 mg/m <sup>3</sup>
		Kontroll	40 veckor (18000) <sup>b</sup>	13 veckor (18278) <sup>b</sup>	52 veckor (36504) <sup>b</sup>	26 veckor (36556) <sup>b</sup>
Hemato-poetiskt system	Lymfom	4/50 (9,0%)	8/50 (24,1%)	22/50 (56,1%)**	8/50 (35,0%)*	33/50 (87,2%)**
Hjärta	Hemangio-sarkom	0/50 -	15/50 (47,1%)**	7/50 (30,9%)**	33/50 (85,2%)**	13/50 (74,5%)**
Lunga	Alveolär-bronkial adenom eller carcinom	21/50 (47,5%)	36/50 (88,6%)**	28/50 (89,5%)**	32/50 (88,0%)**	17/50 (87,2%)**
Frammage	Squamös-cell papillom carcinom	1/50 (2,3%)	3/50 (10,2%)	7/50 (28,7%)**	9/50 (39,2%)**	10/50 (60,7%)**
Harders körtel	Adenom adenocarcinom	6/50 (13,5%)	27/50 (72,1%)**	23/50 (82,0%)**	30/50 (88,6%)**	13/50 (76,5%)**
Lever	Hepatocellulär adenom eller carcinom	21/50 (44,6%)	33/49 (82,4%)**	24/49 (80,3%)**	25/50 (75,9%)**	13/50 (77,3%)*
Preputial-körtel	Adenom eller carcinom	0/50 -	1/50 (3,5%)	5/50 (21,2%)**	4/50 (21,2%)**	3/50 (30,6%)**

Förekomst, antal djur med tumörer/antal undersökta djur; andelen djur med tumörer, justerade för mellankommande mortalitet med den kvantitativa poly-3 responsmetoden, ges i parentes.

<sup>a</sup> Exponeringen anges i ppm i originalartikeln

<sup>b</sup> Den totala kumulativa exponeringen i mg/m<sup>3</sup> x veckor

\* Signifikant skillnad ( $p < 0,05$ ), jämfört med kontroller (0 mg/m<sup>3</sup>)

\*\*  $p < 0,01$

(Tabell 16) och honor (Tabell 17) konstaterades även i denna studie. Förekomsten av lungtumörer ökade i hanmöss vid koncentrationer på 141 mg/m<sup>3</sup>, medan den lägsta carcinogena koncentrationen för induktion av lungtumörer hos honor var endast 14 mg/m<sup>3</sup>.

Ovannämnda data visar hur osedvanligt carcinogent BD är i möss.

**Tabell 17.** Förekomsten av primära tumörer i honor av B6C3F<sub>1</sub>-möss som exponerats för 1,3-butadien för två år eller kortare tid (83).

Organ	Neoplasm	Exponeringskoncentration (mg/m <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>					
		0	14.1	45	141	450	1 406
Hemato-poetiska systemet	Lymfom	6/50 (13,1%)	12/50 (27,2%)	11/50 (27,5%)	7/50 (20,2%)	9/50 (40,1%)*	32/80 (85,5%)**
Hjärtat	Hemangio-sarkom	0/50 -	0/50 -	0/50 -	1/49 (3,1%)	21/50 (71,9%)**	23/80 (83,4%)**
Lunga	Alveolär-bronkial adenom eller carcinom	4/50 (8,8%)	15/50 (33,0%)*	19/50 (46,5%)**	24/50 (61,1%)**	25/50 (81,5%)**	22/78 (82,4%)**
Frammage	Squamös-cell papillom eller carcinom	0/50 -	0/50 -	3/50 (7,8%)	2/50 (6,1%)	4/50 (22,5%)**	22/80 (82,6%)**
Harders körtel	Adenom adenocarcinom	8/50 (17,5%)	10/50 (22,7%)	7/50 (17,4%)	15/50 (41,2%)*	20/50 (70,9%)**	9/80 (58,0%)**
Levern	Hepatocellulär adenom eller carcinom	15/49 (33,3%)	14/49 (30,3%)	15/50 (36,4%)	19/50 (51,4%)	16/50 (64,9%)*	2/80 (21,7%)
Ägg-stockarna	Granulosacell-tumör	1/49 (2,3%)	0/49 -	1/48 (2,6%)	9/50 (26,3%)**	8/50 (41,1%)**	6/79 (46,5%)**
Mjölkkörteln	Carcinom eller adenoakantom	0/50 -	2/50 (4,5%)	4/50 (10,2%)*	12/50 (32,6%)**	15/50 (56,4%)**	16/80 (66,8%)**

Förekomst, antal djur med tumörer/antal undersökta djur; andelen djur med tumörer, justerade för mellankommande mortalitet med den kvantitativa poly-3 responsmetoden, ges i parentes

<sup>a</sup> Exponeringen anges i ppm i originalartikeln

\* Signifikant skillnad ( $p < 0,05$ ), jämfört med kontroller (0 mg/m<sup>3</sup>)

\*\*  $p < 0,01$

## 12. Tidigare evalueringar av internationella organisationer

Olika internationella samfund har evaluerat toxiciteten av BD. Carcinogeniciteten av BD har evaluerats vid tre olika tillfällen av IARC (50, 51, 53). I den senaste evalueringen, från 1992, ansågs det finnas tillräckliga bevis ("sufficient evidence") för BD:s carcinogenicitet i djur, medan de epidemiologiska bevisen hos människa var begränsade ("limited evidence"). Helhetsevalueringen av BD:s carcinogena risk för människa placerade denna substans i grupp 2A, vilket enligt

IARC:s klassificering medför att BD anses vara sannolikt carcinogen ("probably carcinogenic") i människa.

Enligt de olika nordiska ländernas klassificeringssystem för carcinogena substanser placeras BD i Norge i kategori I (tillräckliga bevis för carcinogenicitet), med en tilläggsklassificering som "medelmåttigt stark carcinogen" (kategori K2). I Sverige klassificeras den i grupp C av cancerframkallande ämnen, med riskutsagan "Kan ge cancer efter ofta upprepad inandning". I Finland placeras BD i klass 3 av carcinogena ämnen, vilket betyder att det beslut som statsrådet gett om avvärijande av cancerrisk i anslutning till arbete bör tillämpas.

De vetenskapliga bevisen för BD:s carcinogenicitet har evaluerats av CEC:s expertgrupp (21). Den Europeiska Unionens kategori för BD är 2 (substanser som skall betraktas som cancerframkallande i människa).

## 13. Evaluering av hälsorisker hos människa

### 13.1. Uppskattning av hälsorisk

Den arbetsmässiga exponeringen för BD är som högst inom den monomerproducerande industrin. En undersökning som gjordes i USA visade att exponeringsnivåerna under hela arbetsskiftet hos alla kategorier av BD-industri (monomer och polymer) låg under  $22,5 \text{ mg/m}^3$  (38, 39). Mätningar i Finland gav exponeringsnivåer under  $2,3 \text{ mg/m}^3$  i samband med monomerproduktion (3), medan något högre nivåer, mest under  $6,7 \text{ mg/m}^3$  (tidsvägt medelvärde) observerades i studier av BD-producerande anläggningar i Portugal och Tjeckiska Republiken (104).

Även om nivåerna av BD i omgivningen i allmänhet är endast bråkdel av luftkoncentrationerna i arbetsmiljön (den genomsnittliga koncentrationen av BD i stadsluften i USA uppskattas vara ca  $1,4 \mu\text{g/m}^3$ ), är BD en förening som praktiskt taget alla exponeras för eftersom det produceras vid förbränning av organiskt material (tobaksrök, trafikutsläpp, bränder).

Exponeringssituationer som medför hög risk förekommer främst i samband med produktion av BD, där korttidsexponering för nivåer över  $22,5 \text{ mg/m}^3$  och även  $224,9 \text{ mg/m}^3$  kan förekomma, speciellt i samband med provtagning ur cylindrar, tömning av behållare och servicearbeten (39).

Uppskattningar av hälsorisker av BD baserar sig på extrapoleringar från experimentell data. De hittills rapporterade epidemiologiska studierna ger starka bevis för en ökning av leukemi och/eller lymfohematopoetisk neoplas i samband med arbete inom BD-industri och många har även antytt en ökning av magcancer inom styren-butadiengummi-industrin. Exponeringssituationen inom dessa industrier är komplex, och olika studier har därför inte kunnat, på ett övertygande sätt, associera den ökande exponeringsrisken speciellt med BD.

Om riskuppskattningen baserar sig på carcinogenicitetsdata från möss som tolkats enligt en flerstegs tid-tumör-modell av Weibull (31), är den förväntade

risken mycket hög i jämförelse med existerande standarder inom arbetsmiljön och nuvarande exponeringsnivåer. Riskuppskattningarna extrapolerades från mus till människa på basen av kroppsvikten upphöjt till exponenten  $3/4$ , och medianen av livslängden hos möss likställdes med en livslängd på 74 år hos människa.

Uppskattningar av ökad risk för en livstids arbetsrelaterad exponering (8 tim/dag, 5 dagar/vecka, 50 veckor/år, under 45 år) för  $4,5 \text{ mg BD/m}^3$  varierade mellan 0,2 per 10 000 arbetare, baserade på hemangiosarkom i hjärtat hos honmöss, och 600 per 10 000 arbetare, baserade på lungtumörer hos honmöss. Även om betydande skillnader i upptag, metabolism och eliminering kan förekomma mellan olika arter, antyder resultaten att exponeringen för BD på arbetsplatsen borde minskas till lägsta möjliga nivå.

### 13.2. Rekommenderad basis för arbetsrelaterat exponeringsgränsvärde

BD är en exceptionellt effektiv genotoxisk carcinogen med hög aktivitet i möss och medelmåttig aktivitet i råttor. Dess carcinogenicitet i epidemiologiska studier måste ännu bekräftas, men helhetsintrycket av det totala epidemiologiska bevismaterialet, tillsammans med en biologisk sannolikhet, antyder en stark association med dess carcinogenicitet i människa.

Den arbetsrelaterade standarden för BD är  $22,5 \text{ mg/m}^3$  (TLV 8 h) i Norge och det hygieniska gränsvärdet i Sverige är  $1 \text{ mg/m}^3$ , medan den Finländska standarden fortfarande är  $110 \text{ mg/m}^3$ . Den av ACGIH föreslagna standarden för BD är  $4,4 \text{ mg/m}^3$ . (Se Appendix)

Det bör observeras att BD är en genotoxisk carcinogen för vilken en trygg, effektlös, exponeringsgräns inte kan ges. Data som presenteras i detta dokument uppmanar till en omvärdering av de nuvarande arbetsrelaterade standarderna för BD i de nordiska länderna.

## 14. Forskningsbehov

Det finns fortfarande behov av forskning för att klargöra riskerna av BD-exponering hos människa. De möjliga reproduktionstoxikologiska riskerna och mutagena effekterna i groddceller, som för närvarande inte är så väl definierade, måste undersökas närmare. Farmakokinetiska dos-responsmodeller som baserar sig på fysiologiska fakta borde finslipas för att klargöra (i) sambandet mellan exponering, dosen som når målet och biologiska effekter, och (ii) den grundläggande biologiska mekanismerna som är ansvariga för de observerade effekterna; det senare är viktigt för extrapolering av data från djur till människa, och från höga till låga doser. Biologiska markörer för exponering, dess effekter och individuella känslighet i människopopulationer borde utvecklas för att kunna detektera skadliga effekter i god tid, och för att kunna skrida till åtgärder för att kontrollera och minska hälsoriskerna vid BD-exponering.

## 15. Sammanfattning

Sorsa M, Peltonen K. 1,3-Butadien. Nordiska expertgruppen för kriteriedokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:117-162.

1,3-Butadien är en viktig industriell kemikalie med en uppskattad världsomfattande produktion som överstiger 5 miljoner ton. BD används huvudsakligen som monomer för produktion av en bred skala av polymerer och kopolymerer. Det största individuella användningsområdet är produktionen av styrenbutadiengummi för bilringar och närbesläktade produkter.

BD förekommer också som miljökontaminant i stadsluften, trafikutsläpp och tobaksrök. Denna rapport är en översikt av den relevanta litteraturen för diskussion av arbetsrelaterade exponeringsgränsvärden. Låg exponering för BD är karaktäristiskt för hela människosläktet. BD kräver metabolisk aktivering till reaktiva epoxider för att kunna bindas till DNA och initiera en kedja av händelser som leder till mutationer och cancer. Skillnader i metabolismen mellan olika djurarter, inkluderande både aktivering och detoxifiering, är därför mycket relevanta för dess toxiska verkningar och för riskuppskattning. Epoxidmetaboliterna av BD är mycket mutagena i olika testsystem.

BD är en substans med hög prioritet vid riskuppskattning, inte endast på grund av den omfattande exponeringen, men också med tanke på dess kända toxikologiska egenskaper. BD:s akuta toxicitet är mycket låg, men den orsakar tumörer i ett flertal organ hos möss och råttor. Möss har visat sig vara mycket känsligare än råttor. Trots detta är det fortfarande oklart i vilken grad BD orsakar cancer hos människa vid de konstaterade låga exponeringsnivåerna, även om epidemiologiska studier har avslöjat associationer mellan arbetsmässig exponering för BD och ökad dödlighet av lymfatiska och hematopoetiska cancertyper.

En engelsk version finns publicerad i *Arbete och Hälsa* 1994;36:1-43.

**Nyckelord:** Arbetsrelaterade exponeringsgränsvärden, artskillnader i metabolismen, butadien, carcinogenicitet, mutagenicitet.

## 16. Referenser

1. Adler I-D, Anderson D. Dominant lethal effects after inhalation exposure to 1,3-butadiene. *Mutation Res* 1994;309:295-297.
2. Adler I-D, Cao J, Filser JG, Gassner P, et al. Mutagenicity of 1,3-butadiene inhalation in somatic and germinal cells of mice. *Mutation Res* 1994;309:307-314.
3. Ahlberg RW, Sorsa M, Pfaffli P, Mäki-Paakkanen J, Viinänen R. Genotoxicity and exposure assessment in the manufacture of 1,3-butadiene. In: *WHO Occupational Health in the Chemical Industry*. Copenhagen: WHO, 1992: 199-204.
4. Albrecht OE, Filser JG, Neumann HG. Biological monitoring of 1,3-butadiene: species differences in haemoglobin binding in rat and mouse. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:135-143.
5. Aldrich Chemical Co. *Aldrich Catalog Handbook of fine chemicals 1994-1995*. Milwaukee WI: Aldrich Chemical Co, 1994: 255.
6. Amooe J, Hautala E. Odor as an aid to chemical safety: odor thresholds compared with threshold limit values and volatilities for 214 industrial chemicals in air and water dilution. *J Appl Toxicol* 1983;3:272-290.
7. Anderson D, Edwards AJ, Brinkworth MH. Male-mediated F1 effects in mice exposed to 1,3-butadiene. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:171-183.
8. Anonymous. Chemical profile: butadiene. *Chem Mark Rep* 1991;239:50.
9. Arce GT, Vincent DR, Cunningham MJ, Choy WN, Sarrif AM. In vitro and in vivo genotoxicity of 1,3-butadiene and metabolites. *Environ Health Perspectives* 1990;86:75-78.
10. Arnts RR, Meek SA. Biogenic hydrocarbon contribution to the ambient air of selected areas. *Atmosph Environ* 1981;15:1643-1651.
11. Autio K, Renzi L, Catalan J, Albrecht OE, Sorsa M. Induction of micronuclei in peripheral blood reticulocytes and bone marrow cells of rats and mice exposed to 1,3-butadiene by inhalation. *Mutation Res* 1994;309:315-320.
12. Bechtold WE, Strunk MR, Ward JB Jr, Henderson RF. Species differences in urinary butadiene metabolites: comparison of metabolite ratios in mice, rats and humans. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994, in press.
13. Berg S, Frostling H, Jacobsson S. Chemical analysis of fire gases with gas chromatography-mass spectrometry. *Proceedings of International Symposium on the Control of Air Pollution in the Work Environment, Part I*. Stockholm: Arbetarskyddsfonden 1978:309-321.
14. Bianchi A, Cook HA. Modified method for analysis of C2-C5 hydrocarbons in an aromatic-alkene matrix. *J Chrom* 1988;449:175-181.
15. Bolt HM, Schmiedel G, Filser JG, et al. Biological activation of 1,3-butadiene to vinyl oxirane by rat liver microsomes and excretion of the reactive metabolite by exposed rats. *J Cancer Res Clin Oncol* 1983;106:112-116.
16. Bond JA, Csanady GA, Leavens T, Medinsky MA. Research strategy for assessing target tissue dosimetry of 1,3-butadiene in laboratory animals and humans. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:45-56.
17. Bond JA, Dahl AR, Henderson RF, Dutcher JS, Mauderly JL, Birnbaum LS. Species differences in the disposition of inhaled butadiene. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;84:617-627.



18. Brunnemann KD, Kagan MR, Cox JE, Hoffmann D. Analysis of 1,3-butadiene and other selected gas phase components in cigarette mainstream and sidestream smoke by gas chromatography-mass selective detection. *Carcinogenesis* 1990;11:1863-1868.
19. Budavari S, Rahway NJ, eds. *The Merck Index*, 11th ed. Merck & Co, 1989:230-231.
20. Carpenter CP, Shaffer CB, Weil CS, Smyth HF. Studies of the inhalation of 1,3-butadiene; with a comparison of its narcotic effect with benzol, toluol, and styrene, and a note on the elimination of styrene by the human. *J Ind Hyg Toxicol* 1944;26:69-78.
21. CEC (Commission of the European Communities). *The Toxicology of chemicals. Carcinogenicity, Vol. III. 1,3-Butadiene*. 1991:111-119 (EVR13765 EN).
22. Checkoway H, Williams TM. A hematology survey of workers at a styrene-butadiene synthetic rubber manufacturing plant. *Am Ind Hyg Assoc Ass J* 1982;43:164-169.
23. Citti L, Gervasi PG, Turchi G, Bellucci G, Bianchini R. The reaction of 3,4-epoxy-1-butene with deoxyguanosine and DNA in vitro: synthesis and characterization of the main adducts. *Carcinogenesis* 1984;5:47-52.
24. Cochrane JE, Craft TR, Cariello NF, Skopek TR. Mutagenicity and toxicity of 1,2-epoxybutane and diepoxybutene in human lymphoblasts. *Environ Mol Mutag* 1991;19:17.
25. Cochrane JE, Skopek TR. Mutagenicity of 1,3-butadiene and its epoxide metabolites in human TK6 cells and in splenic T cells isolated from exposed B6C3F<sub>1</sub> mice. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. IARC Scientific Publications* 1993;127:195-204.
26. Cochrane JE, Skopek TR. Mutagenicity of butadiene and its epoxide metabolites: I. Mutagenic potential of 1,2-epoxybutene, 1,2,3,4-diepoxybutane and 3,4-epoxy-1,2-butanediol in cultured human lymphocytes. *Carcinogenesis* 1994;15:713-717.
27. Cote IL, Bayard SP. Cancer risk assessment of 1,3-butadiene. *Environ Health Persp* 1990;86:149-153.
28. Crouch CN, Pullinger DM, Gaunt IF. Inhalation toxicity studies with 1,3-butadiene - 23 Month toxicity studies in rats. *Am Ind Hyg Assoc* 1979;40:796-802.
29. Csanady GA, Guengerich FP and Bond JA. Comparison of the biotransformation of 1,3-butadiene and its metabolite, butadiene monoepoxide, by hepatic and pulmonary tissues from humans, rats and mice. *Carcinogenesis* 1992;13:1143-1153.
30. Cunningham MJ, Choy WN, Arce GT, et al. In vivo sister chromatid exchange and micronucleus induction studies with 1,3-butadiene in B6C3F<sub>1</sub> mice and Sprague-Dawley rats. *Mutagenesis* 1986;1:449-452.
31. Dankovic DA, Smith RJ, Stayner LT, Bailer AJ. Time-to-tumour risk assessment for 1,3-butadiene based on exposure of mice to low doses by inhalation. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. IARC Scientific Publications* 1993;127:335-344.
32. Deutscher Ausschuss für Gefahrstoffe. TRK-Wert für 1,3-Butadien. *TRGS* 1992;102:37-41.
33. Deutschmann S, Laib RJ. Concentration-dependent depletion of non-protein sulfhydryl (NPSH) content in lung, heart and liver tissue of rats and mice after acute inhalation exposure to butadiene. *Toxicol Lett* 1989;45:175-183.
34. Downs TD, Crane MM, Kim KW. Mortality among workers at a butadiene facility. *Am J Ind Med* 1987;12:311-329.
35. Dutch Expert Committee for Occupational Standards. *Health-based recommended occupational exposure limits for 1,3-butadiene*. Ministry of Social Affairs and Employment, The Hague RA:1990:1-43 (5/90).
36. Eller PM, ed. *NIOSH Manual of Analytical Methods*, 3rd ed, suppl 2. Washington, DC: US Government Printing office, 1987:1024. (DHHS Publ. No. 84-100.)
37. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECETOC). *Special Report No. 1. 1,3-Butadiene*. ECETOC, 1993:1-111.
38. Fajen JM, Lunsford RA, Roberts DR. Industrial exposure to 1,3-butadiene in monomer, polymer and end-user industries. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. IARC Scientific Publications* 1993;127:3-14.
39. Fajen JM, Roberts DR, Ungers LJ, Krishnan ER. Occupational exposure of workers to 1,3-butadiene. *Environ Health Persp* 1990;86:11-18.
40. Filser JG, Bolt HM. Inhalation pharmacokinetics based on gas uptake studies. VI. Comparative evaluation of ethylene oxide and butadiene monoxide as exhaled reactive metabolites of ethylene and 1,3-butadiene in rats. *Arch Toxicol* 1984;55:219-223.
41. Filser JG, Johanson G, Kessler W, et al. A pharmacokinetic model to describe toxicokinetic interactions between 1,3-butadiene and styrene in rats: predictions for human exposure. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. IARC Scientific Publications* 1993;127:65-78.
42. Goodrow T, Reynolds S, Maronpot R, Anderson M. Activation of K-ras by codon 13 mutations in C57BL/6 x C3HF<sub>1</sub> mouse tumours induced by exposure to 1,3-butadiene. *Cancer Res* 1990;50:4818-4823.
43. Guengerich FP, Kim D-H, Iwasaki M. Role of human cytochrome P4501IE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects. *Chem Res Toxicol* 1991;4:168-179.
44. Harman JN. Infrared absorption spectroscopy. In: Lodge JP, ed. *Methods of Air Sampling and Analysis*, 3rd ed. Chelsea, MI: Lewis Publisher, 1987:78-86.
45. Henderson RF, Bechtold WE, Sabourin PJ, Maples KR, Dahl AR. Species differences in the metabolism of 1,3-butadiene in vivo. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. IARC Scientific Publications* 1993;127:57-64.
46. Hendricks WD, Shultz GR. A sampling and analytical method for monitoring low ppm air concentrations of 1,3-butadiene. *Appl Ind Hyg* 1986;1:186-190.
47. HSE (UK Health and Safety Executive). *Methods for the determination of hazardous substances (MDHS) 53 - pumped, molecular sieve*. London: HMSO, 1986.
48. HSE (UK Health and Safety Executive). *Methods for the determination of hazardous substances (MDHS) 63 - diffusive, molecular sieve*. London: HMSO, 1989.
49. Huff JE, Melnick RL, Solleveld HA, Haseman JK, Powers M, Miller RA. Multiple organ carcinogenicity of 1,3-butadiene in B6C3F<sub>1</sub> mice after 60 weeks of inhalation exposure. *Science* 1985;227:548-549.
50. IARC. Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers. In: *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans Vol 39*, 1986:155-179.
51. IARC. Overall Evaluations of Carcinogenicity: An Updating of IARC Monographs Volumes 1 to 42. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Suppl. 7*, 1987:1-440.
52. IARC. Monograph on Gasoline. In: *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans Vol 45*. 1989:159-201.
53. IARC. Monograph on 1,3-Butadiene. *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans. Vol 54*; 1992:237-285.

54. Irons RD, Oshimura M, Barrett JC. Chromosome aberrations in mouse bone marrow cells following in vivo exposure to 1,3-butadiene. *Carcinogenesis* 1987;8:1711-1714.
55. Irons RD, Smith CN, Stillman WS, Shah RS, Steinhagen WH, Leiderman LJ. Macrocytic-megaloblastic anemia in male B6C3F<sub>1</sub> mice following chronic exposure to 1,3-butadiene. *Toxicol Appl Pharmacol* 83;1986:95-100.
56. Jauhar PP, Henika PR, MacGregor JT, et al. 1,3-Butadiene: induction of micronucleated erythrocytes in the peripheral blood of B6C3F<sub>1</sub> mice exposed by inhalation for 13 weeks. *Mutation Res* 1988;209:171-176.
57. Jeliitto B, Vangala RR, Laib RJ. Species differences in DNA damage by butadiene: role of diepoxybutane. *Arch Toxicol* 1989; Suppl. 13:246-249.
58. Kosaric N, Duvnjak Z, Farkas A, et al. Ethanol. In: Gerharz W, ed. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Vol A9 5th rev.ed. New York, NY: VHC Publisher, 1987:590.
59. Koivisto P, Neagu I, Kaltia S, Kostianen R, Peltonen K. Alkylation of purine bases with 3,4-epoxy-1-butene, a reactive metabolite of 1,3-butadiene. In: Hemminki K, Dipple A, Shuker D, Kadlubar F, Seegerback D, Bartsch H, eds. *DNA adducts: Identification and biological significance*. IARC Scientific Publications 1993;125:337-341.
60. Koivisto P, Peltonen K, Sorsa M. Analysis of 1,3-butadiene exposure using DNA adducts as a marker of internal dose. *EEMS 24th Annual meeting, Human biomonitoring in assessment of genetic risk*, Poznan, Poland, 1994.
61. Kraybill HF. Evaluation of public health aspects of carcinogenic/mutagenic biorefractories in drinking water. *Prev Med* 1980;9:212-218.
62. Kreiling R, Laib RJ, Bolt HM. Alkylation of nuclear proteins and DNA after exposure of rats and mice to [1,4-<sup>14</sup>C]1,3-butadiene. *Toxicol Lett* 1986b;30:131-136.
63. Kreiling R, Laib RJ, Filser JG, Bolt HM. Inhalation pharmacokinetics of 1,2-epoxybutene-3 reveal species differences between rats and mice sensitive to butadiene-induced carcinogenesis. *Arch Toxicol* 1987;61:7-11.
64. Kreiling R, Laib RJ, Filser JG, Bolt HM. Species differences in butadiene metabolism between mice and rats evaluated by inhalation pharmacokinetics. *Arch Toxicol* 1986;58:235-238.
65. Krishnan ER, Corwin TK. Control of occupational exposure to 1,3-butadiene. *Proceedings of 80th Annual Meeting of Air Pollution Control Association, Vol 5.*, Air and Waste Management Association, Pittsburgh, PA, 1987:2-14. (Report 87-84A.14.)
66. Krishnan ER, Ungers LJ, Morelli-Schroth PA, Fajen JM. *Extent-of-exposure study: 1,3-butadiene monomer production industry*. National Institute for Occupational Safety and Health, Cincinnati, OH, 1987.
67. Kuney JH, ed. *Chemencyclopedia 91, Vol 9*. Washington, DC: American Chemical Society, 1990:50.
68. Laib RJ, Filser JG, Kreiling R, Vangala RR & Bolt HM. Inhalation pharmacokinetics of 1,3-butadiene and 1,2-epoxybutene-3 in rats and mice. *Environ Health Perspect* 1990;86:57-63.
69. Laib RJ, Tucholski M, Filser JG, Csanady GA. Pharmacokinetic interaction between 1,3-butadiene and styrene in Sprague-Dawley rats. *Arch Toxicol* 1992;66:310-314.
70. Lawley PD, Brooks P. Interstrand cross-linking of DNA by difunctional alkylating agents. *J Med Biol* 1967;25:143-160.
71. Legator MS, Au WW, Ammenheuser M, Ward JB Jr. Elevated somatic cell mutant frequencies and altered DNA repair responses in nonsmoking workers exposed to 1,3-butadiene. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H and Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards*. IARC Scientific Publications 127;1993:253-263.
72. Leiderman LJ, Stillman WS, Shah RS, Steinhagen WH, Irons RD. Altered hematopoietic stem cell development in male B6C3F<sub>1</sub> mice following exposure to 1,3-butadiene. *Exp Mol Pathol* 1986;44:50-56.
73. Leuratti C, Jones NJ, Marafante E, Peltonen K, Kostianen R, Waters R. Biomonitoring of exposure to 1,3-butadiene: detection by high-performance liquid chromatography and <sup>32</sup>P-postlabelling of an adenine adduct formed by diepoxybutane. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards*. IARC Scientific Publications 1993;127:143-150.
74. Lundberg P. Scientific basis for Swedish occupational standards VII. *Arbete och Hälsa* 1986;35:22-29.
75. Löfroth G, Burton RM, Forehand I, et al. Characterization of environmental tobacco smoke. *Environ Sci Technol* 1989;23:610-614.
76. Matanoski G, Francis M, Correa-Villasenor A, et al. Cancer epidemiology among styrene-butadiene rubber workers. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards*. IARC Scientific Publications 1993;127:363-374.
77. Matanoski GM, Santos-Burgoa C, Schwartz L. Mortality of a cohort of workers in the styrene-butadiene polymer manufacturing industry (1943-1982). *Environ Health Perspect* 1990;86:107-117.
78. Matanoski GM, Schwartz L. Mortality of workers in styrene-butadiene polymer production. *J Occup Med* 1987;29:675-680.
79. McMichael AJ, Spirtas R, Gamble JF, Tousey PM. Mortality among rubber workers: relationship to specific jobs. *J Occup Med* 1976;18:178-185.
80. de Meester C, Poncelet F, Roberfroid M, Mercier M. The mutagenicity of butadiene towards *Salmonella typhimurium*. *Toxicol Lett* 1980;6:125-130.
81. Meinhardt TJ, Lemen RA, Crandall MS, Young RJ. Environmental epidemiologic investigation of the styrene-butadiene rubber industry. Mortality patterns with discussion of the hematopoietic and lymphatic malignancies. *Scand J Work Environ Health* 1982;8:250-259.
82. Meinhardt TJ, Young RJ, Hartle RW. Epidemiologic investigations of styrene-butadiene rubber production and reinforced plastic production. *Scand J Work Environ Health* 1978;4, Suppl 2:240-246.
83. Melnick RL, Huff JE. 1,3-Butadiene induces cancer in experimental animals at all concentration from 6.25 to 8000 parts per million. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. *Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards*. IARC Scientific Publications 127;1993:309-322.
84. Melnick RL, Huff J, Chou BJ, Miller RA. Carcinogenicity of 1,3-butadiene in C57BL/6 x C3HF<sub>1</sub> mice at low exposure concentrations. *Cancer Res* 1990;50:6592-6599.
85. Morrissey RE, Schwetz BA, Hackett PL, et al. Overview in reproductive and developmental toxicity studies of 1,3-butadiene in rodents. *Environ Health Perspect* 1990;86:79-84.
86. Morrow NL. The industrial production and use of 1,3-butadiene. *Environ Health Perspect* 1990;86:7-8.
87. National Toxicology Program (NTP). *Toxicology and Carcinogenesis Studies of 1,3-butadiene (CAS No. 106-99-0) in B6C3F1 mice (Inhalation Studies)*. National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC, 1984. (NTP TR No. 288. NIH Publication No. 84-2544.)

88. Neligan RE. Hydrocarbons in Los Angeles atmosphere. A comparison between the hydrocarbons in automobile exhaust and those found in Los Angeles atmosphere. *Arch Environ Health* 1962;5:581-591.
89. NIOSH (US National Institute for Occupational Safety and Health. *Manual of analytical methods*, 3rd ed. 2nd supp, US DHHS, Cincinnati, OH:1987.
90. Osterman-Golkar SM, Bond JA, Ward JBLEgator MS. Use of haemoglobin adducts for biomonitoring exposure to 1,3-butadiene. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:127-137.
91. Owen PE, Glaister JR. Inhalation toxicity and carcinogenicity of 1,3-butadiene in Sprague-Dawley rats. *Env Health Persp* 1990;86:19-25.
92. Owen PE, Glaister JR, Gaunt IF, Pullinger DH. Inhalation toxicity studies with 1,3-butadiene. 3. Two year toxicity/carcinogenicity study in rats. *Am Ind Hyg Assoc J* 1987;48:407-413.
93. Peltonen K, Koivisto P, Neagu I, Kostiaainen R, Kilpelläinen I, Sorsa M. Estimating internal dose of 1,3-butadiene: preliminary data on use of modified purine bases as markers of exposure. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:309-322.
94. Recio L, Bond JA, Pluta LJ, Sisk SC. Use of transgenic mice for assessing the mutagenicity of 1,3-butadiene in vivo. In: Sorsa M, Peltonen K, Vainio H, Hemminki K, eds. Butadiene and Styrene: Assessment of Health Hazards. *IARC Scientific Publications* 1993;127:235-243.
95. Ristau C, Deutschmann S, Laib RJ, Ottenwälder H. Detection of diepoxybutane-induced DNA-DNA crosslinks by cesium trifluoroacetate (CsTFA) density-gradient centrifugation. *Arch Toxicol* 1990;64:343-344.
96. Saltzman BE, Harman JN. Direct reading colorimetric indicators. In: Lodge JP, ed, *Methods of Air Sampling and Analysis*, 3rd ed. Chelsea, MI: Lewis Publisher, 1989:171-187.
97. Sasiadek M, Järventaus H, Sorsa M. Sister-chromatid exchanges induced by 1,3-butadiene and its epoxides in CHO cells. *Mutation Res* 1991;263:47-50.
98. Sasiadek M, Norppa H, Sorsa M. 1,3-Butadiene and its epoxides induce sister-chromatid exchanges in human lymphocytes in vitro. *Mutation Res* 261;1991:117-121.
99. Sax NI, Lewis RJ. *Hawleys Condensed Chemical Dictionary*, 11th ed. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 1987:177.
100. Schmidt U, Loeser E. Species differences in the formation of butadiene monoxide from 1,3-butadiene. *Arch Toxicol* 1985;57:222-225.
101. Shugaev BB. Concentrations of hydrocarbons in tissues as a measure of toxicity. *Arch Environ Health* 1969;18:878-882.
102. Siddigi AA, Worley FL. Urban and industrial air pollution in Houston, Texas. I. Hydrocarbons. *Atmosph Environ* 1977;11:131-143.
103. Sisk SC, Pluta LJ, Bond JA, Recio L. Molecular analysis of lacI mutants from bone marrow of B6C3F<sub>1</sub> transgenic mice following inhalation exposure to 1,3-butadiene. *Carcinogenesis* 1994;15:471-477.
104. Sorsa M, Autio K, Demopoulos NA, et al. Human cytogenetic biomonitoring of occupational exposure to 1,3-butadiene. *Mutation Res* 1994;309:321-326.
105. Startin JR, Gilbert J. Single ion monitoring of butadiene in plastics and food by coupled mass spectrometry-automatic headspace gas chromatography. *J Chrom* 1984;294:427-430.
106. Swedish Work Environment Fund. *Development and evaluation of biological and chemical methods for exposure assessment of 1,3-butadiene*. FIOH, Helsinki Finland and Univ Stockholm, Stockholm, Sweden, 1991. (Final report 1991-03-31)
107. Tate AD, van Dam FJ, de Zwart FA, van Teylingen CMM, Natarajan AT. Use of a cloning assay with high cloning efficiency to detect induction of 6-thioguanine resistant lymphocytes in spleen of adult mice following in vivo inhalation exposure to 1,3-butadiene. *Mutation Res* 1994, in press.
108. Thurmond LM, Lauer LD, House RV, et al. Effect of short-term inhalation exposure to 1,3-butadiene on murine immune functions. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;86:170-179.
109. Tice RR, Boucher R, Luke CA, Shelby MD. Comparative cytogenetic analysis of bone marrow damage induced in male B6C3F<sub>1</sub> mice by multiple exposures to gaseous 1,3-butadiene. *Environ Muagen* 1987;9:235-250.
110. Työministeriö. HTP-arvot 1993. *Turvallisuustiedote* 1993;25:1-44. (På finska)
111. US Environmental Protection Agency. *Cancer risk from Outdoor Exposure to Air Toxics, vol. I*. US Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, NY. 1990: ES-1-4-10. Final Report (EPA-450/1-90-004a).
112. US Occupational Safety and Health Administration. *Occupational Exposure to 1,3-Butadiene*. US Occupational Safety and Health Administration: 1990. (Fed Regist 55, 32736-32826.)
113. Verschuere K. *Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals*, 2nd ed. New York, NY: Van Nostrand Reinhold, 1983:295-297.
114. Victorin K, Busk L, Cederberg H & Magnusson J. Genotoxic activity of 1,3-butadiene and nitrogen dioxide and their photochemical reaction products in Drosophila and in the mouse bone marrow micronucleus assay. *Mutation Res* 1990;228:203-209.
115. Weast RC, Astle MJ, Beyer WH, eds. *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 69th ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 1989: C-161, D-212.

## Appendix

Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av 1,3-butadien i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	10	22		1988	1
Finland	50	110		1993	2
Island	10 20	20 40	C KTV	1989	3
Nederländerna	50	110		1994	4
Norge	1 1989	2.2 5	K		
Serige	0.5 5	1 10	C KTV	1993	6
USA (ACGIH)	10	22	A2	1994-95	7
(NIOSH)			lågsta möjliga värde, X	1990-91	8

A2: misstänkt humancarcinogen; C, betraktad som carcinogen; K, möjlig carcinogen  
KTV, korttidsvärde; X, carcinogen utan ytterligare karaktärisering

## Referenser

1. *Gränsvärder för stoffer og materialer*. København: Arbejdstilsynet, 1988 (Anvisning Nr.3.1.0.2).
2. *HTP-värden 1993*. Tammerfors: Arbetsministeriet, 1993 (Säkerhetsmeddelande 25). ISBN 951-47-8343-3.
3. *Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun*. Skrá yfir mengunarmörk. Reykjavik: Vinnuefirlit Ríkisins, 1989.
4. *De Nationale MAC-lijst 1994*. Den Haag: 1994 (Arbeidsinspectie P 145). ISBN 90-399-0600-9.
5. *Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere*. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Oslo: Direktoratet for arbeidsilsynet, 1989 (Bestillingsnr. 361).
6. *Hygieniska gränsvärden..* Stockholm: Arbetsarkyddsstyrelsen, 1993 (AFS 1993:9). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. *Rules and Regulations. Federal Register Vol.54*. Washington: US Government, 1990:2329-2984.

1994:42

## **Kriteriedokument från Nordiska Expertgruppen 1994**

*Redaktörer:*

*Brita Beije*

*Per Lundberg*

### Centrum för arbetsmiljöforskning

Arbetsmiljöinstitutet forskar, utbildar och informerar om arbetsmiljö. Institutet är Sveriges största centrum för forskning inom arbetsmiljöområdet. Forskning bedrivs inom ämnesområdena fysiologi, kemi, medicin, psykologi, teknik och toxikologi. Totalt arbetar 390 personer vid AI, varav drygt 300 med forskning. AI finns i Solna och Umeå.

Vid institutet bedrivs både tillämpad forskning och riktad grundforskning. Verksamheten sker i samarbete med bl a högskolor, företagshälsövärd och yrkesmedicinska kliniker, både inom och utom Norden.

Institutets satsning på 90-talet är den goda arbetsmiljön. Satsningen sker genom fyra särskilda forskningsprogram som inriktar sig på ungdomar, äldre, yrkesförare samt anställda inom sjukvården. Sedan flera år prioriterar institutet forskning om problem som: belastningsskador, lungsjukdomar, cancer och genetiska skador, hudsjukdomar, olycksfall, datorn som hjälpmedel samt elektromagnetiska riskfaktorer.

De senaste forskningsrönen inom arbetsmiljöområdet presenteras bl a i institutets vetenskapliga skriftserie *Arbete och Hälsa* samt i Undersökningsrapporter. Dessutom ges Utbildningsrapporter och Metodrapporter ut.

### Arbete och Hälsa

**Redaktör:** Anders Kjellberg.

**Redaktionskommitté:** Åsa Kilbom, Elisabeth Lagerlöf, Anders Colmsjö, och Nils Stjernberg.

**Grafisk produktion:** Eva Nilsson

© Arbetsmiljöinstitutet & författarna 1994  
Arbetsmiljöinstitutet,  
171 84 Solna, Sverige.

ISBN 91-7045-290-3

ISSN 0346-7821

Tryckt hos Graphic Systems

## Förord

Inom Nordiska Ministerrådets projekt för dokumentation av yrkeshygieniska gränsvärden har bildats en expertgrupp för att leda arbetet. Den består för närvarande av:

- |                      |  |
|----------------------|--|
| •Helgi Gudbergsson   | Heilsuverndarstödin, Reykjavik           |
| •Petter Kristensen   | Statens Arbeidsmiljøinstitutt, Oslo      |
| •Per Lundberg (ordf) | Arbetsmiljöinstitutet, Solna             |
| •Vesa Riihimäki      | Institutet för arbetshygien, Helsingfors |
| •Adolf Schaich Fries | Arbejdsmiljøinstituttet, København       |

Målsättningen för arbetet är att ge ett vetenskapligt underlag inför diskussion om yrkeshygieniskt gränsvärde. Underlaget syftar till att från publicerad vetenskaplig litteratur komma fram till ett dos-respons-/dos-effekt-förhållande och en kritisk effekt, så långt detta är möjligt. Det är däremot inte expertgruppens uppgift att ge direkta förslag till gränsvärden.

Det insamlade materialet värderas och ett dokumentförslag utarbetas av författare som föreslås av expertgruppen. Den nationelle ledamoten fungerar som referent. Förslaget diskuteras av expertgruppen och bearbetas därefter av författaren innan det blir antaget.

Redaktionell granskning sker vid gruppens sekretariat vid Arbetsmiljöinstitutet i Solna. Vetenskaplig sekreterare är Brita Beije.

Endast artiklar som bedömts vara pålitliga och av betydelse för just denna diskussion åberopas i detta dokument.

Biologiska halter är angivna i mol/l eller mg/kg, lufthalter i mg/m<sup>3</sup>. Om halterna i de refererade arbetena ej är uttryckta i dessa sorter är de såvitt möjligt omräknade med angivelse av den ursprungliga sorten inom parentes.

Denna volym består av en skandinavisk version av de dokument som under 1994 har publicerats på engelska. I innehållsförteckningen finns namnen på författarna samt det datum då respektive dokument godkänts av Nordiska Expertgruppen. Dokumenten är skrivna på danska, norska eller svenska.

Solna, december 1994

Brita Beije  
Sekreterare

Per Lundberg  
Ordförande

## INNEHÅLL

Dietylamin, Dietylentriamin, Dimetylamin, Etylendiamin (24 februari, 1994) E. Andersson, B. Järholm	7
Industriella enzymer (14 juni, 1994) J. Brisman	59
2-Etylhexansyra (14 juni, 1994) V. Riihimäki	87
1,3-Butadien (13 juni, 1994) M. Sorsa, K. Peltonen	117
Kobolt og koboltförbindelser (21 oktober, 1994) U. Midtgård, M.L. Binderup	163
N-Metyl-2-pyrrolidon (15 juni, 1994) B. Åkesson	235
Sammanfattning	260
Summary	260
Appendix (Dokument som publicerats från Nordiska Expertgruppen)	261

## Kobolt og koboltforbindelser

Uffe Midtgård  
Mona Lise Binderup<sup>1)</sup>

Arbejds miljøinstituttet  
Lersø Parkallé 105  
DK- 2100 København Ø

1) Nuværende adresse:  
Institut for Toksikologi  
Levnedsmiddelstyrelsen  
DK-2610 Søborg



## Inhold

1. Stofidentifikation
2. Fysiske og kemiske egenskaber
3. Produktion, forekomst og anvendelse
  - 3.1. Produktion
  - 3.2. Forekomst
  - 3.3. Anvendelse
4. Eksponeringsdata i arbejdsmiljøet
5. Måling og analyse af kobolt i arbejdsmiljøet
6. Toksikokinetik
  - 6.1. Absorption
  - 6.2. Distribution
  - 6.3. Elimination
7. Biologisk monitoring
8. Toksikologisk mekanisme
9. Effekter på dyr og effekter in vitro
  - 9.1. Akut toksicitet
  - 9.2. Kortids-inhalationsforsøg
  - 9.3. Langtids-inhalationsforsøg og intratracheal instillation
  - 9.4. Toksiske effekter efter oral, i.v. og i.p indgift.
    - 9.4.1. Kardiovaskulære effekter
    - 9.4.2. Blod og bloddannende organer
    - 9.4.3. Skjoldbruskkirtel
    - 9.4.4. Lever, bugspytkirtel og nyrer
    - 9.4.5. Andre organer
  - 9.5. Mutagenicitet og genotoksicitet
    - 9.5.2. Effekter på gærceller
    - 9.5.3. Effekter på planter
    - 9.5.4. Effekter i pattedyrceller
    - 9.5.5. Effekter in vivo
  - 9.6. Carcinogenicitet
    - 9.6.1. Uopløselige koboltforbindelser
    - 9.6.2. Opløselige koboltforbindelser
  - 9.7. Reproduktionsskadende effekter
    - 9.7.1. Effekter på kønsorganer og reproduktion
    - 9.7.2. Effekter på fosterudviklingen
  - 9.8. Andre undersøgelser
10. Effekter på mennesker
  - 10.1. Akutte effekter
  - 10.2. Hudirritation og sensibilisering
  - 10.3. Organeffekter efter gentagende eksponering

- 10.3.1. Respirationsorganerne
  - 10.3.2. Kardiovaskulære effekter
  - 10.3.3. Blod og bloddannendeorganer
  - 10.3.4. Skjoldbruskkirtel
  - 10.3.5. Andre organer
  - 10.4. Genotoksiske effekter
  - 10.5. Kræftfremkaldende effekter
    - 10.5.1. Erhvervsmæssig eksponering for kobolt
    - 10.5.2. Koboltholdige implantater
  11. Sammenhæng mellem eksponering, effekt og respons
    - 11.1. Data fra dyreforsøg
    - 11.2. Human data
      - 11.2.1. Effekter på åndedrætsorganerne
      - 11.2.2 Effekter på hjertet
  12. Evaluering af helbredsrisici
    - 12.1. Grupper med forøget risiko
    - 12.2. Vurdering af helbredsrisici
    - 12.3. Videnskabelig basis for en grænseværdi
  13. Forskningsbehov
  14. Resumé
  15. Referencer
- Appendix

## 1. Stofidentifikation

CAS-nr. 7440-48-4

RTECS-nr. GF8750000

Kemisk navn Kobolt

Synonymer Cobolt-59, Super cobalt, Aquacat, C.I. 77320, NCI-C60311

Formel Co

## 2. Fysiske og kemiske egenskaber

Kobolt er et stålgråt, hårdt metal, som er placeret mellem jern og nikkel i den periodiske tabel, og det har nogenlunde samme egenskaber som disse metaller. Kobolt korroderes ikke af luft og vand, og det er modstandsdygtigt overfor baser, men opløseligt i syrer. Kobolt er magnetisk og kan indgå i legeringer. Kobolt er endvidere et essentielt sporelement, som indgår i vitamin B<sub>12</sub>. Nogle vigtige konstanter for kobolt er angivet i Tabel 1.

Table 1. Nogle fysisk-kemiske data for kobolt (189,324).

Atomvægt	58,93
Atomnummer	27
Vægtfylde	8,92 g/cm <sup>3</sup>
Smeltepunkt	1493°C
Kogepunkt	3100°C
Opløselighed i vand	uopløseligt
Opløselighed i serum	200 mg/l (37°C)
Valens	2, 3; sjældent 4 and 5

De almindeligste oxidationstrin er +2 og +3, og de fleste koboltforbindelse er bivalente salte, eftersom den trivalente form er relativt ustabil (163,304). Kobolt(II)-salte har tendens til at være lyserøde på kationstadiet og blå på anionstadiet. De hydrerede koboltsalte er røde og danner røde opløsninger, som bliver blå ved tilsætning af koncentreret HCl. Data om opløseligheden af de koboltforbindelser, som er relevante for diskussionen af helbredseffekter, er angivet i Tabel 2.

## 3. Produktion, forekomst og anvendelse

### 3.1. Produktion

Det meste kobolt fremkommer som et biprodukt ved fremstilling af andre metaller som kobber, nikkel og bly. Ekstraktionen af kobolt foregår, afhængigt af grundmalmen, ved forskellige kemiske og elektrolytiske metoder, som involvere mange trin. Den årlige mineproduktion og metalproduktion var i perioden 1980-89 henholdsvis 24.567-48.903 tons og 18.084-36.720 tons. De vigtigste producenter af kobolt er Zaire, USSR, Zambia, Kanada og Norge (nævnt i faldende orden). Den vestlige verdens forbrug af kobolt androg ca. 85% af det totale verdensforbrug i årene fra 1983 til 1988, og den største forbruger var USA (133).

Til industriel anvendelse findes kobolt i forskellige former som "broken/cut cathodes", briketter, rondeller, "strips", pulver og folie. Pulverne betegnes som grove, fine eller ultrafine, afhængigt af partikelstørrelsen (133). Partikelstørrelsen af de pulvere, som anvendes ved fremstilling af hårdmetalforbindelser er sædvanligvis 50-150 µm, men fine (1-10 µm) og ultrafine (1-100 nm) pulvere anvendes også (210).

### 3.2. Forekomst

Kobolt er et relativt sjældent metal, som udgør ca. 0,002% af jordskorpen. Koboltholdige mineraler findes i naturen som sulfider, arsenider og oxider i forbindelse med andre metaller som kobber, nikkel og bly. Der er kun én naturligt forekommende isotop; <sup>59</sup>Co (163,304,324).

Indholdet af kobolt i luft afhænger af, hvorvidt jordpartikler hvirvles op af vinden. Luftkoncentrationen er omkring 1 ng/m<sup>3</sup>, men i stærkt industrialiserede byer kan koncentrationen overstige 10 ng/m<sup>3</sup> (133).

Den daglige kost for en 70 kg person indeholder 0,01-0,02 mg Co/kg vådvægt, og hovedparten af det indtagne kobolt er uorganisk. Koncentrationen af kobolt i drikkevand er sædvanligvis 0,1-5 µg/l. Grøntsager og kornprodukter indeholder 0,2-0,6 µg/g tørvægt, og mejeriprodukter indeholder 0,01-0,03 µg/g tørvægt (133).

Table 2. Forskellige koboltforbindelsers formel, molekylvægt, CAS-nr. og opløselighed. Data fra (137).

Navn	Formel	M.W.	CAS-nr.	Opløselighed i vand 1)	Opløselighed i serum
Kobolt	Co	58.94	7440-48-4	i	200 mg/l (37°C)
Kobolt(II) oxid	CoO	74.94	1307-96-6	3.13 mg/l	273 mg/l (37°C)
Kobolt(II,III) oxid	Co <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	240.80	1308-06-1	i	
Kobolt(III) oxid	Co <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	165.86	1308-04-9	i	
Kobolt(III) oxid hydrat	Co <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O	183.88	-	0.84 mg/l (37°C)	53.9 mg/l (37°C)
Kobolt(II) sulfid	CoS	90.99	1317-42-6	i	
Kobolt(II) chlorid	CoCl <sub>2</sub>	129.84	7646-79-9	529 g/l (20°C)	
Kobolt(II) chlorid hexahydrat	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	237.93	7791-13-1	767 g/l (0°C)	
Kobolt(II) sulfat	CoSO <sub>4</sub>	154.99	10124-43-3	393 g/l (25°C)	362 g/l (20°C)
Kobolt(II) sulfat heptahydrat	CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	281.10	10026-24-1	604 g/l (3°C)	
Kobolt(II) nitrat hexahydrat	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	291.03	10026-22-9	1338 g/l (0°C)	
Kobolt(II) carbonat	CoCO <sub>3</sub>	118.94	513-79-1	1.1 g/l (15°C)	
Kobolt(II) acetat tetrahydrat	(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Co·4H <sub>2</sub> O	249.08	71-48-7	s	
Kobolt(II) naphthenat	-	-	61789-51-3	s	
Kobolt(II) kalium nitrit	K <sub>3</sub> [Co(NO <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> ]	452.56	13782-01-9	9 g/l (17°C)	
Kobolt aluminat blåt	CoO·Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-	1333-88-6	i	

1) i = uopløseligt, s = opløseligt

Tablet 3. Arbejdspladskonzentrationen af kobolt i forskellige industrier.

Industri	Process	Konzentration 1) (mg Co/m <sup>3</sup> )	Ref
Håndmetal 2)	Pulverblanding	0,045-1,240	(9,134,167, 208,274,297)
	Pressing	0,010-0,250	
	Tørslibning	0,003-0,210	
	Vådslibning	0,003-0,092	
Koboltfremstill.	Risning	0,030-0,070	(268)
	Udvaskning/reduktion	0,004-0,025	
	Pakkeafdeling	0,010-0,100	
Koboltfremstill.	-	0,120 (0,001-1,800)	(307)
Koboltstøberi	Reduktion	0,049	(17)
	Electrolyse	0,239	
	Slibning	1,05	
Fabrik (kobolt-diamant søve)	Blandingsrum	0,135 (0,009-2,800)	(97)
	Ovrerum	0,015 (0,006-0,051)	
Fabrik (sintrede magneter)	Div.	0,018 (0,001-0,466)	(73)
Juvel	Diamantslibning	0,006-0,045	(315)
Porcelæn	Platedekoration initial	0,800 (0,068-8,61)	(258)
	efter forbedring af ventilation	<0,050	
Dentallaboratorium	Rum koncentration	0,005-0,010	(153)
	Polering af Co-Cr-leg.	<0,025-0,19	
Dentallaboratorium	smelning/refinishing	0,003-0,050	(185)
Svejsning m. stælit	oxyacetylen svejsning	0,004	(86)
	MAG-svejsning	0,161	

1) Tallene er gennemsnitsværdier og maksimum/minimum værdier (i parentes).  
2) Værdierne for de enkelte studier er angivet i Tabel 4.

Kobolt er et spormineral, der er en del af vitamin B<sub>12</sub> (cyanocobalamin), som er nødvendig for syntesen af hæmoglobin. Vitamin B<sub>12</sub> findes kun i animalsk føde, og den anbefalede daglige dosis for et voksent menneske er 3 µg svarende til 0,012 µg kobolt (82).

Tabel 4. Udvalgte eksempler på luftkoncentrationen af kobolt i relation til arbejdsprocesserne i hårdmetalindustrien.

Industri, land publikationsår	Process	Koncentration <sup>1)</sup> (mg Co/m <sup>3</sup> )	Ref.
Hårdmetal Sverige (1968-76) <sup>2)</sup>	Pulverblanding	0,06-1,24	(9)
	Presning	<0,01-0,25	
	Tørslibning	0,003-0,034	
	Vådslibning	0,003-0,08	
Hårdmetal Finland (1982)	Pulverblanding	0,290 (0,12-0,43)	(167)
	Presning	0,012 (0,008-0,015)	
	Formning	0,070 (0,05-0,10)	
	Slibning	0,150 (0,105-0,210)	
Hårdmetal Japan (1985)	Pulverblanding	0,186 (0,11-0,262)	(134)
	Automatisk presning	0,056 (0,009-0,210)	
	Formning	0,050 (0,008-0,144)	
	Vådslibning	0,056 (0,004-0,291)	
Hårdmetal Frankrig (1989)	Pulverblanding	0,045-0,272	(208)
	Presning	0,030-0,220	
	Formning	0,060-0,160	
	Finishing	0,030-0,210	
Hårdmetal USA (1992)	Slibning	0,017-0,120	(297)
Hårdmetal Italien (1994)	Blanding/formning	0,130-0,140	(274)
	Presning	0,230	
	Slibning	< 0,050	

1) Tallene er gennemsnitsværdier og maksimum/minimum værdier (i parentes).

2) Undersøgelisesperiode

### 3.3. Anvendelse

Koboltforbindelser har været anvendt som blåt farvestof i glas og keramik i tusinder af år, og kobolt anvendes i dag industrielt til mange formål. En af de vigtigste anvendelsesformål er i legeringer sammen med andre metaller som krom, nikkel, kobber, aluminium, beryllium og molybdæn. Kobolt anvendes for eksempel i højtemperaturlegeringer ("superalloys") i dele af gasturbiner og jetmotorer. Kobolt er en vigtig bestanddel af hårdmetallegeringer, hvor det fungerer som et bindemiddel for tungstenkarbid og andre metalkarbid. Hårdmetaller anvendes især i skærende og borende værktøj til metaller, sten og andre hårde materialer (76,163). Kobolt anvendes i legering sammen med nikkel og aluminium til fremstilling af permanente magneter, og sammen med krom og

molybdæn udgør kobolt en legering, der anvendes til implantater på grund af dens modstandsdygtighed overfor legems væsker (76).

Koboltforbindelser (salte og oxider) anvendes som katalysatorer for mange organiske reaktioner i den kemiske industri og ved olieraffineri. Et vigtigt anvendelsesområde for kobolt, især kobolt naphthenat, er som tørremiddel i maling, lak, fernis og trykkeri-farver. Koboltoxider, kobolt-zink-silikat og spineller (blandede metaloxider med en speciel krystalstruktur) som kobolt-aluminium-oxid og kobolt-magnesium-aluminium spinel anvendes som pigment i glas, emaljer, keramik og porcelæn (34,76,258).

### 4. Eksponeringsdata i arbejdsmiljøet

Den væsentligste eksponeringsvej i arbejdsmiljøet er gennem åndedrætsorganerne, men hudkontakt er også vigtig for eksponering i visse erhverv.

Størstedelen af den viden man har om inhalationseksponering angår hårdmetalindustrien og selve kobolt fremstillingen. Desuden er der data for diamantslibere, tandteknikere, og platemalere. De vigtigste data fra nogle nyere undersøgelser er resumeret i Tabel 3 og 4. Det skal anføres, at eksponeringsdata ikke altid er lige sammenlignelige på grund af forskelle i arbejdspladsventilation, indsamlingsteknik, etc. Tabellerne afspejler dog det generelle eksponeringsniveau, som ses med den arbejds-hygieniske standard, der eksisterer i industrialiserede lande i den vestlige verden idag.

Eksponering for luftbårent støv er velbeskrevet for adskillige arbejdsprocesser i hårdmetalindustrien. Generelt ser det ud som, at eksponeringsniveauet er højest for dem, der håndterer pulvere og lavest for vådslibere og sinterarbejdere (Tabel 4) ( se også ref. 23). Støvsammensætningen varierer fra proces til proces, men koboltandelen udgør sædvanligvis mellem 1,5 og 15% af den totale støvmængde (208). Isolerede koboltpartikler findes kun i de rum, hvor pulverne blandes (167). De individuelle partikler i koboltpulveret er meget porøse og synes at være et agglomerat af partikler med en diameter mindre end 1 eller 2 µm (167,210).

Alexandersson og Bergman (9) har i en undersøgelse af eksponeringsniveauet i den svenske hårdmetalindustri bemærket en forbedring gennem årene fra 1968 til 1976. Koponen et al. (167) fandt, at niveauet for totalstøv ved hårdmetalfremstilling i Finland lå fra 1,2 til 2,9 mg/m<sup>3</sup>, og koboltindholdet udgjorde fra mindre end 1% til 10% af støvet. Den gennemsnitlige koncentration af kobolt i luften hvor der blandes pulvere, presses eller slibes var henholdsvis 0,29, 0,012 og 0,15 mg/m<sup>3</sup>. Eksponeringsniveauer af samme størrelsesorden ses for hårdmetalarbejdere i Japan (134). I en nyere undersøgelse fra Japan er det rapporteret at 12% af hårdmetalarbejderne er eksponeret for mere end 0,05 mg Co/m<sup>3</sup>, og 6,8% var eksponeret for mere end 0,1 mg Co/m<sup>3</sup>. Spidsværdierne (korttidseksponering) kan være væsentligt højere end disse værdier, som det ses i en undersøgelse af to amerikanske fabrikker, der fremstiller tungstenkarbid (296). Den gennemsnitlige

spidsværdi i den ene af fabrikkerne var så høj som  $32,5 \text{ mg Co/m}^3$  ( $0,044\text{-}438 \text{ mg/m}^3$ ,  $n=18$ ) ved afvejning og blanding af pulvere, og koncentrationen overskred  $0,5 \text{ mg Co/m}^3$  i henholdsvis 16 og 32% af luftprøverne fra de to fabrikker. Med hensyn til vådslibning skal det bemærkes, at kobolt opløses og akkumuleres i køle-smøremidlerne og arbejderne er derfor eksponeret for kobolt i ioniseret form både ved hudkontakt med væskerne og ved indånding af aerosoler (81,288,297).

Roto (268) har målt totalstøv i luften med stationært måleudstyr i en koboltproducerende fabrik i Finland og har efterfølgende analyseret metalindholdet. I "ristningsbygningen" (det pyrometallurgiske stadium) var koboltkoncentrationen mellem  $0,03$  og  $0,07 \text{ mg/m}^3$ , og i "udvasknings" og reduktionsbygningen (det hydrometallurgiske stadium) var koncentrationen mellem  $0,004$  og  $0,025 \text{ mg/m}^3$ . I pakkeafdelingen lå koncentrationen mellem  $0,01$  og  $0,1 \text{ mg/m}^3$ . For nylig er eksponeringsniveauet blevet registreret ved anvendelse af personbåret udstyr i en belgisk virksomhed, der fremstiller koboltsalte, oxider og metallisk koboltpulver ved formaling af skrot og anvendelse af hydrometallurgisk oprensning (307). Den gennemsnitlige luftkoncentration var  $0,125 \text{ mg Co/m}^3$  ( $0,001\text{-}7,8 \text{ mg/m}^3$ ,  $n=82$ ), og 25% af værdierne var højere end  $0,5 \text{ mg/m}^3$ . På et koboltstøberi i Tyskland lå den gennemsnitlige luftkoncentration af kobolt mellem  $0,05$  og  $1 \text{ mg/m}^3$  (17).

Eksponeringsniveauerne er også blevet målt på en virksomhed, der producerer kobolt-diamant save (97). Arbejdsprocesserne omfattede afvejning og blanding af pulvere, koldpresning, opvarming og varmpresning. Luftkoncentrationen af kobolt i blandingsrummet og ovnrummet var henholdsvis  $0,135 \text{ mg/m}^3$  ( $0,009\text{-}2,8 \text{ mg/m}^3$ ,  $n=16$ ) og  $0,015 \text{ mg/m}^3$  ( $0,006\text{-}0,051 \text{ mg/m}^3$ ,  $n=7$ ). På en fabrik, der producerer sintrede magneter, var den gennemsnitlige koncentration af kobolt i åndingszonen ved forskellige processer  $0,018 \text{ mg/m}^3$  ( $0,001\text{-}0,466 \text{ mg/m}^3$ ,  $n=100$ ). OSHA's grænseværdi for kobolt ( $0,05 \text{ mg/m}^3$ ) var overskredet i 18% af prøverne (73).

Ved undersøgelser af støv fra små værksteder, hvor diamanter poleres med små slibeskiver, der er lavet af mikrodiamanter inlejret i en matrix af kobolt, fandt man en luftkoncentration af kobolt på mellem  $0,006$  og  $0,045 \text{ mg/m}^3$  ( $n=7$ ). Denne værdi er omkring 100 gange større end de værdier, der er fundet i situationer, hvor slibeskiver uden kobolt anvendes (315).

Ferri et al. (86) målte kobolteksponeringen hos svejsere, som anvendte stellite. Luftmålinger blev foretaget i åndingszonen over hele arbejdsdagen, og det gennemsnitlige eksponeringsniveau ved oxyacetylen svejsning og "MAG-svejsning" var henholdsvis  $0,004 \text{ mg Co/m}^3$  ( $n=5$ ) og  $0,161 \text{ mg/m}^3$  ( $n=7$ ).

Raffn et al. (258) har målt koncentrationen af kobolt i luft i danske porcelænsfabrikker, hvor koboltpigment (kobolt aluminat og kobolt-zink-silikat) anvendes i forbindelse med dekoration. Platemalerne var udsat for en gennemsnitlig koncentration på  $0,8 \text{ mg Co/m}^3$  ( $0,068\text{-}8,61 \text{ mg/m}^3$ ), og grænseværdien på  $0,05 \text{ mg/m}^3$  var overskredet med en faktor på mellem 10 og 50 gange i 9 ud af 19 målinger. Efter forbedring af ventilationssystemerne var den gennemsnitlige koncentration under  $0,05 \text{ mg Co/m}^3$  (se også ref. 211). Overvågning af kobolt-

koncentrationen de følgende år (1983-1991) viste gennemsnitlige værdier på  $372\text{-}593 \text{ nmol/m}^3$  ( $=0,022\text{-}0,035 \text{ mg Co/m}^3$ ) (52).

Kempf og Peiffer (153) målte koncentrationen af kobolt i luften i 40 dental-laboratorier i Tyskland. Stationær prøvetagning i mere end en uge (inkl. lørdag-søndag) i to laboratorier viste koncentrationer på mellem  $0,005$  og  $0,01 \text{ mg Co/m}^3$  med højeste værdier midt i ugen. Under polering af tandkroner lavet af kobolt-krom legeringer var koncentrationen i 66 af 79 prøver (personbåret udstyr) under  $0,025 \text{ mg/m}^3$ , mens 11 viste værdier i området fra  $0,025$  til  $0,1 \text{ mg/m}^3$ , og to prøver overskred  $0,1 \text{ mg/m}^3$ . I en tilsvarende undersøgelse af dentallaboratorier i Italien lå koboltkoncentration mellem  $0,003$  og  $0,05 \text{ mg/m}^3$  (185).

## 5. Måling og analyse af kobolt i arbejdsmiljøet

Bestemmelse af partikulært kobolt i luften involverer anvendelse af stationært eller personbåret måleudstyr med passende opsamlingsfiltre (celluloseester membranfiltre, polykarbonat membranfiltre, cellulosefibre filtre, eller polystyren-filtre) (230). Den mest populære og udbredte metode til kvantitativ bestemmelse af kobolt er atom absorptions spektrofotometri (AAS), men kolorimetri, emissions spektrometri, neutronaktiverings analyse, og røntgenfluorescens anvendes også (82,230). Af nyere metoder skal nævnes "inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy" (ICP-AES) (e.g., 73).

AAS anvendes ved analyse af kobolt i såvel luft som i biologiske prøver (e.g., 6,134,176,257). Metoden er tilstrækkelig følsom til at måle de koncentrationer, som normalt forekommer i arbejdsmiljøet. Der er rapporteret en detektionsgrænse på  $0,6 \mu\text{g}$  per prøve (231), hvilket svarer til omkring  $1 \mu\text{g/m}^3$  ved en luftstrøm på  $2 \text{ l/min}$  gennem filteret over en 4 timers prøvetagnings periode. Detektionsgrænsen for kobolt i urin ved anvendelse af "graphite furnace" AAS med Zeeman korrektion er  $0,001 \mu\text{g/l}$  eller lavere (297,36). For neutron aktiverings analyse er der rapporteret en detektionsgrænse på  $5 \text{ ng}$  kobolt i en biologisk prøve på  $5 \text{ ml}$  (181). (Vedr. detaljer på prøvetagningsområdet og analyse af kobolt, se NIOSH's "Manual of Analytical Methods" (231)).

Præcisionen og nøjagtigheden af AAS ved bestemmelse af kobolt er undersøgt ved sammenligning af resultaterne fra analyser af en kendt standardprøve på flere forskellige laboratorier. Man fandt, at koboltkoncentrationen gennemsnitligt var under 12% den sande værdi, hvilket betyder, at noget af prøven går tabt ved analysen. Desuden var variationskoefficienten 45,5% for alle 17 laboratorier og 2-10% for gentagne analyser på samme laboratorium (230). Man bør være opmærksom på denne usikkerhed i analyserne ved sammenligning af rapporterede eksponeringsniveauer.

## 6. Toksikokinetik

### 6.1. Absorption

Den væsentligste absorption af kobolt hos personer, der er eksponeret i arbejdsmiljømæssig sammenhæng, foregår gennem lungerne. At kobolt absorberes hurtigt gennem lungerne støttes af det faktum, at kobolt i urinen hos hårdmetalarbejdere øges gennem en arbejdsdag og arbejdsuge, og desuden også af det forhold, at der er en stærk korrelation mellem koncentrationen af kobolt i åndingszonen og koncentrationen i blod eller urin (4,11,307).

Resultater fra dyreforsøg har vist, at opløsningen og absorptionen af kobolt og kobolt forbindelser i lungerne afhænger af partiklernes fysiske-kemiske egenskaber (størrelse, porositet, opløselighed). I eksperimenter, hvor hunde blev udsat for koboltnitrat og koboltoxider (CoO, Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>), fandt man, at den absorberede mængde kobolt var faldende i rækkefølgen koboltnitrat, CoO og Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, hvilket er i overensstemmelse med de pågældende stoffers opløselighed (25,169). Derudover blev det vist, at absorptionen var omvendt proportional med partikkelstørrelsen (169). En anden undersøgelse viste, at ultrafine koboltpartikler (20 nm) er 4-6 gange mere opløselige i en kunstig lungevæske end partikler med "normal" størrelse (11 µm), og det deponerede kobolt gik hurtigt over i blodet (177). Forsøg med guldhvamstre viste, at inhalerede CoO-partikler blev absorberet indenfor 4-3 dage efter eksponeringen (319).

Optagelse fra mave-tarmkanalen er blevet undersøgt på mennesker efter oral indgivelse af koboltchlorid. Absorptionen synes at variere betragteligt, idet der er rapporteret værdier fra 1% til næsten 50% (291,314). Absorptionen reduceres, hvis kobolt indgives efter et måltid, eller hvis det forudgående er blevet ækvilibreret med serum albumin (243). Derimod er koboltabsorptionen signifikant forøget hos patienter med jernmangel (314). Den gastrointestinale absorption af koboltchlorid og koboltoxid er for nylig blevet undersøgt på frivillige forsøgspersoner (53). Optagelsen af det letopløselige koboltchlorid var væsentlig større end ved det uopløselige koboltoxid, og desuden var absorptionen hos kvinder signifikant højere end hos mænd.

Ved dyreforsøg har man fundet, at kobolt hurtigt optages gennem tarmens slimhinde, og den væsentligste absorption foregår i den forreste del af tarmen (46,277). I forsøg med rotter fandt man, at henholdsvis 28,9% og 33,5% af kobolt(II)chlorid og kobolt(III)chlorid blev absorberet, og absorptionen faldt når kobolt blev indgivet sammen med histidin, lysin eller EDTA (309). I modsætning hertil blev optagelsen forøget, når kobolt blev indgivet sammen med mælk. I lighed med forholdet hos mennesker, medfører jernmangel hos dyr en forøget optagelse af kobolt (277). Koboltnitrat optages også i stor udstrækning fra mave-tarmkanalen, hvorimod oralt indgivet koboltoxid kun optages i mindre omfang (0,5-5%) (169,319).

Optagelse af metallisk kobolt gennem huden er vist i et eksperiment, hvor 4 frivillige forsøgspersoner blev eksponeret ved at begrave højre hånd i en kasse

fyldt med hårdmetal pulver (5-15% kobolt) i 90 min (274). Koncentrationen af kobolt i urinprøverne var op til 10 gange højere efter eksponeringen sammenlignet med værdierne før forsøget. Forsøg med marsvin har vist, at optagelsen fra en vandig opløsning af koboltchlorid (2 ml, 0,24 M), der påføres huden, er tilstrækkelig stor til, at omkring halvdelen af forsøgsdyrene dør indenfor 11 dage (316). (Vedr. permeabilitetskoefficienter henvises til oversigtsartiklen af Hostynek et al. (130)).

### 6.2. Distribution

Resultaterne fra *in vitro* forsøg og dyreforsøg viser i al væsentlighed, at kobolt bindes til serumproteiner (især albuminer) og akkumuleres derefter i lever, nyre, hjerte og bugspytkirtel (39,46,59,78,90,106,183,293,299). Autoradiografi efter intravenøs indgift har vist, at kobolt forekommer i *plexus chorioideus*, men ikke i andre dele af CNS (46,90,293). Andre undersøgelser har også vist, at kun en meget ringe andel af den indgivne dosis genfindes i hjernen indenfor de første timer eller få dage efter intravenøs injektion af kobolt (59,106). Det skal dog bemærkes, at vævsfordelingen af kobolt synes at afhænge både af administrationsvej, dosis og tiden fra indgift til analysen foretages (78).

Autoradiografiske undersøgelser af drægtige mus har vist, at kobolt (koboltchlorid) ingivet intravenøst akkumuleres i bruskvæv hos moderen og i fosterets skelet (90,293). Man fandt også, at koboltkoncentrationen i myokardiet var dobbelt så høj som i leveren 16 dage efter injektionen. Forholdsvis høje koncentrationer af kobolt er fundet i hud, knogler og brusk hos hunde efter inhalations-eksponering for koboltoxider (25,169).

Undersøgelser af spormetaller i menneskevæv har vist, at kobolt forekommer i relativt høje koncentrationer i lever, nyre, hjerte og milt, hvorimod koncentrationen er lav i serum, hjerne og bugspytkirtel (245,328). I forsøg, hvor radioaktivt koboltchlorid blev injiceret intravenøst, fandt man, at koncentrationen af kobolt i leveren var 8 gange højere end den gennemsnitlige koncentration i hele kroppen 3 timer efter injektionen, og en forhøjet aktivitet kunne måles i leveren selv efter 1000 dage (291). Undersøgelser af afdøde patienter med kobolt-krom proteser synes også at antyde, at kobolt akkumuleres i lever, hjerte og nyre (209). Derudover har man fundet relativt høje koncentrationer af kobolt i hjertet hos patienter med cardiomyopati, der var opstået som resultat af overdrevent indtagelse af øl med tilsat kobolt (303) eller ved eksponering for kobolt i arbejdsmiljømæssig sammenhæng (24,135,154).

*In vitro* forsøg med kobolt og hårdmetalstøv har vist, at kobolt er mere opløseligt i homogenat af lungevæv og plasma end i en fysiologisk saltvandsopløsning. På celleniveau findes kobolt især i cytosoldelen, hvor henholdsvis 34% og 56% optræder sammen med proteiner og lavmolekylære forbindelser. Den høje andel, som findes sammen med lavmolekylære forbindelser, der antages at kunne diffundere frit, forklarer den lave koncentration af kobolt, der ses i visse tilfælde af hårdmetal lungesygdomme (79).

Sammenfattende viser disse undersøgelser, at det absorberede kobolt hurtigt fordeles i kroppen og akkumuleres i lever, nyrer og hjerte.

### 6.3. Elimination

Absorberet og intravenøst ingivet kobolt udskilles hovedsageligt gennem urinen (46,60,64,78,106,155,184,240,291). Ekskretion gennem galden udgør hos dyr kun 4-14% af den ved i.v. injektion indgivne dosis (46,54,184). Mængden, der udskilles gennem fæces, kan dog være lavere på grund af genoptagelse af kobolt i tarmen (54). Udskillelsen gennem fæces hos hunde, der inhalerede koboltoxid eller koboltnitrat, var en størrelsesorden mindre end ekskretionen gennem urinen (169).

Ekskretionen af kobolt er blevet undersøgt hos svenske hårdmetalarbejdere (4,6), og resultaterne tyder på en relativ hurtig udskillelse, idet koncentrationen i urinen faldt hurtigt indenfor de første 24 timer efter arbejdets ophør. Det hurtige, initiale fald følges af en mere langvarig og langsommere ekskretionsfase, og koncentrationen af kobolt i urinen var stadig højere end kontrolpersonernes efter 4 ugers ferie. Forhøjet indhold af kobolt i urinen er også blevet observeret hos et tilfælde af hårdmetalpneumokoniose, 4 måneder efter eksponeringen var ophørt (70). Nyere undersøgelser tyder på, at koboltudskillelsen foregår hurtigere hos personer, som ikke tidligere har været eksponeret for kobolt (221).

Forsøg med oral eller intravenøs indgift af koboltchlorid i mennesker har vist, at gennemsnitlig 22% af totaldosis udskilles i urinen den første dag, og udskillelsen gennem fæces andrager kun 20% af den mængde, der udskilles gennem nyrene (291). Desuden fandt man, at udskillelsen fra hele organismen følger en multi-eksponentiel kurve, hvor den biologiske halveringstid for den initiale komponent var henholdsvis 0,37 d og 0,71 d hos to personer og halveringstiden for den langsomme (fjerde) komponent var omkring 800 d (291). I et tilfælde, hvor en arbejder ved et uheld indtog radioaktivt koboltchlorid, var den biologiske halveringstid for den hurtige -, intermedie -, og langsomme komponent af eliminationskurven henholdsvis 0,47 d, 2,7 d, og 59 d (220). Der er en betragtelig variation i udskillelsen af kobolt i urinen, og en forøget ekskretion ses sædvanligvis hos fastende personer og hos personer med jernmangel (243,292). Desuden er der evidens for, at kvinder udskiller kobolt meget hurtigere end mænd (53).

Koncentrationen af kobolt i lungevæv hos personer med hårdmetalpneumokoniose er ofte forholdsvis lav eller ligger indenfor de normale grænser (e.g., 63, 67, 164, 203, 239, 270), hvilket tyder på, at eliminationen fra lungerne forgår hurtigt. Dyreforsøg med inhalation af metallisk kobolt og mere eller mindre opløselige koboltforbindelser ( $\text{CoO}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ ) har vist, at hovedparten af kobolten elimineres fra lungerne indenfor få dage (96,169,319). For eksempel fandt man i forsøg med rotter, der inhalerede ultrafine koboltpartikler, at halveringstiden for den hurtige og langsomme komponent af eliminationskurven var henholdsvis 53 t og 156 t, og 75% af den initiale lungebelastning var elimineret indenfor 3 dage (177). På samme måde var praktisk taget al kobolttoxicid ( $\text{CoO}$ ) elimineret fra

lungerne 6 d efter eksponeringen hos guldhamstre (319). I modsætning til de mere opløselige koboltforbindelser foregår eliminationen af inhaleret  $\text{Co}_3\text{O}_4$  fra lungerne mere langsomt (25, 169).

En serie undersøgelser af dyr og frivillige forsøgspersoner har vist, at der er store artsforskelle i eliminationen af  $\text{Co}_3\text{O}_4$ . Større dyr havde en langsommere elimination fra lungerne end små gnavere, og eliminationen afhang også af dyrenes alder (22, 58, 168). Den biologiske halveringstid for elimination af  $0,9 \mu\text{m}$   $\text{Co}_3\text{O}_4$ -partikler var 240 d for bavianer, 90 d for hunde og 35 d for rotter. Hos mennesker derimod var kun omkring 50% af den initiale lungebelastning elimineret efter 6 mdr (91).

Data fra mennesker, som ved et uheld har været eksponeret for  $^{60}\text{Co}$  (og dets oxid), har vist halveringstider af størrelsesordenen 664 d til 17 år for den langsomme komponent af eliminationskurven (124, 228). Fortolkningen af disse data kompliceres imidlertid af, at identiteten af de inhalerede forbindelser ikke var afklaret.

## 7. Biologisk monitorering

Resultaterne fra nogle enkelte undersøgelser af koboltkoncentrationen i blod og urin fremgår af Tabel 5. Det ses, at koncentrationen af kobolt i blod og urin hos personer uden erhvervmæssig eksponering for kobolt er henholdsvis 0,2-1,9  $\mu\text{g/l}$  og 0,3-2  $\mu\text{g/l}$ . Den individuelle variation er betragtelig, og der er en tendens til, at rygere har højere koncentrationer af kobolt i blod og urin end ikke-rygere, hvilket tilskrives koboltindholdet i tobak (6,11). Hos individer med erhvervmæssig eksponering for kobolt er niveauet af kobolt forhøjet i både blod og urin, og der er også her en tendens til højere koncentrationer hos rygere sammenlignet med tilsvarende eksponerede ikke-rygere (4).

Adskillige undersøgelser har vist en korrelation mellem kobolt i urin (eller blod) og koboltkoncentrationen i luftprøver fra arbejdspladserne (6, 11, 97, 134, 297, 307). For eksempel fandt man i en større japansk undersøgelse af 175 hårdmetalarbejdere (134), at korrelationskoefficienten for kobolt i blod og kobolt i luft var 0,96 ( $P < 0,001$ ), og korrelationskoefficienten for kobolt i urin og kobolt i luft var 0,99 ( $P < 0,001$ ). Anvendes resultaterne fra denne undersøgelse, vil et gennemsnitligt eksponeringsniveau på  $0,05 \text{ mg/m}^3$  (den danske grænseværdi for kobolt) resultere i en koncentration af kobolt i urin på  $34,4 \mu\text{g/l}$ . Denne værdi stemmer rimeligt overens med, hvad der er rapporteret i andre undersøgelser (e.g., 4,297). Korrelationen synes imidlertid at afhænge af tidspunktet for prøvetagning (276), og det er ikke i alle undersøgelser, man har kunnet påvise en tydelig korrelation mellem kobolt i luft og kobolt i urin (208,274,275). I en enkelt undersøgelse har man forklaret manglen på korrelation mellem kobolt i urin og kobolt i luft med, at kobolt også optages ved direkte hudkontakt, hvis der er meget ringe arbejdshygieniske forhold (274).

**Tabel 5.** Kobolt i blod og urin (gennemsnit  $\pm$  SD) hos personer med eller uden erhvervs-mæssig eksponering for kobolt. Bemærk: Undersøgelsespopulationerne har været eksponeret overfor forskellige typer koboltforbindelser, e.g. metallisk Co (hårdmetal arbejdere, koboltstøberiarbejdere), koboltpigment (plattemalere), og uspecificerede koboltforbindelser (støberiarbejdere).

Undersøgelsespopulation	Co i luft (mg/m <sup>3</sup> )	Co i urin ( $\mu$ g/l)	Co i blod ( $\mu$ g/l)	Ref
<b>Hårdmetalarbejdere:</b>				
Pulverarbejdere	0,186 $\pm$ 0,108	148 $\pm$ 14	10,8 $\pm$ 0,3	(134)
Vådslibere	0,092 $\pm$ 0,092	68 $\pm$ 87	4,3 $\pm$ 3,9	
"Shapers"	0,050 $\pm$ 0,035	41 $\pm$ 60	5,2 $\pm$ 3,1	
Sinter arbejdere	0,028 $\pm$ 0,030	10 $\pm$ 10	2,6 $\pm$ 1,0	
<b>Hårdmetalarbejdere:</b>				
Ikke-rygere	0,06	35 $\pm$ 64		(4)
Rygere	0,06	52 $\pm$ 64		
<b>Ikke-rygere</b>				
Ikke-rygere	0,005-0,01	17 $\pm$ 83		(4)
Rygere	0,005-0,01	38 $\pm$ 68		
<b>Hårdmetalarbejdere:</b>				
Vådslibere	0,055	34 $\pm$ 7		(297)
Tørslibere	0,021	12 $\pm$ 6		
<b>Koboltstøberiarbejdere:</b>				
Slibere	1,05	438	47,9	(17)
Elektrolysearb.	0,239	113	18,6	
Reduktionsarb.	0,049	19	4,9	
<b>Plattemalere</b>				
Plattemalere	0,050	77 $\pm$ 177	2,2 $\pm$ 3,7	(258)
<b>Kontorarbejdere</b>				
Kontorarbejdere	-	2 $\pm$ 1	1,9 $\pm$ 1,1	(134)
<b>Kontorarbejdere</b>				
Ikke-rygere	-	0,3 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,3	(4,11)
Rygere	-	0,6 $\pm$ 0,5	0,5 $\pm$ 0,3	
<b>Ueksponerede kontroller</b>				
Ueksponerede kontroller	-	0,9 $\pm$ 2,2	0,2 $\pm$ 0,1	(258)

Det er desuden klart, at kobolt koncentrationen i blod og urin også må afhænge af identiteten af de koboltforbindelser, som arbejderne er eksponeret for. Dette støttes bl.a. af det faktum, at plattemalere, som er eksponeret for uopløseligt koboltpigment (kobolt aluminat), har normale koncentrationer af kobolt i urin, mens de, der er eksponeret for en mere opløselig koboltforbindelse (kobolt-zink-silikat), har 10 gange så højt et indhold af kobolt i urinen (257). Desuden er det for nylig blevet vist i en stor belgisk undersøgelse, at der ikke er nogen signifikant

korrelation mellem kobolt i luft og kobolt i urin (eller blod) hos arbejdere, der er eksponeret for *uopløselige* koboltoxider (195). Derimod var der en god korrelation mellem kobolt i luft og kobolt i både blod og urin hos arbejdere, der er eksponeret for metallisk kobolt, koboltsalte og hårdmetal.

Eftersom koboltkoncentrationen i urinen falder hurtigt, når eksponeringen ophører (4, 6, 276), vil koncentrationen i urinprøver, som tages efter en arbejdsdag være en god indikator for det aktuelle eksponeringsniveau.

Medens kobolt i blod og urin afspejler det aktuelle eksponeringsniveau, er det foreslået, at koncentrationen af kobolt i hår og negle kunne bruges som et index for forudgående eksponering (30,70,135). For eksempel var koboltkoncentrationen i pubishår og tånegle hos en patient med hårdmetalpneumokoniose henholdsvis 4200 ng/g og 31500 ng/g, hvor normalværdierne ligger på hhv. 420 ng/g og 25 ng/g (70). Pålideligheden og dermed anvendeligheden af denne type prøver ved monitoring af eksponering er dog tvivlsom på grund af muligheden for direkte kontaminering.

## 8. Toksikologisk mekanisme

Kobolt synes at påvirke adskillige biokemiske processer ved at interferere med makromolekyler og enzymesystemer. Kobolt har desuden en kompetitiv effekt overfor andre metal-ioner hvad angår absorption fra mave-tarmkanalen, og kobolt kan derved skabe mangel på andre essentielle stoffer. Lever- og nyrevæv fra rotter, som har været udsat for kobolt, viser en markant nedsættelse af den respiratoriske aktivitet (68,75), og isolerede mitochondrier fra hjertemusklen har en nedsat evne til at oxidere fedtsyrer og pyruvat (321). Denne effekt kan bero på dannelsen af komplekser mellem kobolt-ionen og sulfhydryl på dihydrolipoinisyre; et enzym der er nødvendigt for oxidativ dekarboxylering af pyruvat og alfa-ketoglutarat (2,3,75,317). Det forholder sig dog ikke sådant, at kobolt har en universel hæmmende effekt på alle —SH enzymer (187).

Kobolt har også en indirekte effekt på cytokrom P-450 katalyserede reaktioner. Dette sker på den måde, at kobolt på den ene side hæmmer biosyntesen af heme-molekylet (inhiberer ALA-syntetase aktiviteten) og samtidig fremmer nedbrydningen af molekylet (induktion af heme-oxygenase) (19,51,201,284). I modsætning til resultaterne fra akutte forsøg, er der evidens for, at langvarig indgift af koboltsalte kan forøge indholdet af cytokrom P-450 og heme i leveren (149). Kobolt-ioner har også vist sig at kunne oxidere cellulært glutathion, og de er tillige istand til at danne reaktive hydroxylagtige forbindelser ved tilstedeværelsen af hydrogenperoxid (188,198). Derudover er der mange undersøgelser, som viser, at kobolt interferer med DNA-replikationen og DNA-reparationsprocesserne (e.g., 102,117,205,311).

Mekanismen bag koboltinducerede lungesygdomme (hårdmetal lungesygdomme) kendes ikke i detaljer. Det er blevet foreslået, at de kroniske inflammationske forandringer sammen med systemiske forandringer (vægttab) kan skyldes en koboltbetinget frigivelse af en faktor ("tumour necrosis factor") fra



sensibiliserede mononukleære celler i lungerne (265). Desuden er det også muligt, at effekten af kobolt på lungerne kan relateres til oxidativt stress på grund af oxidant-dannelse fra endogent hydrogenperoxid (226). Koboltasthma synes at involvere både immunologiske og ikke-immunologiske mekanismer (286).

Der er adskillige faktorer, som kan påvirke toksiciteten af kobolt. Inhalationsforsøg med dyr tyder for eksempel på, at kobolts specifikke lungeeffekter (dannelse af type II celle-noduli med sekundær påvirkning af makrofager) potentières ved samtidig eksponering for nikkel eller krom (139-141).

Forsøg med implantering af stoffer i lufrøret på rotter tyder endvidere på, at kobolts toksiske effekter på lungerne forstærkes ved samtidig instillation af tungstenkarbid (180). Dette støttes af *in vitro* forsøg, som viser, at kobolt under tilstedeværelsen af tungstenkarbid har en højere opløselighed og større cytotoxisk potentiale, end hvis kobolt optræder alene (196,197).

Epidemiologiske undersøgelser har dokumenteret, at kombinationen af rygning og kobolteksponering forøger hyppigheden af symptomer fra lunger og luftveje, og selve lungefunktionen synes også at være mere påvirket end ved eksponering for kobolt alene (5,73,307).

*In vitro* forsøg har vist, at forudbehandling af celler med zink medfører dannelse af cellulært metallothionein (metalbindende protein), som effektivt beskytter mod de cytotoxiske effekter af kobolt (199).

Endelig skal det nævnes, at aminosyrer og proteiner i kosten har en beskyttende effekt overfor den akutte toksicitet af koboltsalte (320). Endvidere er de toksiske effekter på hjertemusklens meget mere udtalte hos dyr, der er karakteriseret af proteinmangel (266).

## 9. Effekter på dyr og effekter *in vitro*

### 9.1. Akut toksicitet

Kobolt og koboltforbindelser har generelt en lav akut toksicitet (190,300). Den laveste observerede dødelige dosis efter oral indgift af metallisk kobolt strækker sig fra 750 mg/kg hos kaniner til 1500 mg/kg hos rotter (190). I et sammenlignende studium med flere forskellige koboltforbindelser (koboltfluorid, koboltoxid, koboltfosfat, koboltbromid, koboltchlorid, koboltsulfat, koboltnitrat og koboltacetat) lå den orale LD-50 værdi for rotter mellem 150 mg/kg og 708 mg/kg. Værdierne var imidlertid stort set ens, hvis de blev udregnet på basis af mængden af kobolt-ion (294). Den orale LD-50 værdi for koboltnaphthenat i forsøg med rotter er rapporteret til 3,9 g/kg (264).

Hos forsøgsdyr manifesterer akut forgiftning sig ved diarré, kutan vasodilatation, ødem, fald i legemstemperatur, tremor, progressivt tab af muskeltonus, og chok (69,112,294,300, 320). Ved histopatologiske undersøgelser af rotter, der er døde af forgiftningen, fandtes hyperæmi (lever og nyrer), blødninger og ødem (294).

Det har vist sig, at indførsel af metallisk koboltpulver i lufrøret på rotter og marsvin resulterer i betændelsesagtige forandringer i lungerne, lungeødem, og hyperæmi (69,278). Lignende effekter er blevet observeret hos rotter og andre forsøgsdyr efter inhalering af høje koncentrationer af koboltstøv i få timer (112). Lungeødem og overfyldte blodkar fandtes også hos rotter, som var eksponeret i 3 timer for aerosoler indeholdende koboltchlorid (131).

### 9.2. Kortids-inhalationsforsøg

Effekten af kortidseksponering for ultrafine koboltpartikler (2,7 mg/m<sup>3</sup> i 5 t; eller 2,1 mg/m<sup>3</sup>, 5 t/d i 4 d) er blevet undersøgt i forsøg med rotter (177). De eksponerede dyr havde luftvejsinflammation med hypertrofi og proliferation af bronkieepithel samt skader på cilierne. I Lungevævet sås inflammation, interstitielt ødem, opsvulmning af type I celler samt proliferation af fibroblaster og type II celler. De histologiske forandringer var imidlertid reversible indenfor 28 dage.

### 9.3. Langtids-inhalationsforsøg og intratracheal instillation

Intratracheal instillation og langtids-inhalationsforsøg er især gennemført med den hensigt at få klarlagt kobolts rolle i hårdmetal interstitiel lungefibrose (hårdmetal-pneumokoniose). Det fremgår af eksperimenter, som blev udført i halvtresserne, at kobolt og koboltindeholdende hårdmetalstøv inducerer forskellige forandringer, hvorimod rent tungstenkarbid er forholdsvis uskadeligt.

Ved histopatologiske undersøgelser af lungerne fra marsvin 12 mdr efter intratracheal instillation af koboltpulver (2 på hinanden følgende doser à 5 mg, eller enkelt doser à 25 ell. 50 mg) fandtes cellulær infiltration og ophobning af multinukleære celler i lungeinterstitiet, proliferation af lymfoid væv, samt lettere fibrotiske forandringer i alveolesepterne og omkring større blodkar (278). Mere eller mindre tilsvarende forandringer, tillige med hyperplasi og metaplasi af bronkieepithel, er blevet observeret i marsvin op til 12 mdr efter instillation eller inhalation af støvblandinger med kobolt-tungstenkarbid (279). I modsætning hertil var de histologiske forandringer efter intratracheal instillation af rent tungstenkarbid i rotter forholdsvis små og svarende til dem, der fremkommer ved eksponering med inerte støvtyper (180,212).

Nyere eksperimenter med intratracheal instillation af hårdmetalstøv i rotter bekræfter resultaterne fra de tidligere forsøg med marsvin, selvom rotter synes at reagere mindre kraftigt (165). Desuden antyder instillationseksperimenter, som Lasfargues et al. (180) har udført med rotter, at tungstenkarbid kan forstærke effekten af kobolt på lungerne. De fandt, at kobolt (10 mg/kg) producerede moderate inflammatoriske forandringer, hvorimod en tilsvarende mængde indgivet sammen med tungstenkarbid resulterede i alvorlig alveolitis og lungeødem med dødelig udgang. Tungstenkarbid alene inducerede kun en svag makrofagreaktion uden ødemdannelse. Disse eksperimenter støttes af *in vitro* forsøg, der viser, at kobolt sammen med tungstenkarbid er mere cytotoxisk

overfor alveolære makrofager end kobolt alene, og at tungstenkarbid ikke er cytotoxisk (196).

I eksperimenter med mini-grise, der var udsat for koboltstøv (0, 0,1 og 1,0 mg/m<sup>3</sup>, 6 t/d, 5 d/u) i en periode af 3 mdr, fandtes et dosisrelateret fald i lungekompliance og ultrastrukturelle undersøgelser afslørede fortykkelse af alveolesepterne med forøget kollagen-indlejring (156). Udover forandringer i lungerne var der evidens for effekter på hjertet (fald i QRS-toppen på EKG). Hamstre, der har været udsat for koboltoxid (10 mg/m<sup>3</sup>, 7 t/d, 5 d/u) over hele livsforløbet, udviste også tegn på lungefibrose med hypertrofi og hyperplasi af lungeepithelet (318).

Lungeforandringer kan også induceres ved indånding af aerosoler af opløselige koboltforbindelser. For eksempel har man udsat kaniner for koboltchlorid (0,4-2 mg/m<sup>3</sup>, 6 t/d, 5 d/u i 4-6 u eller 14-16 u) og fundet interstitiel inflammation i lungerne sammen med hyperplasi og nodulær akkumulation af type II celler. Derudover observerede man en forøgelse i makrofagantallet, fibronectin indholdet og lysozymaktiviteten i udvaskninger fra lungerne (31,44,138,139,142,144,145). Eksperimenter med marsvin antyder, at dyr, som er sensibiliserede ved forudgående hudkontakt med kobolt, reagerer anderledes på inhaleret kobolt end ikke-sensibiliserede dyr (43). I modsætning til eksperimenterne med koboltchlorid kunne man ikke se nogen effekt på alveolære makrofager hos kaniner, der havde været udsat for metallisk kobolt (0,2 og 1,3 mg/m<sup>3</sup>, 6 t/d, 5d/u) i 4-6 uger (143).

Bucher et al. (38) udsatte rotter og mus for aerosoler af koboltsulfat heptahydrat (0, 0,3, 1,0, 3,0, 10 og 30 mg/m<sup>3</sup>)<sup>1</sup>, 6 timer dagligt, 5 dage om ugen igennem 13 uger. De væsentligste forandringer i åndedrætsorganerne ved de lave eksponeringsniveauer (0,3 og 1,0 mg/m<sup>3</sup>) var inflammation og squamøs metaplasti af epithelet i larynx og inflammation og infiltration med histiocytter i lungerne. Både rotter og mus i de to høj-dosis grupper (10 og 30 mg/m<sup>3</sup>) udviste inflammation af næseslimhinden, degeneration af lugteepithelet, sår og inflammatoriske polypper i larynx, lungefibrose og hyperplasi af lungeepithelet. Udover effekterne på respirationsorganerne fandt man hos rotterne ved det høje eksponeringsniveau hæmatologiske forandringer (forøget hæmatokrit og nedsat blodpladetal). Hunrotterne i de to høj-dosis grupper udviste tillige forøget triiodothyroxin niveau. Kardiomyopati blev observeret hos nogle rotter i gruppen eksponeret for 30 mg/m<sup>3</sup>, men det var formodentlig ikke relateret til selve eksponeringen, da kardiomyopati også sås i kontrolgruppen. Ingen konsistente dosis-relaterede hæmatologiske forandringer blev fundet hos musene.

Eksponering af kaniner for kobolttrøg (1,5 mg/m<sup>3</sup>, 6 t/d, 5 d/u) i op til 24 uger resulterede ikke i forandringer i antallet af røde blodlegemer, hæmoglobin eller hæmatokrit (301). Dyrene viste imidlertid forandringer i sammensætningen af serum proteinerne (forøgelse i total protein og alfa-globulin fraktionen).

<sup>1</sup> ækvivalent koboltkoncentration: 0, 0,11, 0,367, 1,1, 3,67, 11 mg Co/m<sup>3</sup>.

#### 9.4. Toksiske effekter efter oral, i.v. og i.p. indgift.

Denne del redegør for de forskellige organeffekter, der er fundet i dyreforsøg ved oral indgift (via sonde eller føden), intravenøs (i.v.) og intraperitoneal (i.p.) injektion af kobolt og koboltforbindelser. Medens effekter på respirationsorganerne er dominerende i inhalationsforsøg, resulterer systemisk administration især i effekter på hjerte, bloddannende organer og skjoldbruskkirtel.

##### 9.4.1. Kardiovaskulære effekter

Ved indgivelse af koboltsalte har man hos flere forskellige dyrearter induceret degenerative forandringer i hjertet svarende til dem, der ses hos mennesker med koboltinduceret kardiomyopati. De patologiske forandringer, der varierer noget fra art til art, er karakteriseret ved væskeansamling (effusion) i perikardiet, tab af tværstribning, opløsning af myofibriller, dannelse af intracellulære vakuoler, forøgelse i lipidindholdet, samt fokal fibrose uden inflammatoriske celler (74, 107, 110, 192, 215, 266, 273). EKG målinger viser nedsat amplitude eller fuldstændig udfald af QRS komplekset (215, 273). Disse forandringer er set hos rotter og marsvin efter oral indgift af koboltsulfat (normalt 20-25 mg/kg/d i 2-8 u), i rotter efter intraperitoneal injektion af koboltnitrat (5 mg/kg, 7 doser) og i kaniner efter subkutan injektion af koboltchlorid (15-25 mg/kg/d). På det ultrastrukturelle niveau er hjertemuskelcellerne karakteriseret ved fragmentering og tab af myofibriller, abnorme mitochondrier, multivesikulære vakuoler og udvidelse af det sarcoplasmatiske reticulum (110,192,215). Nogle af disse forandringer kan allerede ses få timer efter intraperitoneal injektion af koboltnitrat (5 mg/kg) i rotter (192). Akkumulering af kobolt i hjertet og kardiomyopati forstærkes af proteinmangel (266,320).

I modsætning hertil fandt man ved lysmikroskopiske undersøgelser ikke nogen abnormaliteter i myokardiet hos svin, som havde fået koboltchlorid (20 mg/kg/d) oralt gennem 6 uger (39). Pehrsson et al. (250) målte adskillige hæmodynamiske parametre hos rotter, som havde fået orale doser af koboltsulfat (40 mg/kg/d) i 8 uger, men kunne ikke påvise forstyrrelser i hjertefunktionen, selvom koboltkoncentrationen i hjertet var forøget med en faktor på 30.

##### 9.4.2. Blod og bloddannende organer

Det er veldokumenteret, at indgivelse af koboltchlorid i forsøgsdyr resulterer i en forøgelse af antallet af røde blodlegemer samt en stigning i hæmoglobin-koncentration og hæmatokrit (e.g., 37,128,283,312). Denne effekt synes at ske gennem en forøgelse i aktiviteten af renal erythropoietin faktor og plasma erythropoietin (290). Eksperimenter med rotter, har vist, at koboltchlorid (2,5-10 mg/kg/d i op til 32 uger) medfører betragtelig hyperplasi af knoglemarven tillige med strukturelle forandringer i de Malpighiske legemer i milten (128). Effekten på milten er imidlertid sekundær til den koboltinducerede polycytæmi. Forøgelsen i antallet af røde blodlegemer og i hæmoglobinkoncentrationen i rotter efter indgivelse af koboltchlorid medfører ikke nogen stigning i blodvolumen eller forøget hæmolyse (312).

Indgift af koboltchlorid inducerer også forøgelse i plasmalipider (total lipid, triglycerider, kolesterol, fosfolipid) tillige med forøgelse i alfa-globulin fraktionen og total protein (301,329). Desuden er der fundet en stigning på omkring 30% i alfa-helix komponenten af fibrinogen hos kaniner, som har været behandlet med kobolt (87).

#### 9.4.3. Skjoldbruskkirtel

Kobolt synes ikke at have en entydig effekt på skjoldbruskkirtlen i dyreforsøg. Intraperitoneal injektion af koboltchlorid (0,2-2,8 mg) hos kyllinger medførte et dosisrelateret fald i optagelsen af <sup>131</sup>I uden reduktion i kolloidindhold (171), og hos marsvin er der observeret hyperplasi af kirtlen samt fald i kolloidindholdet efter daglige doser af koboltchlorid (8 mg/kg) i 30 dage (18). I modsætning til disse resultater kunne man ikke finde nogen effekt på <sup>131</sup>I optagelsen hos rotter efter tilførsel af koboltchlorid til drikkevandet i en mængde, som kunne inducere polycytæmi (283). Ligeledes fremkom der ikke nogen forsøgsrelaterede histopatologiske forandringer i skjoldbruskkirtlen hos marsvin, som havde fået gentagne subkutane doser af koboltchlorid (20 mg/kg, varierende antal doser) over en periode på 70 dage (74).

#### 9.4.4. Lever, bugspytkirtel og nyrer

Effekt på leveren af kobolt indgivet enten alene eller sammen med alkohol er blevet undersøgt i forsøg med marsvin (74). Dyrene fik subkutane injektioner af koboltchlorid (20 mg/kg) 3 gange om ugen over en periode på 24-70 dage ("lavdosis") eller som injektioner hver anden dag gennem 2 uger og derefter en daglig injektion i yderligere 4 dage ("høj dosis"). I lavdosis-gruppen sås fedtdegeneration i periferien af leverlobuli og vakuolisering af celler i midten af lobuli, og i høj dosis-gruppen var der nekrotiske forandringer. Leverforandringer i form af venøs overfyldning sammen med forøget lipidindhold eller atrofi af leverceller er også blevet observeret efter indgift af koboltchlorid i kaniner (15-25 mg/kg/d, s.c. i 9-13 d) og hos hunde (28 mg/kg/d, i.v. infusion 2 gange ugentlig i 10 uger) (110,273).

Hunde, som får injiceret koboltchlorid (10-13 mg/kg, enkelt i.v. inj.), får en akut stigning i blodsukkerniveauet, og der ses selektiv autolyse af alfa-celler i bugspytkirtlens endokrine del (182). Lignende forandringer har man observeret hos marsvin efter intraperitoneal injektion af koboltchlorid (33). I en undersøgelse på rotter, som fik enkelt-injektioner af koboltchlorid (20, 35, 40 eller 45 mg/kg), sås der også en stigning i blodsukkerniveauet (dosisrelateret), men der var ingen patologiske forandringer i bugspytkirtlen med undtagelse af en mindre forøgelse i kernestørrelsen i beta-cellerne (132). Udover effekterne på bugspytkirtlens endokrine del, er der også observeret alvorlige skader på den exokrine del efter subkutan eller intraperitoneal injektion af koboltchlorid i marsvin (33,74). Skaderne omfattede bl.a. atrofi af acini, dissociation af celler og focal nekrose.

Der er forholdsvis ringe kendskab til kobolts effekt på nyreme. I forsøg med hunde, hvor koboltchlorid blev givet ved intravenøs infusion, fandt man overfyldning af blodkarrene, og der var tegn på hydropisk degeneration (273).

Eksperimenter med isolerede glomeruli fra rotter viser endvidere, at visse metaboliske parametre påvirkes ved tilstedeværelsen af kobolt-ioner (310).

#### 9.4.5. Andre organer

I en enkelt adfærdstest på rotter har man set, at koboltchlorid i doser på 20 mg/kg/d (men ikke ved 5 mg/kg/d) over 69 dage påvirker dyrenes evne til at aktivere en kontakt ("lever pressing") (225). Desuden viser elektrofysiologiske undersøgelser *in vitro*, at kobolt påvirker nervefunktionen (83,172,323).

### 9.5. Mutagenicitet og genotoksicitet

Med få undtagelser er det kun de opløselige koboltforbindelsers mutagenicitet og genotoksicitet, der er undersøgt. Der er to artikler, som omhandler kobolt(II)sulfid (61,262), og en rapport om koboltpigment (34). Der findes ingen tilgængelig information om mutageniciteten af metallisk kobolt og koboltoxid.

#### 9.5.1. Effekter i bakterier

Man har anset bakterier for at være ufølsomme med hensyn til den genotoksiske effekt af kobolt og andre metaller. Det negative respons hos bakterier har man forklaret med manglende biotilgængelighed eller optagelse i cellerne, eftersom kobolt og andre metaller udfældes af fosfater og andre forbindelser i testmedierne, og derfor tilsyneladende er inaktive i tests for toksicitet og mutagenicitet.

Mutagenicitetstests af opløselige kobolt(II)salte med bakterier giver ikke noget entydigt billede, idet den genotoksiske effekt afhænger både af testorganismen, stamme, og forsøgsbetingelserne (34). Eksempelvis er der rapporteret om adskillige negative resultater i *Salmonella*/mikrosom-assay'et, hvor der har været anvendt koboltkoncentrationer op til 1 mM/plade (20,214,236,237,313) (se også ref. 133 vedr. review). I disse undersøgelser har der været anvendt forskellig forsøgsbetingelser ("spot test", standard plade-test og "fluctuations test"), og i en enkelt undersøgelse blev der anvendt trimetafosfat i stedet for orthofosfat for at modvirke udfældning af kobolt (20), men alligevel fandt man ikke nogen mutagen effekt. Følgende stammer blev anvendt i disse undersøgelser: TA100, TA98, TA1535, TA1537. I en anden undersøgelse med "frameshift" *Salmonella*-stammerne TA98 og TA1537 fandt man derimod, at kobolt var mutagent uden tilsætning af S9-mix, men ikke hvis S9-mix blev tilsat. S-9 mix ophævede den mutagene effekt, sandsynligvis på grund af bundfældning med fosfat (325).

To undersøgelser med *Salmonella typhimurium* har fornylig vist, at koboltchlorid er mutagent under modificerede forsøgsbetingelser med "frameshift"-stammen TA97a (34,242). Koboltchlorid var endvidere meget mere mutagent, når der blev anvendt præinkubation, end hvis man blot anvendte standard-assay'et (også med standard fosfatbuffer). Andre metalsalte har også vist sig at være mutagene, hvis fosfatbufferen udskiftes med deioniseret vand eller Hepes buffer (242). Disse to undersøgelser har dokumenteret, at metaller *kan* være mutagene i bakterier, hvis de rette forsøgsbetingelser er tilstede. På den anden side var koboltchlorid inaktivt i  $\lambda$ -profag induktionstesten med *E. coli* WP2<sub>g</sub>( $\lambda$ ). Modstridende

resultater er også fundet med opløselige koboltsalte i *Bacillus subtilis* Rec +/- vækstnhiberings-testen (150,232). I forsøget med positive resultater blev der anvendt præinkubation.

Kobolt danner komplekser med biologiske heteroaromater så som histidin (40), adenin (194), 9-aminoacridin, harman og norharman (236). Derudover har kobolt(II)salte en co-mutagen effekt sammen med adskillige mutagene og ikke-mutagene heteroaromatiske forbindelser i "frameshift" *Salmonella*-stammer (TA1537 og TA2637) (235,236,238). (I disse undersøgelser blev der også anvendt testmedier uden fosfat). Kobolt(II)chlorid har vist sig at have en antimutagen effekt på kendte mutagener som N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) i *E. coli* og Trp-P-1 i *S. typhimurium* (148,214).

I en nylig publiceret undersøgelse blev det konkluderet, at koboltchlorid kan virke enten som en inhibitor eller induktor på SOS-reparationsfunktionerne i *E. coli* afhængigt af forsøgsbetingelserne (186). I situationer, hvor koboltchlorid virker som hæmmer af SOS-systemet ved at blokere proteinsyntesen, har det en antimutagen effekt på mutageniciteten af UV lys. Disse resultater ses imidlertid kun hvis metallet er tilstede under hele forsøgstiden. Når *E. coli* celler behandles med koboltchlorid i en kortere periode, resulterer det i en induktion af SOS-systemet.

Der er kun rapporteret en enkelt undersøgelse af genotoksiske effekter af uopløselige koboltforbindelser i prokaryote organismer (34). Det drejer sig om en undersøgelse, hvor koboltpigment, som anvendes i den danske porcelænsindustri, blev testet med forskellige stammer af *S. typhimurium* i en modificeret standardpladetest med Co koncentrationer op til 110 µg/plade. I disse forsøg var fosfatbufferen erstattet med en acetatbuffer (pH=5) for at opløse pigmentet, og det viste sig, at koboltpigmentet var mere mutagent i TA97a end ækvimolære koncentrationer af koboltchlorid under de samme forsøgsbetingelser. Endvidere fandt man, at adenin var antimutagent overfor koboltpigmentet (ækvimolære koncentrationer).

#### 9.5.2. Effekter på gærceller

Koboltchlorid er istand til at inducere en respirationshæmning (mitochondrie mutationer) i gærceller (80,160,193,256). I voksende, men ikke i stationære *Saccharomyces cerevisiae* D7 inducerer uopløseligt koboltpigment og koboltchlorid punktmutationer (34,159). Desuden inducerer koboltchlorid genkonvertering i *S. cerevisiae* D7 tillige med en ikke signifikant forøgelse i hyppigheden af aneuploide celler i *S. cerevisiae* D61M (34,159).

#### 9.5.3. Effekter på planter

Forsøg har vist, at forskellige koboltforbindelser (koboltchlorid, koboltnitrat, koboltsulfat) har en effekt på celledelingen og inducere kromosomaberrationer i rodspidsen af *Vicia faba* (125,166), og man har observeret kromosomforandringer og aneuploidi i *Allium cepa* (105).

#### 9.5.4. Effekter i pattedyrceller

Opløselige kobolt(II)salte er undersøgt i mange forskellige mammale testsystemer. Kobolt inducerede f.eks. DNA-strengbrud i mammale HeLa-celler. Effekten var tidsafhængig med det højeste antal brud efter 4 t inkubation ved en koncentration så lav som 50 µM CoCl<sub>2</sub> (117). DNA-strengbrud er også set i hamsterovarieceller ("CHO cells") ved en koncentration på 2000 µM koboltchlorid (111). DNA-strengbrud er endvidere observeret i humane hvide blodlegemer ved en lav koncentration af koboltchlorid (50 µM). Koboltchlorid i en koncentration på 100 µM medførte en 4,2 x forøgelse i spontane mutationer i HPRT-lokus i Chinese hamster celler (V79), og en mindre forøgelse (2,3 x) blev observeret ved 0,2 mM koboltchlorid og anvendelse af 8-azaguanidin-resistente mutanter som markør for punktmutationer (117). Derimod var koboltchlorid ikke i stand til at inducere trifluorothymidin-resistente mutanter i L5178Y/TK celler (14). Det skal bemærkes, at inkubationstiden var på 3 t sammenlignet med 20 t i et forsøg med positivt resultat (213).

Kobolt(II)salte medførte en dosisafhængig hæmning af DNA-syntesen i fytohæmagglutinin (PHA)-stimulerede humane lymfocytter (311). Opløselige koboltforbindelser har endvidere en svag effekt med hensyn til inducering 6-thioguanine-resistente kolonier af FM3A celler ("mouse mammary carcinoma cells") (219).

Selvom koboltchlorid inducerer mikrokernel i humane lymfocytter, har man kun observeret en svag eller slet ingen clastogen effekt på humane fibroblaster, leucocytter og lymfocytter (45,247). Disse resultater indikerer, at koboltchlorid kan inducere aneuploidi i isolerede celler fra mennesker (45).

Kobolt(II)acetat har også vist sig at fremme viral transformation i embryonale celler fra guldhamstre, og både koboltchlorid og koboltacetat inducerer søsterkromatid-udveksling (SCE) i V79 celler fra hamstre (49). Disse kemiske forbindelser har endvidere en forstærkende effekt på søsterkromatid-udveksling, der induceres af UV lys, og på mutationer, der opstår i HPRT-lokus i mammale celler (118). Data fra denne undersøgelse indikerer, at disse genetiske effekter snarere skyldes en interaktion med DNA excision repair-processen end en egentlig DNA-beskadigende effekt (118). I en anden undersøgelse fandt man imidlertid, at koboltchlorid havde en antimutagen effekt på 8-azaguanin-resistente mutationer induceret af gammastråler i V79 celler fra hamstre, og der var ingen effekt på UV-inducerede mutationer (327).

To undersøgelser med det uopløselige koboltsulfid viste, at den krystallinske form af stoffet imodsætning til den amorf form inducerede DNA-strengbrud og celletransformation i CHO-celler og embryonale celler fra guldhamstre (koncentrations afhængigt). Dette skyldes, at den krystallinske form, men ikke den amorf, bliver fagocytet af cellerne (61,262).

Tabel 6. Resumé af cancerdata fra dyreforsøg med kobolt og uopløselige koboltforbindelser.

Stof	Art	Adm. vej 1)	Mgd./dosis	Tumortype	Tumorhyppighed (kontroller) <sup>2)</sup>	Tumorhyppighed (eksponerede) <sup>2)</sup>	Ref.
Kobolt metal	Rotte, hooded	I.m.	28 mg	Lokalt sarcom	0/20	5/20	(119)
	Rotte, hooded	I.m.	28 mg	Lokalt sarcom	0/20	17/30	(121)
	Rotte, hooded	I.t.	28 mg	Thoracal tumor	-	4/12	(122)
<b>Koboltlegering:</b>							
Co-Cr-Mo:	Rotte, hooded	I.m.	28 mg	Lokalt sarcom	-	23/80	(306)
0,1-1 µm partikler							
100-250 µm partikler	Rotte, Wistar	I.m.	28 mg	Lokal tumor	0/50	0/51	(206)
0,5-50 µm partikler	Rotte, Wistar	I.m.	28 mg	Lokal tumor		0/61	(206)
0,5-50 µm partikler	Rotte, Hooded	I.m.	28 mg	Lokal tumor		0/53	(206)
	Marsvin	I.m.	28 mg	Lokal tumor		0/46	(206)
Co-Cr/W/Ni/C/ Mn/Si	Rotte, Sprague- Dawley	I.m.	stav	Lokal tumor	0/30	0/90	(94)
Co-Al-Cr spinel	Rotte, Sprague- Dawley	I.p.	200 mg/kg	Lokal tumor	1/20	2/20	(298)
		I.t.	10 mg/kg	Lungetumour	0/200	3/100	

Tabel 6,  
forts.

Stof	Art	Adm. vej 1)	Mgd./dosis	Tumortype	Tumorhyppighed (kontroller) <sup>2)</sup>	Tumorhyppighed (eksponerede) <sup>2)</sup>	Ref.
Koboltoxid	Rotte, Wistar	I.m.	30 mg	Lokalt sarcom	0/10	5/10	(103)
	Rotte, Wistar	I.m.	20 mg	Lokalt sarcom		13/29 sites	(102)
	Mus, Swiss	I.m.	10 mg	Lokalt sarcom	0/48	0/46	(103)
	Rotte, Sprague- Dawley	S.c.	1000 mg/kg	Lokal, malign	0/20	9/20	(298)
		I.p.	200 mg/kg	Lokal, malign	1/20	14/20	(298)
		I.t.	78 mg/kg	Lungetumor, benign	0/100	2/100	(298)
		I.t.	390 mg/kg	Lungetumor benign malign	0/100 0/100	2/100 4/100	(298)
Koboltulfid	Rotte, Wistar	I.m.	20 mg	Lokalt sarcom	-	35/58 sites	(102)

1) Intramuskulær (I.m.), intraperitoneal (I.p.), subkutan (S.c.), intratracheal (I.t.)

2) Hvis intet andet er nævnt, repræsenterer tallene antallet af dyr med tumorer/antal behandlede (overlevende).

Table 7. Resumé af cancerdata fra dyreforsøg med opløselige koboltforbindelser.

Stof	Art	Adm. vej 1)	Mgd./dosis	Tumortype	Tumorthyppighed (kontroller) 2)	Tumorthyppighed (eksponerede) 2)	Ref.
Koboltchlorid	Rotte, Wistar	S.c.	40 mg/kg	Subkut. sarcom	0/19	8/11 (efter 12 mdr observation)	(285)
			40 mg/kg	Subkut. sarcom	0/19	6/16 (efter 8 mdr observation)	
Koboltnaphthenat	Mus Kamin	I.m. Forsk.	0,2 ml	Muskeltumor		8/30	(234)
			?	Pleuralt mesothel-iom, hæmangioendothel-iom, osteochondrom, muskel		8/12	(233)
Kobolt(II)acetat	Mus	I.p.	95 mg/kg	Lungetumor	7/19	8/20	(302)
			237 mg/kg		7/19	8/20	
			475 mg/kg		7/19	10/17	

1) Intramuskulær (I.m.), intraperitoneal (I.p.), subkutan (S.c.), intratracheal (I.t.)

2) Hvis intet andet er nævnt, repræsenterer tallene antallet af dyr med tumorer/antal behandlede (overlevende).

### 9.5.5. Effekter in vivo

Den genotoksiske effekt af koboltchlorid på somatiske celler og kønsceller er undersøgt i hanner af hamstre. Ti guldamstre fik 7 intraperitoneale injektioner af koboltchlorid over 9 dage (totaldosis 0,4 g/kg), og behandlingen medførte en signifikant forøgelse i hyppigheden af aneuploidi i både somatiske celler og i kønscellerne i forhold til kontrollerne (84).

Koboltchlorids evne til at inducere kromosomforandringer hos mus *in vivo* er blevet undersøgt af Palit et al. (244). Koboltchlorid blev indgivet oralt i doser à 20, 40 og 80 mg/kg (svarende til 2,5, 5 og 10% af LD-50 værdien), og hyppigheden af kromosomforandringer blev observeret efter 6, 12, 18 og 24 t. Der blev anvendt 5 forsøgsdyr for hver tid-dosis-kombination sammen med 5 kontrol dyr i hver gruppe. En signifikant forøgelse sås i hyppigheden af kromosomforandringer (med og uden "gaps") og i antallet af kromosom-brud per celle. Effekten var dosisafhængig.

I en nylig offentliggjort undersøgelse af kobolts effekt på hyppigheden af mikrokerner induceret af andre mutagener fandt man, at koboltchlorid (50 µg/ml) ikke inducerede nogen stigning i antallet af mikrokerner *in vitro* (med eller uden S9-mix). Derimod inducerede koboltchlorid (25, 50 og 90 mg Co/kg) efter intraperitoneal injektion en signifikant og dosis-afhængig forøgelse i antallet af polykromatiske røde blodlegemer med mikrokerner (MPCE) (305). Forudbehandling med koboltchlorid (50 mg/kg) forøgede hyppigheden af mikrokerner induceret af benzo[a]pyren og 2-naphtylamin. Koboltchlorid havde endvidere en co-mutagen effekt på 1,1-dimethylhydrazin, som ikke selv inducerede en signifikant forøgelse af MPCE. Den synergistiske effekt af kobolt kan skyldes dets evne til at stimulere dannelsen af røde blodlegemer.

Resumerende skal det fremhæves, at både opløselige og uopløselige koboltforbindelser synes at have en svag genotoksiske effekt, selvom der er begrænsede data for uopløselige forbindelser. Den genotoksiske effekt *in vitro* afhænger af forsøgsomstændighederne, og visse modstridende data fra forsøg med bakterier kan tilskrives forskelle i biotilgængeligheden og eksponeringstiden (34,117). Med andre ord, hvis de rette forsøgsbetingelser er tilstede vil koboltforbindelser være genotoksiske i prokaryote organismer. Kobolt inducerer DNA-strengbrud og en mulig mekanisme herfor kunne være dannelse af oxygen- og hydroxylradikaler (326). Udover den direkte interaktion med DNA, kan de genetiske effekter af kobolt måske skyldes en påvirkning af DNA-polymerasen (102). Der er derfor tilstrækkelig evidens til at konkludere, at kobolt er mutagent både i prokaryote organismer og i mammale celler *in vivo* og *in vitro* under de rette forsøgsbetingelser.

### 9.6. Carcinogenicitet

Der findes flere relativt nye reviews om kobolt og koboltforbindelsers kræftfremkaldende effekt (133,137,191). Den potentielle kræftfremkaldende effekt af opløselige og uopløselige koboltforbindelser er undersøgt ved langtidforsøg med

forskellige dyrearter (kaniner, rotter, mus, marsvin og hamstre). I modsætning til undersøgelserne af genotoksicitet omhandler de fleste kræftdata uopløselige koboltforbindelser (metallisk kobolt, koboltlegeringer, koboltoxid og uopløselige koboltsalte). Eksponeringsvejen er sædvanligvis ved intramuskulær injektion, men andre former for eksponering har også været anvendt. Resultaterne fra eksperimenter med opløselige og uopløselige koboltforbindelser er resumeret i Tabel 6 og 7 og diskuteres hver for sig i det efterfølgende.

#### 9.6.1. Uopløselige koboltforbindelser

Metallisk koboltpulver er blevet testet i forsøg, hvor 20 rotter fik en intramuskulær dosis på 28 mg. I den eksponerede gruppe udviklede 2 hanner og 3 hanner lokale fibrosarcomer (ét dyr med metastaser i lymfeknuder), hvorimod ingen af kontroldyrene udviklede tumorer (119). Dette forsøg er senere blevet gentaget med 30 eksponerede dyr og 10 kontrol dyr (121). Her udviklede 17 af de eksponerede dyr maligne tumorer (hovedsagelig rhabdomyosarcomer), mens der ikke blev fundet tumorer hos kontrollerne. I en anden undersøgelse, hvor 28 mg koboltpulver blev injiceret i brysthulen døde 8 ud af 20 rotter kort tid efter injektionen og 4 af de overlevende udviklede sarcomer i eller nær ved hjertet (122). I modsætning hertil fremkom der ingen tumorer efter en enkelt injektion af koboltpulver (10 mg) i nyrene på 18 rotter (136).

Den mulige kræftfremkaldende effekt af forskellige koboltlegeringer er også blevet undersøgt. Kobolt-krom-molybdæn-legering er testet ved intramuskulær injektion af det pulveriserede materiale (28 mg, 0,1-1 µm partikler opløst i hesteserum) i rotter. I 3 eksperimenter med ialt 80 hunrotter fremkom der sarcomer hos 23 af dyrene (123,306). Ingen kontrolgruppe er omtalt i forsøget. I en anden undersøgelse af samme type legering blev 28 mg (0,5-50 µm eller 100-250 µm partikler) implanteret intramuskulært i to forskellige rottestammer og hos marsvin (206). Ingen maligne tumorer blev observeret i hele livsforløbet hverken hos de eksponerede dyr eller hos kontrollerne. Uoverensstemmelsen mellem disse to forsøg kan måske skyldes, at der blev anvendt forskellige rottestammer og forskellige partikelstørrelser. De mindre partikler har måske en større evne til at inducere tumorer end større partikler, fordi de går hurtigere i opløsning.

Intramuskulær implantation af små stave af forskellige koboltindeholdende legeringer hos 3 grupper af "Sprague-Dawley" rotter (15 hanner og 15 hunner i hver gruppe) resulterede ikke i udvikling af tumorer på implanteringsstedet, hverken hos de eksponerede eller hos kontrollerne (94). Derimod producerede kobolt-aluminium-krom spinel nogle få lokale, maligne tumorer (2/20) efter intraperitoneal injektion (3 x 200 mg/kg) hos rotter (298). Efter intratracheal instillation af samme materiale (390 mg/kg) i rotter udviklede 3 ud af 100 dyr maligne lungetumorer (298).

Kobolt(II)oxid er blevet testet i "Swiss" mus og "Wistar" rotter ved intramuskulær injektion af 30 mg (5 µm partikler) opløst i penicillin G (103). Fem ud af 10 rotter udviklede maligne tumorer (rhabdomyosarcomer) på injektionsstedet, hvorimod ingen af kontroldyrene udviklede tumorer. Latenstiden var relativ kort (gennemsnitlig 6 mdr), og der sås metastaser i lymfeknuderne og i lungerne hos 4

af dyrene. I modsætning til forsøgene med rotter fandt man ingen tumorer hos musene, selvom observationstiden var længere. I et senere forsøg fra samme laboratorium (102) fandt man under tilsvarende forsøgsbetingelser tumorer (rhabdomyosarcomer) ved 13 ud af 29 injektionssteder på 24 af 32 overlevende rotter. Jern- og kobberoxid blev testet med samme forsøgsbetingelser, men inducerede ikke tumorer.

Efter subkutan injektion af 5 x 2 eller 1 x 10 mg koboltoxid/kg/uge (totaldosis 1000 mg/kg) i 2 grupper på hver 10 rotter opstod der lokale, maligne tumorer hos henholdsvis 5 og 4 dyr i de to grupper, mens der ikke sås nogen hos kontrol-dyrene. Koboltoxid blev i den samme undersøgelse injiceret intraperitonealt (3 x 200 mg/kg), og her sås tumorer hos 14 ud af 20 rotter samt hos én af de 20 kontrol dyr (298).

Der findes kun en enkelt undersøgelse med intratracheal instillation af koboltoxid (298). Undersøgelsen omhandler 2 grupper rotter, som fik implanteret enkelt doser på henholdsvis 2 mg/kg (total 78 mg/kg) og 10 mg/kg (total 390 mg/kg). Der var evidens for, at den kræftfremkaldende effekt var dosisafhængig, idet der kun var to godartede lungetumorer blandt 100 dyr i lavdosis-gruppen, mens der sås 2 godartede og 4 maligne lungetumorer blandt de 100 rotter i højdosis-gruppen.

Skiftevis injektion af koboltoxid (totaldosis 470 mg/kg) og benzo[a]pyren (totaldosis 200 mg/kg) i lufttrøret hos 20 rotter resulterede i 9 maligne lunge-tumorer, hvorimod benzo[a]pyren indgivet alene i 20 dyr kun inducerede en enkelt malign tumor (298).

Inhalation af koboltoxid resulterede ikke i nogen forøgelse i tumorhyppigheden hos gulddamstre (318). Det skal bemærkes, at dette forsøg var karakteriseret af en ringe overlevelsrate, og at gulddamstres åndedrætsorganer, sammenlignet med rotters, er mindre følsomme overfor den lokale kræftfremkaldende effekt af metaller (298).

Der fandtes kun én relevant undersøgelse af den kræftfremkaldende effekt af koboltsulfid hos rotter (102). Dyrene, der fik intramuskulære injektioner af koboltsulfid (20 mg), udviste en høj hyppighed af tumorer (primært rhabdomyosarcomer) (35 per 58 injektionssteder), og metastaser blev fundet i 55% af tilfældene. Ingen kontrolgruppe blev omtalt. Koboltsulfid var endvidere i stand til at inducere flere tumorer end koboltoxid under de samme forsøgsbetingelser, og tumorerne metastaserede oftere.

#### 9.6.2. Opløselige koboltforbindelser

Kobolt(II)chlorid er blevet testet i to forsøg med 20 rotter i hver gruppe (285). Dyrene fik indgivet koboltchlorid i form af daglige subkutane doser (40 mg/kg) i perioder af 5 dage efterfulgt af 9 dage uden dosering. I den ene gruppe, som blev observeret gennem 12 mdr, udviklede 8 ud af 11 rotter subkutane fibrosarcomer (4 lokaliseret fjernt fra injektionsstedet), hvorimod ingen af kontroldyrene, som fik fysiologisk saltvand injiceret, udviklede tumorer. I den anden gruppe, som blev observeret i 8 mdr, havde 6 ud af 16 overlevende subkutane fibrosarcomer (et lokaliseret fjernt fra injektionsstedet).

Der findes to undersøgelser af koboltnaphthenaters mulige kræftfremkaldende effekt i kaniner og mus (233,234). Begge undersøgelser er imidlertid dårligt beskrevet hvad angår dosis, forsøgsplan, varighed af forsøg, kontrolgruppe etc. Stoffet blev tilsyneladende indgivet på forskellig måde (intravenøst, intramuskulært, intrapleuralt og intrahepatisk). I forsøgene med mus udviklede 8 ud af 30 dyr muskeltumorer efter intravenøs injektion, og hos kaninerne udvikledes tumorer på injektionsstedet hos 8 ud af 12 dyr. De observerede tumortyper omhandlede pleuralt mesotheliom, hæmangioendotheliom i leveren, osteochondrom (ørerne) og muskeltumorer.

Effekten af kobolt(III)acetat er blevet undersøgt hos mus ("Strain A") ved gentagne intraperitoneale injektioner (302). Efter 30 uger fandt man lungetumorer i alle de behandlede grupper (8/20, 8/20, 10/17), men også i kontrolgruppen (7/19). Der var ingen signifikant forøgelse i tumorhyppigheden hos de behandlede sammenlignet med kontrollerne.

Forsøgene med intratracheal instillation af koboltoxid viser, sammen med den konsistente optræden af tumorer på injektionsstedet i andre forsøgstyper, at kobolt og koboltforbindelser har en svag kræftfremkaldende effekt i dyreforsøg. Det skal dog bemærkes, at mange af undersøgelserne mangler information om overlevelse og kontrolgrupper. Desuden er eksponeringsvejen i mange forsøg ikke særlig relevant i arbejdsmiljømessig sammenhæng. (IARC anser evidensen for carcinogenicitet i forsøgsdyr for tilstrækkelig ("sufficient") for metallisk kobolt og koboltoxid; begrænset ("limited") for kobolt-krom-molybdænlegeringer, kobolt-sulfid, koboltchlorid; og utilstrækkelig ("inadequate") for andre testede forbindelser (133)).

## 9.7. Reproduktionsskade effekter

### 9.7.1. Effekter på kønsorganer og reproduktion

Effekter på kønsorganer og forplantning er blevet observeret i forsøg, hvor gnavere har fået indgivet kobolt på forskellig måde. For eksempel udvikler rotter efter 98 dage på en koboltholdig føde (265 ppm) mindre testikler, overfyldning af blodkar og degenerative forandringer i testikelvævet (216). Et markant fald i vægten af testiklerne er også blevet observeret hos hanrotter, som har fået daglige orale doser af kobolt (20 mg/kg/d) i 69 dage (225). På tilsvarende vis har man hos mus efter 11 eller 13 uger med 400 ppm kobolt (som koboltchlorid) i drikkevandet observeret et fald i testikelvægt, befrugtningssrate, og bevægelighed af sædcellerne (248,249). Desuden fandtes man ved histopatologiske undersøgelser af mus efter 13 dage på drikkevand med 400 ppm kobolt, at der var alvorlige degenerative forandringer i de sæddannende rør (vakuolisering af Sertoliceller, akkumulering af nekrotiske celler, reduktion i størrelsen af epitelet)(16). Endvidere fandt man kollagenindlejring omkring de sæddannende rør samt forandringer i blodkarrenes endothel.

I lighed med resultaterne fra forsøgene med oral indgift eller injektion af koboltforbindelser, har man også fundet effekter på forplantningssystemet hos

mus, men ikke hos rotter, efter inhalation af koboltsulfat aerosoler i 13 uger (38). Bevægeligheden af sædcellerne var reduceret, efter at musene havde været eksponeret for 3, 10 eller 30 mg/m<sup>3</sup>, og atrofi af testiklerne blev observeret i højdosis-gruppen (30 mg/m<sup>3</sup>). Brunstcyklus hos hunmus i højdosis-gruppen var endvidere signifikant forlænget.

Mekanismen hvorved kobolt påvirker testiklerne er ikke klarlagt. Det formodes, at kobolt interferer med metaller, som er essentielle for spermatogenesis (16), eller kobolt producerer hypoxi på grund af nedsat blodgennemstrømning og forøget udvikling af kollagen omkring de sæddannende rør (216). Der er imidlertid evidens for, at samtidig indgift af zinkchlorid kan forebygge de koboltinducerede testikelskader, som ses hos mus (15).

### 9.7.2. Effekter på fosterudviklingen

Effekten af kobolteksponering *in utero* er blevet undersøgt i forsøg med flere forskellige arter. I eksperimenter, hvor drægtige rotter fik daglige doser af koboltchlorid (25, 50 eller 100 mg/kg) på dag 6-15 i drægtighedsperioden, fandtes ingen behandlingsrelaterede embryotoksiske eller teratogene effekter (246).

Hos drægtige hamstre, som fik subkutane eller intraperitoneale injektioner af koboltacetat (40-160 mg/kg s.c.; 40-70 mg/kg i.p.) på dag 8 i drægtighedsperioden, så man derimod en dosisafhængig forøgelse i fosterresorptionen, og CNS-deffekter blev observeret ved nogle af dosisniveauerne (95).

Forsøg med drægtige mus har vist, at intraperitoneal injektion af koboltchlorid (25 mg/kg) eller natrium-koboltnitrit (50 mg/kg) på dag 10 eller 11 i drægtighedsperioden resulterer i en forøget hyppigheden af ganespalte hos fostrene (151,152). Wide (1984) gav drægtige mus intravenøse injektioner af 0,1 ml 5 mM koboltchlorid (=1,2 mg Co/kg) på dag 3 eller 8 i drægtighedsperioden og fandt ingen effekt på implanteringshyppigheden, fostervægten og antallet af resorptioner (322). Dog fandt man, at kobolt indgivet på ottende dagen idnvirkede på forbeningsprocessen.

I en undersøgelse af fosterudviklingen hos mus, hvor hannerne var blevet eksponeret for 400 ppm kobolt i drikkevandet gennem 10 uger før parringen med ubehandlede hunner, observeredes ingen effekt på fosterudviklingen *in vitro* (249). Koboltbehandlingen påvirkede imidlertid drægtighedsprocenten samt antallet af levende embryoner per hun. Det blev konkluderet, at kobolt, gennem en effekt på hanneres befrugtningsevne, påvirker implanteringen.

Udover disse forsøg er der nogle data, som omhandler kobolts effekt på embryonaludviklingen hos frøer og kyllinger. For eksempel fandt man en koncentrationsafhængig forøgelse i hyppigheden af misdannelser hos embryoner af *Xenopus laevis*, som blev inkuberet i medier med koboltchlorid i koncentrationer fra 1,8 til 56 µmol/l (omkring 3 størrelsesordner under den dosis, der er dødelige for embryonerne) (255). Hos kyllinger medførte injektion af kobolt i blommesækken eller luftsækken både toksiske effekter og teratogene effekter (100, 173). De observerede effekter omfattede bl.a. reduceret legemsstørrelse, snoede lemmer, skeletdefekter og abnormaliteter i øjnene.



## 9.8. Andre undersøgelser

I *in vitro* eksperimenter har man påvist effekter af kobolt (som metal eller ion) på cellevækst (e.g., 78,120), steroidproducerende celler (229), fibroblaster i cellekultur (27, 28, 66), makrofager (196), isolerede glomeruli fra rotter (310), og nerveceller (83, 172, 323).

## 10. Effekter på mennesker

### 10.1. Akutte effekter

Der er praktisk taget ikke nogen beskrivelser af forgiftninger hos mennesker efter oral indtagelse af kobolt eller koboltforbindelser. Gastrointestinale effekter (mavesmerter, opkastning) og neutropeni er blevet rapporteret i et tilfælde, hvor et 6-årigt barn slugte omkring 2,5 g koboltchlorid (223).

Akutte effekter på respirationsorganerne er rapporteret i nogle enkelte undersøgelser. Kusaka et al. (174) eksponerede hårdmetalarbejdere og personer uden erhvervsmæssig eksponering (kontroller) for koboltholdigt hårdmetalstøv i 6-7 timer. Kontrolpersonerne gav udtryk for luftvejsirritation og havde et signifikant fald i vitalkapaciteten (FVC) efter eksponering for hårdmetalstøv med kobolt i en koncentration på 0,038 mg/m<sup>3</sup>. I modsætning hertil gav hårdmetalarbejderne ikke udtryk for irritation, og der var ingen effekt på lungefunktionen selvom eksponeringsniveauet var højere (0,124 mg Co/m<sup>3</sup>). Dette forsøg stemmer ikke helt overens med resultaterne fra en svensk undersøgelse, hvor der blev rapporteret om et fald i lungefunktionen både igennem en arbejdsdag og en arbejdsuge hos hårdmetalarbejder eksponeret for gennemsnitligt 0,06 mg Co/m<sup>3</sup> (4,5).

### 10.2. Hudirritation og sensibilisering

Kobolt er et potentielt sensibiliserende stof, og eftersom kobolt optræder som et forureningselement i nikkel, er koboltallergi ofte blevet sat i forbindelse med overfølsomhed overfor nikkel (1). Allergisk kontaktezem betinget af kobolt er blevet rapporteret i forskellige typer erhverv indenfor hårdmetalindustrien, keramikfremstilling, gummiindustrien og bygningsindustrien (e.g., 89, 92, 96, 158, 161, 252, 282).

Hyppigheden af positive reaktioner overfor koboltchlorid hos patienter med eczem er blevet rapporteret i forskellige undersøgelser. Rystedt fandt en positiv reaktion hos 286 (7,1%) ud af 4034 testede patienter, men en reaktion overfor kobolt alene blev kun fundet hos 50 (1,2%) af patienterne (271). Tilsvarende var hyppigheden af overfølsomhed for kobolt hos 834 italienere med formodet allergisk dermatitis 7,1%, og hyppigheden var størst hos kvinder (48). I en tysk undersøgelse, der blev udført i perioden 1975-1989, havde 9,3% ud af 5811

patienter med eczem en positiv reaktion overfor koboltchlorid, og der var en tendens til en stigning i tilfældene af koboltallergi gennem opgørelsesperioden (109). I en tilsvarende polsk undersøgelse af 2653 patienter med dermatitis lå hyppigheden af allergi overfor kobolt i 4-års perioder (1977-1988) på mellem 24,9% og 35,5%, og der var ingen evidens for en stigning gennem opgørelsesperioden (162).

En undersøgelse af 50 arbejdere (dekoratører og emaljearbejdere) i den italienske keramikindustri fandt man 8 personer (16%), der var positive overfor koboltchlorid i lappe-tests. Sensibiliseringen blev tilskrevet eksponering for koboltholdige pigmenter i blå, grønne og sorte farver (93).

Cementeczemen som forekommer blandt bygningsarbejdere skyldes delvis allergi overfor kobolt. Pirilä og Kananen (253) har resumeret en række undersøgelser, som viser, at hyppigheden af overfølsomhed overfor kobolt i tilfælde med cementeczem varierer meget og er korreleret med koboltkoncentrationen i cement. For eksempel var en meget stor procentdel (76%) af murere med cementeczem i Barcelona overfølsomme overfor både krom og kobolt (42). I modsætning hertil sås en meget lav hyppighed af koboltoverfølsomhed (1,5%) blandt 272 asiatiske bygningsarbejdere, hvilket blev tilskrevet det lave indhold af opløselige koboltforbindelser i den anvendte cement i området (104). I en amerikansk undersøgelse fandt man, at det totale koboltindhold i prøver af 42 forskellige fabrikater af cement var mindre end 0,5 µg/g, og ingen ud af 95 testede arbejdere med eksponering for cement var positive overfor kobolt (251). Endelig skal nævnes et enkelt tilfælde, hvor en murer udviklede alvorlig dermatitis på de solbeskinnede dele af kroppen, hvilket blev tilskrevet en foto-sensibiliserende effekt med kobolt (41).

Kontaktdermatitis i hårdmetalindustrien er af den erytheme, papulære type (282), men den skyldes ikke i alle tilfælde allergi overfor kobolt. For eksempel fandt man i en undersøgelse af 360 hårdmetalarbejdere, at 16 havde kontaktezem, mens kun 3 personer var allergiske overfor kobolt (289). Fisher og Rystedt (89) testede 853 hårdmetalarbejdere (485 mænd og 368 kvinder) og fandt, at 62 (7,3%) havde positive reaktioner overfor kobolt. Da testen blev gentaget var kun 39 personer (9 mænd og 30 kvinder) positive, mens isoleret koboltallergi kun blev fundet hos 24 personer. Den største risiko for udvikling af koboltallergi blev set blandt personer beskæftiget med slibning og ætsning, og overhyppigheden blandt kvinder blev forklaret med samtidig eksponering for nikkel (272).

Eftersom kobolt er et konstant forureningselement i nikkellegeringer udgør smykker, øreringe og metalobjekter en potentiel kilde til kobolteksponering. Koboltallergi kan klinisk set minde om nikkelallergi (203), og personer, som er allergiske overfor nikkel, har 20 gange så stor risiko for også at være allergisk overfor kobolt sammenlignet med personer der ikke er allergiske overfor nikkel (1). Testning af personer, der er klassificeret som allergiske overfor kobolt, har vist, at den minimale koncentration, som giver et positivt testresultat, varierer fra 10 til 10.000 ppm (2,2-2260 ppm kobolt-ion) (13). Desuden synes belægning af koboltholdigt metal med et 1 µm lag af krom ikke at beskytte mod hudreaktioner

hos individer med koboltallergi (50). Eksponering overfor kobolt gennem brugen af personlige plejemidler, detergener og rensningsmidler skønnes at være ubetydelig, eftersom koboltindholdet sædvanligvis er under 5 ppm (26).

Eksponering overfor kobolt kan også ske gennem anvendelse af tandproteser og kunstige led, og visse patienter, som reagerer negativt på implantaterne, har positive hudreaktioner overfor kobolt (85,146).

### 10.3. Organeffekter efter gentagende eksponering

Effekter på åndedrætsorganerne synes at være dominerende hos personer med erhvervsmæssig eksponering overfor kobolt. Der eksisterer imidlertid en betragtelig viden omkring effekter på andre organer på grund af kobolts anvendelse i terapeutisk øjemed, og disse effekter vil også blive behandlet i det efterfølgende.

#### 10.3.1. Respirationsorganerne

*Effekter på hårdmetalarbejder* - Indånding af koboltholdigt støv forekommer især i hårdmetalindustrien, og der er bred enighed om, at kobolt er den vigtigste ætiologiske faktor i udviklingen af de såkaldte hårdmetal lungesygdomme (23, 29, 62, 67, 71, 280). Disse sygdomme omhandler i al væsentlighed tre former for reaktioner: Allergisk alveolitis, interstitiel lungefibrose og asthmatiske reaktioner (62).

Allergisk alveolitis (hypersensitiv pneumonitis) og lungefibrose anses for at være en del af det samme sygdomsmønster, som strækker sig fra den rene alveolitis til irreversibel lungefibrose. De klassiske symptomer, som ses hos hårdmetalarbejdere med massiv eksponering, er karakteriseret ved vægttab, hoste, hvæsende vejrtrækning, og dyspnø ved fysisk aktivitet. Røntgenfotografier af lungerne viser retikulo-nodulære skygger, og i lungebiopsier ser man cellulær infiltration i lungeinterstitiet med ophobning af lymfocytter og plasmocytter efterfulgt af forøgede mængder af kollagen og elastisk væv. Desuden finder man ved spirometriske undersøgelser en nedsat lungefunktion af den restriktive type, i.e., nedsat vitalkapacitet (FVC) og nedsat forceret ekspiratorisk volumen (FEV). Et andet karakteristisk tegn er arteriel hypoxi og en nedsat diffusionskapacitet for kulmonoxid under hvile eller fysisk aktivitet. Disse forandringer er observeret i talrige tilfælde (e.g., 21, 29, 56, 57, 63, 67, 88, 115, 116, 164, 200, 212, 239, 241, 280, 288).

Et karakteristisk tegn ved histopatologiske undersøgelser er tilstedeværelsen af store, multi-nukleære celler omkring alveolerne ("giant cell interstitial pneumonia") (e.g., 67, 239, 308). Analyse af grundstofferne i lungevævet fra arbejdere med hårdmetal lungefibrose har dokumenteret tilstedeværelsen af tungsten og tungstenkarbid i store mængder (56, 67, 164, 200, 239, 260, 270, 288). Derimod er koboltindholdet i lungerne ofte forholdsvis lavt eller under detektionsniveauet (56, 63, 67, 70, 114, 116, 164, 200, 239, 260, 270). Symptomerne kan fremkomme allerede efter få måneder eller først efter mange års eksponering (56). Normalt forværrer tilstanden langsomt ved vedvarende støveksponering, men i

mindre alvorlige tilfælde kan der ses forbedringer i lungefunktionen i arbejdsfrie perioder eller ved jobforandring (63, 67, 280, 288).

De kliniske karakteristika for asthma hos hårdmetalarbejdere svare til dem, man ser hos typiske tilfælde af erhvervsbetinget asthma. Symptomerne omfattede bl.a. tør hoste, hvæsende vejrtrækning, trykken i brystet, dyspnø ved fysisk aktivitet, og rhinitis. Personerne bliver ofte fuldstændig symptomfrie, eller der ses en væsentligt bedring, i forbindelse med weekender eller ferier, men får tilbagefald, så snart arbejdet genoptages. Desuden optræder der bedring under brug af åndedrætsværn eller ved installation af udsugnings- eller ventilationssystemer. Røntgenundersøgelser af thorax viser ingen forandringer i lungerne, men spirometriske tests viser en nedsat lungefunktion af den obstruktive type (nedsat FEV) (67, 176, 179, 280, 286, 287).

Latensperioden fra første eksponering til udviklingen af asthma hos 18 tilfælde varierede fra 3 mdr til 10 år (176). Forsøg med bronkial provokation har været vigtige for at klarlægge ætiologien bag asthmatilfældene blandt hårdmetalarbejdere, og man har vist, at både kobolt og koboltholdigt hårdmetalstøv kan fremkalde en positiv reaktion (asthmatiske symptomer eller fald i FEV) (67, 113, 254, 286, 287), mens der ikke ses nogen effekter ved inhalation af rent tungstenkarbid (55, 67). På den anden side er der også evidens for, at inhalation af nikkel kan inducere et fald i FEV hos patienter med koboltasthma (287).

Nedsat lungefunktion af den obstruktive type er blevet beskrevet i en serie undersøgelser af svenske hårdmetalarbejdere, som har været eksponeret for et relativt lavt niveau af kobolt (4, 5, 10). Lungefunktionen faldt gennem en arbejdsdag og gennem en arbejdsuge, hvorimod der optrådte forbedringer over weekenden. Faldet i lungefunktionen var mest markant hos personer med et højt eksponeringsniveau (0,06 mg Co/m<sup>3</sup>), især blandt rygere; men en tendens til et fald i lungefunktionen blev også observeret hos arbejdere, der var eksponeret for lavere koncentrationer (0,01 mg Co/m<sup>3</sup>). Medens lungefunktionen blev normaliseret weekenden over hos personer ved det lave eksponeringsniveau, havde personerne ved det høje eksponeringsniveau en vedvarende reduktion i lungefunktionen. Desuden havde arbejderne med det høje eksponeringsniveau hyppigere symptomer på slimhindeirritation end kontrollerne (se også Tabel 9).

De fleste af de udførte kliniske og radiologiske screeningsundersøgelser viser en lav prævalens for hårdmetal lungesygdomme. I en undersøgelse af 255 hårdmetalarbejdere i England fandt man kun et tilfælde af lungefibrose, men adskillige arbejdere havde mindre forandringer i lungerne (røntgen), som tydede i retning af begyndende fibrose. Desuden fandt man kun 4 tilfælde ved rutinemæssige helbredsundersøgelser på fabrikken over en periode på 15 år (29). I en undersøgelse blandt 1500 hårdmetalarbejdere i USA i perioden 1971-1973 fandt man kun 9 tilfælde af lungefibrose og 9 personer med asthmatiske symptomer (55, 56). I en japansk screeningsundersøgelse af 319 hårdmetalarbejdere var der 18 tilfælde (5,6%) af erhvervsbetinget asthma, og røntgenfotos viste diffuse skygger hos kun tre arbejdere (0,9%). Årsagen til pneumokoniosen var imidlertid ikke fuldstændig klarlagt i disse tilfælde (176). I en nyere tværsnitsundersøgelse af

1039 hårdmetalarbejdere i USA havde 26 personer (2,6%) unormale røntgenbilleder, men ud af disse blev kun 7 (0,7%) diagnosticeret som havende en interstitiel lungesygdom (295). I en fransk undersøgelse af 425 arbejdere med eksponering for hårdmetalstøv fandt man ingen tilfælde af fibrose, men mindre lungeforandringer sås hyppigere på røntgenbilleder af de eksponerede end hos kontrollerne (208). Enkelte af disse studier synes endvidere at vise en korrelation mellem koncentrationen af kobolt og hyppigheden af hårdmetal asthma og lungefibrose (176, 295).

*Effekter hos andre kobolteksponerede arbejdere* - I modsætning til de talrige undersøgelser over hårdmetalarbejdere findes der kun forholdsvis få studier af kobolteksponerede arbejdere i andre erhverv. Diamantslibere eksponeres for støv, som hovedsagelig indeholder kobolt og diamantfragmenter. Støvet opstår ved brugen af en speciel type slibesliver, som blev indført i begyndelsen af halvtørserne. Slibesliverne består af mikro-diamanter indlejret i en matrix af kobolt (71, 178, 315). Sygehistorier har efterfølgende dokumenteret at diamantslibere og andre arbejdere, som anvender slibende værktøjer af denne type, kan udvikle koboltasthma og interstitielle lungesygdomme i form af fibroserende alveolitis og "giant cell" interstitial fibrose i ligemed med, hvad man ser hos hårdmetalarbejdere (47, 72, 99, 227). I tilfælde med fibrose er koboltindholdet i lungerne markant forhøjet (72, 227). Desuden er der i en undersøgelse af 48 arbejdere beskæftiget med fremstilling af diamant-kobolt save påvist en nedsat lungefunktion af den restriktive type (nedsat FVC og FEV), som var korreleret med varigheden af eksponeringen (97).

Tilfælde af interstitiel lungefibrose og en høj hyppighed af bronkitis og asthmalignende symptomer er også rapporteret blandt arbejdere med eksponering for koboltkarbonat på en kobolt-katalysator fabrik (259). Koncentrationen af kobolt på arbejdspladsen lå på mellem 0,4 og 0,7 mg/m<sup>3</sup>.

Udover undersøgelser på hårdmetalarbejdere og diamantslibere er der udført et detaljeret studium på arbejdere i en finsk virksomhed, der producerer kobolt og zink (268). I denne undersøgelse fandt man, at risikoen for erhvervsbetinget asthma var 5 gange så høj hos arbejdere med eksponering for kobolt sammenlignet med ueksponerede kontrolpersoner. Der var imidlertid ikke nogen forøget risiko med hensyn til udvikling af kronisk bronkitis hos arbejdere med 6-8 års eksponering for kobolt i koncentrationer på 0,05 til 0,1 mg/m<sup>3</sup>.

Der er for nylig gennemført en belgisk undersøgelse af 82 arbejdere med gennemsnitlig 8 års eksponering for koboltsalte, koboltoxid og metallisk kobolt (0,125 mg Co/m<sup>3</sup>) på et anlæg for oprensning af kobolt (307). Ingen radiologiske forandringer blev rapporteret, og lungefunktionsundersøgelser gav ingen indikation for nedsat lungefunktion. Symptomer fra åndedrætsorganerne (dyspnø og hvæsende vejrtrækning) forekom dog mere hyppigt blandt de eksponerede (især hos rygere) sammenlignet med kontrollerne.

Lungefunktionen og symptomer fra åndedrætsorganerne er også blevet studeret i en undersøgelse af plattemalere med eksponering for koboltpigment (258). Undersøgelsespopulationen bestod af 46 kvinder med gennemsnitligt 11 års

ansættelse (min 2, max 25 år) sammenlignet med 51 ueksponerede kontroller. Analyser af luften på arbejdspladsen viste, at plattemalere havde være udsat for kobolt i koncentrationer på omkring 0,8 mg/m<sup>3</sup> (0,068-8,61 mg/m<sup>3</sup>), men man bedømte eksponeringsniveauet på undersøgelsestidspunktet til at ligge på omkring grænseværdien (0,05 mg/m<sup>3</sup>). Der var signifikant flere klager om luftvejsirritation, hoste og slimproduktion i den eksponerede gruppe sammenlignet med kontrolgruppen. Desuden var der en tendens til en højere hyppighed af asthmalignende symptomer blandt de eksponerede i forhold til de ueksponerede (11% vs. 2%). Undersøgelser af lungefunktionen viste en forøget luftmodstand blandt de eksponerede, men forandringerne var ikke relateret til koncentrationen af kobolt i blod eller urin.

### 10.3.2. Kardiovaskulære effekter

*Effekter efter erhvervs-mæssig eksponering* - På trods af det relativt høje eksponeringsniveau, der har været i hårdmetalindustrien, er der forholdsvis få sygehistorier, hvor kardiomyopati er blevet sat i forbindelse med eksponering for kobolt. Kardiomyopati er set hos to arbejdere med eksponering for koboltholdigt støv fra malm på et analyselaboratorium for mineraler (135), hos en metalarbejder med 4 års eksponering for kobolt (24), samt hos en hårdmetalarbejder, som var eksponeret gennem 4 år ved afvejning og blanding af kobolt og tungstenkarbid pulvere (154). I alle tilfælde fandt man forstørrelse af hjertet med histopatologiske forandringer i form af hypertrofiske eller degenererede muskelfceller samt områder med arvæv. Derudover fandt man markant højere koboltindhold i hjertet. Det er blevet foreslået, at det lave antal cases kunne skyldes misklassifikation af tilstanden (135), eller at de sporadiske cases kunne repræsentere et tilfældigt sammenfald af idiopatisk kardiomyopati og kobolteksponering (129).

Hjertefunktionen er blevet undersøgt hos 30 hårdmetalarbejdere med gennemsnitlig 10 års eksponering, og man fandt ingen evidens for en nedsat ventrikelfunktion i venstre side (129). Der var imidlertid en svag, men signifikant korrelation mellem varigheden af ansættelsen og "left ventricular ejection fraction". Derudover fandt man, at en undergruppe med afvigene røntgenfotos af lungene havde relativt lavere "right ventricular ejection fraction" under legemlig aktivitet sammenlignet med gruppen med normale røntgenbilleder.

En mere eller mindre tilsvarende undersøgelse er gennemført med 31 italienske hårdmetalarbejdere med gennemsnitlig 10,4 års eksponering for 0,009-13,6 mg Co/m<sup>3</sup> (65). EKG, blodtryk og puls var normale hos alle individerne. Imidlertid havde de personer, som led af hårdmetal lungesygdomme (n=12), en signifikant lavere "left ventricular ejection fraction" under hvile og fysisk aktivitet sammenlignet med raske hårdmetalarbejdere. Endvidere fandt man tilfælde af kardiomyopati med tvivlsom ætiologi blandt arbejderne i gruppen med hårdmetal lungesygdomme.

I en svensk undersøgelse af hårdmetalarbejdere fandt man, at vådslibere eksponeret for 0,01 mg Co/m<sup>3</sup> havde en forøget hyppighed af EKG-forandringer (nedsat amplitude af ST-og T-toppe, arytmi) sammenlignet med ueksponerede

kontroller (7), hvorimod man ikke så nogen effekt hos dem, der håndterede pulverne og var udsat for et højere eksponeringsniveau (0,06 mg Co/m<sup>3</sup>). Forskellen mellem vådsliberne og kontrollerne forsvandt efter 4 ugers ferie (8). I modsætning til disse resultater fandt man ingen EKG-abnormaliteter i undersøgelsen af plattemalere med gennemsnitlig 11 års eksponering for kobolt-pigmenter (0,068-8,61 mg Co/m<sup>3</sup>). Pulsen var dog signifikant forhøjet hos de eksponerede sammenlignet med kontrolgruppens (258).

*Effekter efter oral eksponering* - Den vigtigste effekt af kobolt og koboltforbindelser på det kardiovaskulære system er kardiomyopati. Talrige tilfælde af kardiomyopati fremkom blandt personer med et stort ølforbrug i Belgien, USA og Kanada, efter at man i en periode i tresserne tilsatte kobolt i form af chlorid eller sulfat til øllet for at forbedre stabiliteten af skummet (3,204,217,218). I Kanada fremkom tilfældene ca. en måned efter, at man begyndte at tilsætte koboltsulfat til øllet, og der opstod ikke nye tilfælde, efter at man ophørte med denne praksis. Selvom overdrevet indtagelse af alkohol og ernæringsmangel kan have bidraget til udviklingen af kardiomyopati hos øldrikkere, anser man kobolt for at være den essentielle faktor (157,217).

Øldrikkernes hjertesygdom var karakteriseret ved følgende: mavesmerter, kvalme, opkastninger, anorexi, cyanose, opsvulmede jugular vener, lavt blodtryk og forskellige EKG-abnormaliteter. Røntgenundersøgelser af thorax viste forstørrelse af hjertet med væskeudtrækning i perikardiet. Desuden havde de fleste af patienterne hæmatokritværdier i det øvre normalområde, eller de var deciderede polycytæmiske (3,157,204,218). Histopatologiske undersøgelser viste normale forhold i nogle tilfælde, mens der i andre sås hypertrofi eller degeneration af muskelceller samt interstitiel fibrose (3,35,157,204). Alle biopsier viste dog ultrastrukturelle forandringer så som opsvulmede mitochondrier, abnormt sarcoplasmatiske reticulum og udbredt forekomst af glykogenkorn (3,35). Endvidere var koboltkoncentrationen i hjertet omkring 10 gange den værdi, man normalt finder i hjertevæv (303).

Kardiomyopati er også blevet beskrevet hos en dialysepatient, som havde fået koboltchlorid mod anæmi (202). I dette tilfælde så man bl.a. forstørrelse af hjertet og arytmi. Ved obduktion fandtes fokal nekrose, vakuoliserede muskelfibre og et forhøjet indhold af kobolt i myokardiet.

### 10.3.3. Blod og bloddannendeorganer

Hematologiske effekter af kobolt er blevet undersøgt hos plattemalere med gennemsnitlig 11 års eksponering for koboltpigment (258). Eksponeringsniveauet blev anset som værende højt eftersom koboltkoncentrationen i urinen var 85-90 gange så høj hos de eksponerede som hos kontrollerne. Der blev ikke fundet nogen forskel i hæmatokrit mellem de eksponerede og kontrolpersonerne. Imidlertid fandt man små, ikke-signifikante forandringer hos plattemalere når de havde været væk fra arbejdet i en periode. Disse forandringer var dog ikke korreleret med koboltkoncentrationen i urinen.

I en undersøgelse af arbejdere, som var eksponeret for koboltsalte, koboltoxid og metallisk kobolt i forbindelse med raffinering af kobolt, fandt man en lille,

men signifikant reduktion i hæmatokritværdien og hæmoglobinindholdet, hvorimod antallet af hvide blodlegemer var forøget (307). Den lavere hæmatokritværdi i denne undersøgelse er modsat det, man ser i dyreforsøg og hos mennesker efter oral administration af koboltsalte.

På grund af kobolts stimulerende effekt på bloddannelsen har man tidligere anvendt koboltforbindelser til behandling af forskellige former for anæmi (e.g., 32, 77,108,170,281). Kobolt blev sædvanligvis indgivet i form af daglige orale doser af koboltchlorid (25-300 mg), og hos de fleste patienter medførte behandlingen hurtigt en forøgelse i antallet af røde blodlegemer og en stigning i hæmoglobinindholdet og hæmatokritværdien. Ved afbrydelse i koboltdoseringen faldt alle værdier inden for få måneder til niveauet før behandlingen (32, 77, 281).

Polycytæmi eller hæmatokritværdier i det øvre normalområde var forekom almindeligt hos de tidligere omtalte øldrikkere med koboltinduceret kardiomyopati (3, 157, 218). Nogle af disse tilfælde havde endvidere et forøget blodvolumen.

### 10.3.4. Skjoldbruskkirtel

Prescott et al. (257) har fremskaffet evidens for, at erhvervsmæssig kobolt-eksponering kan have en effekt på skjoldbruskkirtlens hormonmetabolisme. De sammenlignede skjoldbruskkirtlens funktion hos to grupper af plattemalere eksponeret for koboltpigment (gruppe 1 og 2) i forhold til ueksponerede kontroller. Gruppe 1 (n=36) var eksponeret for uopløseligt koboltaluminat over en periode på gennemsnitlig 14,6 år, medens gruppe 2 (n=25) var eksponeret for det halvopløselige kobolt-zink-silikat i gennemsnitligt 16,2 år. Gruppe 1 havde normale koncentrationer af kobolt i urinen og afveg ikke fra kontrolgruppen i nogen af de undersøgte parametre. Hos gruppe 2 var kobolt i urin derimod forøget 10 gange i forhold til kontrollerne og thyroxinniveauet i serum var signifikant forøget, samtidig med at der var en tendens til mindre volumen af skjoldbruskkirtlen. I en tidligere undersøgelse af plattemalere fandt man imidlertid ingen abnormaliteter i skjoldbruskkirtlens funktion (258). I modsætning til resultaterne fra disse studier fandt man et signifikant lavere serum thyroxinniveau hos arbejdere beskæftiget med koboltraffinering sammenlignet med ueksponerede kontroller (307).

Udover disse rapporter, er der studier, som indikerer, at oral indgift af koboltsalte har en effekt på skjoldbruskkirtlen. For eksempel fandt man, at børn og voksne som blev behandlet med koboltchlorid med henblik på at stimulere bloddannelsen, udviklede struma eller havde reduceret optagelse af <sup>131</sup>I i skjoldbruskkirtlen (77, 108, 170, 261, 281). Hos non-anæmiske patienter, som fik koboltchlorid (150 mg/d i 2 uger), faldt optagelsen af <sup>131</sup>I i skjoldbruskkirtlen også hurtigt, men vendte tilbage til det normale, når koboltdoseringen ophørte (263).

Histopatologiske undersøgelser af skjoldbruskkirtlen hos 14 tilfælde af koboltinduceret kardiomyopati blandt øldrikkere i Quebec viste signifikante forandringer hos 11 af individerne. Forandringerne, som omfattede reduceret

follikelstørrelse, epithel hyperplasi og fraværende kolloid, var ikke forbundet med kliniske tegn på underfunktion af skjoldbruskkirtlen (35, 269).

#### 10.3.5. Andre organer

Symptomer, som kan henføres til mave-tarmkanalen (anorexi, kvalme, opkastning, forstoppelse), er blevet beskrevet hos patienter, som har fået store doser af koboltchlorid mod anæmi (e.g., 32, 77, 281). Ellers blev der ikke fundet rapporter om effekter på mave-tarmkanalen.

Der findes nogle enkelte studier, som antyder, at kobolt kan have en effekt på nervesystemet og på sanseorganer. En 35 årig kvinde, som fik koboltchlorid gennem 6 mdr mod anæmi, fik flere alvorlige bivirkninger, herunder bl.a. bilateralt høretab (281). Symptomerne forsvandt, da koboltbehandlingen ophørte. En anden sygehistorie beskriver en 48 årig mand med nedsat syn, høretab, tinnitus og periodevis svimmelhed (207). Manden havde været eksponeret for koboltpulver gennem 20 mdr, og på undersøgelsestidspunktet havde han en høj koncentration af kobolt i blodet (234 µg/l). Patientens tilstand forbedredes, men efter 11 mdr var høretabet endnu ikke helt forsvundet.

Jordan et al. (147) undersøgte hukommelsen hos 12 tidligere hårdmetalarbejdere, som klagede over dårlig hukommelse. Arbejderne havde været udsat for tungstenkarbid, kobolt og uspecificerede opløsningsmidler, og i undersøgelserne påviste man nedsat hukommelse og opmærksomhed sammenlignet med forholdene hos 26 raske, ueksponerede personer. I betragtning af udvælgelseskriteriet og eksponeringsbeskrivelsen er resultatet af undersøgelsen næppe overraskende, og der er intet, som peger på kobolt som den causale faktor.

#### 10.4. Genotoksiske effekter

Litteratursøgningen resulterede kun i en enkelt publikation om genotoksiske effekter efter erhvervsmæssig eksponering for kobolt (98). Undersøgelsespopulationen inkluderede 26 arbejdere, som blev sammenlignet med 25 parrede kontroller. Arbejdspladsmålinger viste koboltkoncentrationer 0,11-0,164 mg/m<sup>3</sup> i 1986 og 0,01-0,012 mg/m<sup>3</sup> i 1989. Man fandt en statistisk signifikant forøgelse i scoren for SCE hos den eksponerede gruppe sammenlignet med kontrolgruppen. Niveaulet af tumormarkører i serum ("carcinoembryonic antigen" og "tissue polypeptide antigen") var også forøget hos de eksponerede i forhold til kontrollerne, men forskellen var ikke signifikant. Arbejderne havde også været udsat for andre potentielt genotoksiske metaller (nikkel og krom), og det er derfor ikke muligt at pege på et enkelt stof som værende ansvarlig for de observerede effekter.

#### 10.5. Kræftfremkaldende effekter

Der er kun få relevante studier, som beskæftiger sig med kræfttrisikoen hos kobolteksponerede arbejdere. Nogle cases og mindre epidemiologiske undersøgelser er for nylig blevet gennemgået i reviews (cf. 133,137), men der kan ikke

drages nogen konklusion med hensyn til den kræftfremkaldende effekt, idet disse studier er karakteriseret ved små undersøgelsespopulationer eller tilstedeværelsen af confounders.

#### 10.5.1. Erhvervsmæssig eksponering for kobolt

I en svensk undersøgelse blev dødsårsagerne opgjort for 3163 hårdmetalarbejdere med mindst ét års eksponering for koboltholdigt hårdmetalstøv i perioden 1940-1982 (127). Arbejderne blev fulgt i perioden 1951-1982, og populationen blev inddelt i 4 eksponeringsgrupper: < 0,002 mg/m<sup>3</sup>, 0,001-0,005 mg/m<sup>3</sup>, 0,01-0,03 mg/m<sup>3</sup> og 0,01-11 mg/m<sup>3</sup>. Der var 292 dødsfald (inklusive 73 tumortilfælde) blandt personer under 80 år indenfor opgørelsesperioden. Standardiserede dødsrater (SMR) blev udregnet ud fra nationale dødsrater, og man fandt 17 tilfælde af lungekræft mod 12,7 forventede (SMR 134; 95% CI 77-213). For arbejdere med mere end 10 års eksponering og en latenstid på mindst 20 år så man en signifikant forøgelse af lungekræfttilfælde, i.e., 7 observerede tilfælde mod 2,5 forventede indenfor alle eksponeringskategorier (SMR 278; 95% CI 111-572). I de to laveste eksponeringsgrupper var der 3 tilfælde mod 1,3 forventede, og 4 tilfælde af lungekræft blev observeret i de to højeste eksponeringsgrupper mod 1,2 forventede. Arbejderne, der havde rygevaner svarende til andre svenske mænd, havde også været udsat for andre stoffer i hårdmetalstøvet, men ikke for andre kendte kræftfremkaldende stoffer.

Mur et al. (224) opgjorde dødeligheden i en kohorte af 1143 arbejdere på en fransk elektrokemisk virksomhed, som producerede natrium og kobolt. Kohorten bestod af alle mænd (24,9% immigranter), som havde arbejdet på virksomheden i mindst ét år mellem 1950 og 1980. Tohundredeogtrenten personer døde før 1981 (80% af kendte årsager), og der var en signifikant højere forekomst af lungekræft blandt personer, som kun havde været beskæftiget ved produktion af kobolt (SMR 466; 95% CI 146-1064). Denne undersøgelse er karakteriseret ved ganske få cases, og det er muligt, at immigranterne kan have en anden hyppighed af lungekræft en den indfødte franske population, på hvilken SMR-værdierne blev baseret. Desuden var arbejderne i koboltproduktionen også eksponeret for andre kendte kræftfremkaldende stoffer så som nikkel og arsen. En nyere follow-up på en subkohorte af de indfødte franske arbejdere støttede ikke hypotesen om en relation mellem lungekræft og kobolteksponering (222).

#### 10.5.2. Koboltholdige implantater

Mindst 10 tilfælde af maligne tumorer (fortrinsvis sarcomer) er blevet rapporteret efter kirurgisk implantering af koboltholdige proteser (61, 133). En kohorteundersøgelse med 1358 personer, som fik indopereret kunstige hoftelid i perioden 1966-1973, viste, at cancerhyppigheden indenfor de første 10 år efter operationen var lavere end forventet (101). Ti år eller mere efter operationen var cancerhyppigheden imidlertid signifikant forøget (57 observerede vs. 35,6 forventet; SMR 160; 95% CI 122-209). Det skal bemærkes, at sammensætningen af hofteprotesen ikke blev rapporteret i denne undersøgelse.

Tabel 8. Effekten af kobolt og koboltforbindelser på åndedrætsorganerne i inhalationsforsøg med dyr

Art	Koncentration <sup>1)</sup>	Eksponeringsstid	Effekt	Reference
Marsvin	WC/Co (3:1) 2.800-10.600 partikler/cm <sup>3</sup>	8 h/d, 5 d/u 20 d (+5 d ueksponeret) + 10 d	Akut pneumonitis; 80% døde under ell. efter eksponeringen	(69)
Rotte, mus, hamster, kanin	metallisk Co "høj konc."	6 h/d 1-4 d	Lungeblødninger og ødem; mange døde	(112)
Rotte	Co <sup>++</sup> (som CoSO <sub>4</sub> ) 3,67 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 13 u	Degeneration af lugteepitel, sår og inflammation, polypper i larynx, lungefibrose	(38)
Mus	Co <sup>++</sup> (som CoSO <sub>4</sub> ) 3,67 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 13 u	Nasal inflammation, degeneration af lugteepitel, hyperplasi af alveolepithelet	(38)
Rotte	metallisk Co 2,1-2,7 mg/m <sup>3</sup>	5 h/d, 1 ell. 4 d	Inflammation i luftvejene, ødem, ødelagte cilier; proliferation af fibroblaster, bronkiepitel og type II celler	(177)
Kanin	metallisk Co 1,3 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 4-6 u	Ingen effekt på alveolære makrofager	(143)
Mini-svin	metallisk Co 1,0 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u 3 mdr	Fortykkelse af alveoleseptre, forøget kollagen (EM), nedsat lungekompliance	(156)
Kanin	Co <sup>++</sup> (som CoCl <sub>2</sub> ) 0,9, 2,0 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 14-16 u	Forøget fibronectinindhold og lysozym-aktivitet i lungeudvasknings væske. (LOEL: 0,9 mg/m <sup>3</sup> )	(31)

Tabel 8. Forts.

Art	Koncentration <sup>1)</sup>	Eksponeringsstid	Effekt	Reference
Kanin	Co <sup>++</sup> (som CoCl <sub>2</sub> ) 0,5 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 4-6 u	Hyperplasi af type II celler i alveolerne	(142)
Kanin	Co <sup>++</sup> (som CoCl <sub>2</sub> ) 0,4, 2,0 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 14-16 u	Interstitiel lungeinflammation, nodulær akkumulation af type II celler, forandringer i makrofagernes struktur og funktion. (LOEL: 0,4 mg/m <sup>3</sup> )	(144,145)
Kanin	metallisk Co 0,2 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 4-6 u	Ingen effekt på alveolære makrofager	(143)
Rotte, mus	Co <sup>++</sup> (som CoSO <sub>4</sub> ) 0,11 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 13 u	Inflammation og squamøs metaplasi af larynx; infiltration med histiocyter i alveolerne.	(38)
Mini-grise	metallisk Co 0,1 mg/m <sup>3</sup>	6 h/d, 5 d/u, 3 mdr	Fortykkelse af alveoleseptre kollagenindlejring (EM)	(156)

1) Koboltkoncentrationen er direkte refereret eller er omregnet ud fra de oplyste data i referencerne.

Som konklusion skal det anføres, at der kun er én epidemiologisk undersøgelse (127), som peger i retning af en forøget cancerrisiko for personer med erhvervs-mæssig eksponering for kobolt. Men eftersom der mangler detaljerede genotoksiske data for mennesker samt velgennemførte dyreforsøg med eksponering via inhalation, kan man ikke p.t. konkludere om kobolt skal anses som værende kræftfremkaldende for mennesker. IARC (133) har vurderet, at de humane data er utilstrækkelige ("inadequate"), men på grund af tilstrækkelig evidens ("sufficient evidence") i dyreforsøg med visse koboltforbindelser (metallisk kobolt, koboltoxid) konkluderer IARC, at kobolt og koboltforbindelser muligvis er kræftfremkaldende ("possibly carcinogenic") for mennesker (gruppe 2B).

## 11. Sammenhæng mellem eksponering, effekt og respons

### 11.1. Data fra dyreforsøg

Eksponering for kobolt i høje koncentrationer medfører inflammation i luftvejene, pneumonitis samt dødelige blødninger og ødemdannelse i lungerne. Ved et middel eksponeringsniveau (2-11 mg Co/m<sup>3</sup>) og en eksponeringstid på få dage til uger har man i forsøg med rotter og mus set forskellige effekter på åndedrætsorganerne, i.e., inflammation, degeneration af lugteepitelet, proliferation af fibroblaster, og fibrose (se Tabel 8 ang. detaljer og referencer). Systemiske effekter i form af polycytæmi og atrofi af testiklerne er også set ved dette eksponeringsniveau. Ved koncentrationer på omkring 0,4-2,0 mg Co/m<sup>3</sup> er det blevet dokumenteret, at der sker forandringer i de alveolære makrofagers struktur og funktion tillige med ultrastrukturelle forandringer i lungerne. Histologiske forandringer i lungerne er set både ved lysmikroskopi og elektronmikroskopi hos rotter, mus og mini-svin efter ca. 3 mdr eksponering for metallisk kobolt (eller kobolt-ioner) i koncentrationer på omkring 0,1 mg/m<sup>3</sup>, hvilket må betragtes som det laveste observerede effektniveau (LOEL). Et "no effect" niveau (NOEL) er ikke blevet stadfæstet i dyreforsøg.

### 11.2. Human data

#### 11.2.1. Effekter på åndedrætsorganerne

Resultaterne fra de vigtigste studier, der viser dosis-effekt eller dosis-respons sammenhæng, er resumeret i Tabel 9. Nogle undersøgelser har klart dokumenteret, at der er en sammenhæng mellem koncentrationen af kobolt i arbejdsmiljøet og hyppigheden af asthma og symptomer fra åndedrætsorganerne (e.g., 4, 5, 176, 295), og i andre tilfælde har man set nedsat lungefunktion (spirometriske tests), der er relateret til eksponeringstiden (længde af ansættelsen) (97). For eksempel fandt man i en undersøgelse af 48 arbejdere (produktion af diamant-kobolt save)

med et gennemsnitligt eksponeringsniveau på 0,135 mg Co/m<sup>3</sup> (blanding af pulvere) eller 0,015 mg Co/m<sup>3</sup> (ovn-rum), at nedsat lungefunktion (reduceret FVC, FEV<sub>1</sub>, MEF75) forekom oftere hos de eksponerede grupper (både nyere og ikke-rygere) end hos kontrollerne, og de spirometriske parametre viste en negativ korrelation med varigheden af eksponeringen (97). I en undersøgelse af 290 hårdmetalarbejdere fandt man en signifikant sammenhæng mellem peak ekspiratorisk flow (men ikke FVC, FEV<sub>1</sub>, eller FEV<sub>1</sub>/FVC) og varigheden af ansættelsen i den ene af to subpopulationer (296). I en anden undersøgelse af 425 hårdmetalarbejdere eksponeret for 0,03-0,270 mg Co/m<sup>3</sup> var der hyppigere symptomer fra åndedrætsorganerne og afvigelser i de spirometriske tests end hos 88 ueksponerede kontroller (208), men der var ingen korrelation med længden af eksponeringstiden.

Alexandersson undersøgte lungefunktionen og symptomer fra åndedrætsorganerne hos 291 svenske hårdmetalarbejdere sammenlignet med 126 ueksponerede kontroller (4,5). Undersøgelserpopulationen blev inddelt i forskellige eksponeringsgrupper på basis af jobbeskrivelser og arbejdshygiejniske målinger (A, 0,005-0,01; B, 0,06; C, 0,012; D, 0,008; E, 0,003; F, 0,002 mg Co/m<sup>3</sup>; og K, kontroller). Ingen abnormaliteter blev set ved røntgenundersøgelser af thorax, men der var en signifikant højere hyppighed af slimhindeirritation (øjne, næse, svælg) i alle eksponeringsgrupper sammenlignet med kontrollerne. Kronisk bronkitis og nedsat lungefunktion (nedsat FEV<sub>1</sub>, FEV%, MMF) forekom kun i gruppen med det højeste eksponeringsniveau (B). Desuden var der i denne gruppe evidens for en faldende lungefunktion gennem en arbejdsdag, og der blev observeret forbedringer over weekenden. Forskellen i FEV<sub>1</sub> mellem eksponerede og kontroller var signifikant korreleret med kobolt i blodet og i urinen hos rygere i gruppen med det høje eksponeringsniveau.

En japansk undersøgelse af 319 hårdmetalarbejdere har vist, at asthma forekommer hyppigere blandt individer eksponeret for høje koncentrationer af kobolt (176). Blandt 21 pulverarbejdere med et gennemsnitligt eksponeringsniveau på 0,688 mg Co/m<sup>3</sup> (0,006-6,4 mg Co/m<sup>3</sup>) havde 38% (8 individer) asthma, medens kun 4,5% (10 individer) havde asthma blandt 221 "shapers", slibe- og sinterarbejder med et eksponeringsniveau på 0,03-0,126 mg Co/m<sup>3</sup>. I denne undersøgelse var den totale hyppighed (prævalens) af asthma 5,6% (18 tilfælde ud af 319 undersøgte). I en stor amerikansk undersøgelse fandt man, at prevalensen af arbejdsrelateret hvæsende vejrtrækning var højere blandt individer eksponeret for mere end 0,05 mg Co/m<sup>3</sup> i sammenligning med dem, der var udsat for lavere koncentrationer (295). Desuden var odds'ene for afvigende røntgenbilleder af lungerne 5,1 gange for individer med et eksponeringsniveau højere end 0,1 mg Co/m<sup>3</sup> i forhold til dem, der var udsat for mindre end 0,1 mg Co/m<sup>3</sup>.

I modsætning til disse resultater var det ikke muligt at demonstrere nogen relation mellem varigheden af ansættelsen og lungefunktionen i en undersøgelse af 362 arbejdere, som var beskæftiget med fremstilling af sintrede permanente magneter ud fra pulvermetallurgiske metoder (73). Arbejderne var udsat for

Tabel 9. Nøglestudier der viser dosis-effekt eller dosis-respons sammenhæng hos personer med erhvervsmæssig eksponering for kobolt eller koboltforbindelser

Undersøgelsespopulation	Co koncentration <sup>1,2)</sup>	Varighed	Effekt/respons <sup>3)</sup>	Ref.
46 plattemalere vs. 51 kontroller	0,8 (0,068-8,61) (koboltpigment)	11 år (2-25 år)	Luftvejsirritation, hoste og asthmalignende symptomer hyppigere hos eksponerede vs. kontroller. Forøget luftmodstand og højere puls hos eksponerede.	(258)
319 hårdmetalarbejdere	I: 0,688, (0,006-6,4) II: 0,03-0,126	9,4 år (1-29 år)	3 tilfælde (1%) med lungefibrose. 18 cases (5,6%) med arbejdsrelateret asthma (højere prævalens i gruppe I end i gruppe II).	(176)
1039 hårdmetalarbejdere	I: > 0,1 II: 0,05-0,1 III: < 0,05	7,0 år	Øget hyppighed af radiologiske forandringer i gruppe I (5,1 x). 15,4-18,1% hvæsende vejrtrækning i gruppe I og II. 9,2% med hvæsende vejrtrækning i gruppe III.	(295)
425 hårdmetalarbejdere vs. 88 kontroller	0,03-0,272	14 år	Mindre kliniske, radiologiske og funktionelle afvigelser hos de eksponerede.	(208)
48 produktionsarbejdere (diamant-kobolt save) vs. 23 kontroller	0,015-0,135	6 år (0,2-32 år)	Ventilations parametre (FEV <sub>1</sub> , FVC, MEF75) signifikant lavere hos eksponerede vs. kontroller.	(97)
42 hårdmetalarbejdere vs. 84 kontroller	0,126 (0,006-0,61)	10 år (2-20 år)	Alle ventilations parametre lavere hos eksponerede vs. kontroller; signifikant kun for FEV <sub>1</sub> .	(174)
82 kobolt raffineringssarb. vs. 82 kontroller	0,125 (forsk. Co-forbindelser)	8 år (0,3-39,4 år)	Dyspnø og hvæsende vejrtrækning mere hyppig blandt eksponerede. Ingen evidens for radiologiske afvigelser eller nedsat lungefunktion. Hormonændringer (thyreoidea) og hæmatologiske forandringer	(307)
225 kobolt produktionsarb. vs. 161 kontroller	0,05-0,1 (koboltsulfat)	7,3 år	Luftvejsymptomer signifikant hyppigere hos eksponerede vs. kontroller. Ingen evidens for nedsat lungefunktion. Forøget risiko (7,3 x) for arbejdsrelateret asthma (særskilt undersøgelse).	(268)
42 hårdmetalarbejdere	0,085 (0,017-0,610)	6 t (akut eksp.)	Ingen irritation. Ingen signifikante ændringer i ventilations parametre.	(174)

Tabel 9. Forts.

Undersøgelsespopulation	Co koncentration <sup>1,2)</sup>	Varighed	Effekt/respons <sup>3)</sup>	Ref.
291 hårdmetalarbejdere vs. 126 kontroller	I: 0,005-0,06 II: 0,06 III: 0,012 IV: 0,008 V: 0,003 VI: 0,002	7-11 år	Højere hyppighed af slimhindeirritation i alle eksponerings grupper vs. kontroller. Nedsat lungefunktion (lavere FEV <sub>1</sub> , FEV%, MMF) i høj-eksponeringsgruppen (II). Fald i lungefunktionen gennem arbejdsdagen og ugen (gruppe II). Ingen radiologiske forandringer.	(4,5,10)
60 plattemalere vs. 48 kontroller	0,05 (koboltpigment)	15 år	Forøget serum thyroxin niveau og tendens til lavere thyreoidea volumen i undergruppe eksponeret for opløseligt koboltpigment.	(257)
15 forsøgspersoner	0,038 (0,014-0,076) (hårdmetalstøv)	6 t (akut eksp.)	Luftvejsirritation. FVC signifikant lavere efter eksponering.	(174)
3 cases (hårdmetalarbejdere)	0,018-0,031	10-17 år	Arbejdsrelateret asthma (dokumenteret ved bronkial provokation).	(176)
362 pulvermetalarbejdere vs. ext. reference population	0,017 (0,001-0,466) (blandet støvexp.)	21,7 år	Hyppigheden af radiologiske forandringer (0,6%) svarer til referencepopulationens. FEV <sub>1</sub> og FVC lig med eller højere end forventet. Højere prævalens af kronisk hoste hos eksponerede rygere.	(73)
146 hårdmetalarbejdere vs. 126 kontroller	I: 0,06 II: 0,01	7-10 år	Højere hyppighed af EKG-forandringer i lav-eksponeringsgruppen (II, vådslibere), men ikke i høj-eksponeringsgruppen (I). (Ingen forskel mellem eksponerede og kontroller efter 4 ugers ferie).	(7,8)
4 cases (vådslibere)	< 0,01 (Co <sup>++</sup> i køle- smøremidler)	3-4 år	Allergisk alveolitis.	(288)
3 cases (hårdmetalarbejdere)	< 0,008	1-7 år	Nedsat lungefunktion. Biopsi (2 cases) visende lungefibrose.	(295)

1) Gennemsnitlig koboltkoncentration i mg Co/m<sup>3</sup>; værdierne i parentes indikerer min/maks eksponering. I tilfælde hvor mere end én eksponeringsgruppe er undersøgt, er disse angivet ved romertal. Ellers, er gruppegennemsnit udregnet fra de opgivne data.

2) På grund af forskel i registreringsteknik er værdierne ikke nødvendigvis direkte sammenlignelige.

3) FEV<sub>1</sub>, forceret ekspiratorisk volumen; FEV%, FEV<sub>1</sub> i procent af FVC; FVC, vitalkapacitet; MEF75, gns. ekspiratorisk flow ved 75%; MMF, maximalt midt- ekspiratorisk flow



forholdsvis lave koncentrationer af kobolt ( $0,001-0,466 \text{ mg Co/m}^3$ ; gns.  $0,017 \text{ mg Co/m}^3$ ), sjældne metaller (neodymium, samarium) og kvarts ( $0,009 \text{ mg/m}^3$ ). Når der blev korrigeret for forskelle i alder og rygevaner, kunne man ikke se nogen forskel i lungefunktionen hos arbejdere med mere end 22 års ansættelse og arbejder med kortere tids ansættelse. Desuden var prævalensen af afvigende røntgenbilleder af lungerne sammenlignelig med referencepopulationens, og de spirometriske parametre ( $FEV_1$ , FVC) lå lidt højere end forventet ("healthy worker effect").

Roto (1980) undersøgte arbejdere med gennemsnitlig 7,3 års eksponering for kobolt/koboltsulfat på en finsk fabrik, som producerer kobolt (268). Arbejdshygiejniske målinger over en periode på flere mdr viste luftkoncentrationer af kobolt i området  $0,05-0,1 \text{ mg/m}^3$ . Der var ingen evidens for nedsat lungefunktion (spirometriske tests), men hyppigheden af åndedræts symptomer var signifikant højere hos koboltarbejderne end hos ueksponerede kontroller (ingen korrelation med varigheden af ansættelsen). Desuden var risikoen for arbejdsrelateret asthma 7,3 gange større hos de kobolteksponerede arbejdere end hos kontrollerne.

Hogstedt og Alexandersson (1987 og 1990) har rapporteret om dødsårsagerne hos svenske hårdmetalarbejdere (126,127). Der blev udført en retrospektiv evaluering af eksponeringsniveauet, og undersøgelsespopulationen blev inddelt i to grupper med henholdsvis lav ( $0,001-0,01 \text{ mg Co/m}^3$ ) og høj eksponering ( $>0,01 \text{ mg Co/m}^3$ ). I en præliminær analyse baseret på data fra 1901 mandlige arbejdere fandt man en overhyppighed af lungekræft i en subkohorte med lang tids eksponering, men der var ingen tydelig sammenhæng med eksponeringstiden (126). I den efterfølgende opgørelse, som var baseret på 3163 mandlige arbejdere, var der ikke nogen forhøjet dødelighed i gruppen som helhed (SMR=96). Gruppen med det høje eksponeringsniveau havde imidlertid en forhøjet dødsrisiko med hensyn til iskæmiske hjertesygdomme og lungesygdomme (inkl. lungefibrose). Mortaliteten som følge af lungekræft var signifikant forhøjet (SMR=278) for arbejdere med lang tids ansættelse, og der var en tendens til en forøget risiko blandt de højkseponerede (SMR=333) i forhold til gruppen med lavt eksponeringsniveau (SMR=227).

Hyppigheden af luftvejslidelser (inkl. asthmalignende symptomer) var signifikant højere hos platemalere med eksponering for koboltpigment ( $0,068-8,61 \text{ mg Co/m}^3$ ; gns.  $0,8 \text{ mg Co/m}^3$ ) i forhold til ueksponerede kontroller (258). Endvidere viste lungefunktionsundersøgelser en forøget luftmodstand hos de eksponerede. Resultaterne var dog ikke relateret til koncentrationen af kobolt i blodet eller i urinen. En undersøgelse af skjoldbruskkirtlens funktion hos platemalere blev foretaget, efter forbedringer på ventilationssystemet var udført (gns. eksponeringsniveau:  $0,05 \text{ mg Co/m}^3$ ). Et signifikant forhøjet niveau af thyroxin i serum sammen med en tendens til mindre volumen af skjoldbruskkirtlen blev observeret i den gruppe, som var eksponeret for det halvopløselige kobolt-zink-silikat pigment. Dog var der igen ingen korrelation mellem de undersøgte parametre og koncentrationen af kobolt i blod og urin (257).

I en undersøgelse af arbejdere med gennemsnitlig 8 års eksponering for koboltsalte, koboltoxid og metallisk kobolt ( $0,125 \text{ mg Co/m}^3$ ) fandt man en højere hyppighed af luftvejslidelser hos de eksponerede sammenlignet med kontrolgruppen (307). Desuden var reduktionen i  $FEV_1/FVC$  og forekomsten af dyspnø relateret til koncentrationen af kobolt i luft og i urin. Hyppigheden af afvigende resultater i blodprøver (serum thyroxin, TSH, hvide og røde blodlegemer) var også signifikant højere end i kontrolgruppen, men disse parametre viste ingen korrelation med kobolt i urin eller varigheden af ansættelsen.

Effekter på åndedrætsorganerne er i visse tilfælde blevet rapporteret ved meget lave koncentrationer af kobolt. For eksempel klagede forsøgspersoner (uden erhvervsmæssig eksponering for kobolt) over luftvejsirritation og havde signifikant reduceret FVC efter 7 timers eksponering for hårdmetalstøv ( $0,8 \text{ mg/m}^3$ ) med kobolt i koncentrationer på  $0,038 \text{ mg Co/m}^3$  (174). Derimod så man ingen effekter hos hårdmetalarbejdere, som akut blev eksponeret for højere koncentrationer (totalstøv,  $1,4 \text{ mg/m}^3$ ; kobolt,  $0,085 \text{ mg/m}^3$ ). Hårdmetalarbejderne havde imidlertid lavere værdier i lungefunktionsundersøgelser end personerne uden erhvervsmæssig eksponering for kobolt. I en af de svenske undersøgelser af hårdmetalarbejdere (10) blev det rapporteret, at der var en tendens til faldende lungefunktion gennem arbejdsugen hos en gruppe, som var eksponeret for  $0,01 \text{ mg Co/m}^3$ .

Sjögren et al. har beskrevet 4 tilfælde af allergisk alveolitis blandt vådslibere på en svensk hårdmetalvirksomhed (288). Koboltkoncentrationen i luften, hvor der blev udført slibning var under  $0,01 \text{ mg/m}^3$  og lå sædvanligvis indenfor området fra  $0,002$  til  $0,004 \text{ mg/m}^3$ . Eksponeringen blev tilskrevet inhalering af aerosoler af køle-smøremidler, som indeholdt opløste kobolt-ioner, hvilke formodes at være mere toksiske end metallisk kobolt. Ifølge forfatterne var disse 4 tilfælde de eneste blandt 3000 hårdmetalarbejdere gennem flere år. Arbejdsrelateret asthma dokumenteret ved bronkial provokation med kobolt er endvidere beskrevet hos 3 japanske hårdmetalarbejdere, som efter oplysningerne kun skulle have været eksponeret for  $0,018-0,031 \text{ mg Co/m}^3$  (176). Det er interessant i denne sammenhæng, at 2 af disse arbejdere også havde været beskæftiget med vådslibning. Sprince et al. (295) fandt evidens for interstitielle lungesygdomme hos 3 hårdmetalarbejdere med et gennemsnitligt eksponeringsniveau (over hele livet) på mindre end  $0,008 \text{ mg Co/m}^3$ .

#### 11.2.2 Effekter på hjertet

Udover oplysninger om effekter på åndedrætsorganerne er der også studier af hjertefunktionen og EKG-forandringer i relation til kobolteksponering. I en undersøgelse af svenske hårdmetalarbejdere fandt Alexandersson og Atterhög (7), at slibere med et gennemsnitligt eksponeringsniveau på  $0,01 \text{ mg Co/m}^3$  havde en forøget hyppighed af EKG-forandringer (formindsket ST- og T-toppe, arytm) sammenlignet med ueksponerede kontroller, hvorimod der ikke sås forandringer hos pulverarbejdere, som var udsat for højere koncentrationer ( $0,06 \text{ mg Co/m}^3$ ). EKG-forandringerne synes ikke at være relateret til varigheden af ansættelsen,

eftersom forskellen i hyppigheden af afvigelser hos arbejdere med lang eksponeringstid (> 7-8 år) og parrede kontroller var den samme som hos arbejdere med kortere eksponeringstid. Forfatterne af denne undersøgelse konkluderede, at forandringerne, som sås hos vådslibere, sandsynligvis ikke skyldtes kobolt. I et opfølgende studium blev det imidlertid vist, at forskellen i EKG mellem vådslibere og kontroller forsvandt efter 4 ugers ferie (8).

I modsætning til disse resultater observerede man ingen forskelle i EKG mellem plattmalere med høj eksponering for kobolt (gns. 0,8 mg Co/m<sup>3</sup>) og ueksponerede kontroller (258). Dog var pulsen højere hos de eksponerede, men der var ingen korrelation mellem puls og kobolt i blod eller urin.

Hjertefunktionen er også blevet undersøgt i en gruppe af 30 amerikanske hårdmetalarbejdere ved anvendelse af "gated cardiac pool imaging" (129). Selvom arbejderne havde været eksponeret for kobolt i gennemsnitlig 10 år (eksponeringsniveau ikke rapporteret) var der ingen indikation for nedsat hjertefunktion. Dog fandt man en svag negativ korrelation mellem funktionen af venstre ventrikel og varigheden af eksponeringen.

## 12. Evaluering af helbredsrisici

### 12.1. Grupper med forøget risiko

Vådslibere eksponeret for kobolt opløst i aerosoler af køle-smøremidler synes at have en forøget risiko for udvikling af lungesygdomme (288,295). Om dette skyldes en forøget toksicitet af kobolt-ionen i forhold til metallisk kobolt eller en synergistisk effekt af kobolt og køle-smøremidler (eller mikroorganismer i disse), er ikke klarlagt.

Både dyreforsøg og humanstudier viser, at rygere og grupper med samtidig eksponering for andre typer af støv (e.g., diamantstøv, tungstenkarbidstøv) kan have en forøget risiko for lunge og luftvejslidelser, især interstitielle lungesygdomme (se f.eks. 307). Desuden er det muligt, at kvinder kan være udsat for en forholdsvis højere risiko på grund af højere absorption af kobolt (53).

### 12.2. Vurdering af helbredsrisici

De vigtigste helbredsrisici der er forbundet med erhvervs mæssig eksponering for kobolt og koboltforbindelser er hudsensibilisering (allergisk kontaktezem), interstitielle lungesygdomme og obstruktive lungesygdomme. Risikoen for at udvikle asthma og asthmalignende symptomer, tillige med forandringer i lungerne (røntgen), forøges ved eksponeringsniveauer over 0,05 mg Co/m<sup>3</sup> (268,295). Effekter på hjerte, blod og skjoldbruskkirtel er beskrevet i dyreforsøg og hos mennesker efter oral eller i.v. indgift af koboltsalte, men der findes kun få rapporter om systemiske effekter efter erhvervs mæssig eksponering for kobolt.

Kobolt og koboltforbindelser er fundet mutagene i adskillige mikrobielle testsystemer. Desuden har kobolt og koboltforbindelser en kræftfremkaldende effekt på forsøgsdyr efter intramuskulær implantering/injektion eller intratracheal instillation. Imidlertid kan man ikke ud fra de tilgængelige epidemiologiske studier drage endegyldige konklusioner med hensyn til kræftrisikoen for personer med erhvervs mæssig eksponering for kobolt.

### 12.3. Videnskabelig basis for en grænseværdi

Påvirkningen af lungefunktionen har vist sig som en konsistent forekommende effekt ved eksponeringsniveauer ned til 0,05 mg Co/m<sup>3</sup>. Akutte, reversible effekter (irritation, nedsat FVC) er set hos forsøgspersoner eksponeret for 0,038 mg Co/m<sup>3</sup>. Ved et gennemsnitligt eksponeringsniveau under denne værdi er der enkeltstående tilfælde af allergisk alveolitis og arbejdsrelateret asthma. Rapporterne om effekter på hjertet (EKG-forandringer) hos hårdmetalarbejdere med et eksponeringsniveau på 0,01 mg Co/m<sup>3</sup> er ikke overbevisende, eftersom effekterne ikke ses hos arbejdere med et højere eksponeringsniveau. Det skal desuden bemærkes, at der i en velgennemført undersøgelse af pulvermetallurgiske arbejdere (blandet støvekspose) ikke påvistes effekter på åndedrætsorganerne ved et gennemsnitligt eksponeringsniveau på 0,017 mg Co/m<sup>3</sup>, med undtagelse af kronisk hoste hos rygere.

I arbejdsmiljø mæssig sammenhæng er eksponering af åndedrætsorganerne dominerende, og effekterne på lunger og luftveje udgør de kritiske effekter. En luftkoncentration på 0,05 mg Co/m<sup>3</sup> svarer til LO(A)EL-værdien ("Lowest Observed (Adverse) Effect Level"), og 0,01 mg Co/m<sup>3</sup> kan anses som værende LOEL-værdien for erhvervs mæssigt eksponerede personer. Det er dog muligt, at særligt følsomme personer, eller arbejdere med eksponering for opløst kobolt (kobolt-ioner i aerosoler af køle-smøremidler), kan vise reaktioner ved endnu lavere koncentrationer. Fastsættelse af grænseværdien bør desuden ske under hensyntagen til, at kobolt er hudsensibiliserende og muligvis kræftfremkaldende.

## 13. Forskningsbehov

Det er blevet antydnet, at opløst kobolt (kobolt-ioner) er mere toksisk end metallisk koboltstøv. Dette aspekt kræver yderligere dokumentation både fra dyreforsøg og undersøgelse af arbejdere eksponeret for opløste koboltforbindelser. Desuden er det også nødvendigt med yderligere information omkring synergistiske effekter af kobolteksponering og andre former for eksponering (e.g., nikkel, tungstenkarbid, aerosoler af køle-smøremidler).

De isolerede tilfælde af kardiomyopati, som er set hos kobolteksponerede pulvermetalarbejdere og teknikere på et analyselaboratorium for mineraler (24,135,154), burde anspore til yderligere forskning med speciel henblik på kobolteksponering og hjerte-karsygdomme. På samme måde burde

observationerne af en mulig effekt af kobolteksponering på skjoldbruskkirtlens funktion følges op af mere detaljerede studier.

Derudover er der behov for mere information om mulige genotoksiske effekter hos arbejdere med eksponering for kobolt og koboltforbindelser. Velgennemførte epidemiologiske studier med en stor undersøgelsespopulation og kontrol af confounders (blandingseksponering) er også nødvendige for at kunne evaluere kræfttrisikoen i forbindelse med erhvervsmæssig eksponering for kobolt. I denne sammenhæng skal det bemærkes, at en epidemiologisk undersøgelse af dødsårsager hos danske plattemalere med eksponering for koboltpigmenter er under udførelse (se ref. 52).

Endelig bør fremtidige undersøgelser gøre mere ud af at karakterisere eksponeringen, i.e., den kemiske form af kobolt, størrelsesfordeling af partikler i støv, etc.

## 14. Resumé

Midtgård U, Binderup ML. Kobolt og koboltforbindelser. Nordiska expertgruppen för kriteriedokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:163-233.

Kobolt og koboltforbindelser har stor industriel betydning, og der findes mange rapporter om alvorlige helbredseffekter, som kan tilskrives eksponering for kobolt i arbejdsmiljøet. Dette dokument omhandler de vigtigste videnskabelige aspekter, der er relevante for fastsættelse af en grænseværdi i arbejdsmiljøet.

Den vigtigste form for eksponering i arbejdsmiljøet er gennem inhalation, men hudkontakt med produkter, der indeholder kobolt (cement) er også af betydning i visse typer af beskæftigelse. Det optagne kobolt distribueres med blodet og akkumuleres i lever, nyrer, hjerte og bugspytkirtlen. Udskillelsen, der hovedsagelig foregår gennem nyrerne, er karakteriseret ved en i starten hurtig udskillelse, der følges af en mere langsom elimination. Der synes at være en god korrelation mellem kobolteksponering i arbejdsmiljøet og koboltkoncentrationen i blod og urin. Graden af korrelation afhænger dog af, hvilke koboltforbindelser man er eksponeret for, og tidspunktet hvor blod- og urinprøverne tages.

Dyreforsøg og humandata har vist, at kobolt har en effekt på de fleste organer. Særlig relevant i arbejdsmiljømæssig sammenhæng er effekterne på åndedrætsorganerne (astma og lungefibrose), som bl.a. er kendt fra kobolteksponerede hårdmetalarbejdere og diamantslibere, som bruger polærskiver bestående af mikro-diamanter indlagt i en koboltmatrix. Hudreaktioner (allergisk dermatitis) ses bl.a. hos bygningsarbejdere, som har kontakt med cement. Derudover har kobolt en effekt på hjerte og bloddannende væv, og nyere undersøgelser antyder også, at skjoldbruskkirtlens funktion kan være påvirket hos arbejdere med kobolteksponering (plattemalere). Endelig skal det nævnes, at kobolt er fundet mutagen i de fleste testsystemer, og der er evidens for, at kobolt og koboltforbindelser muligvis er kræftfremkaldende. Dog er de epidemiologiske data meget begrænsede, og yderligere undersøgelser er påkrævet for at kunne vurdere cancertrisikoen af kobolt i arbejdsmiljømæssig sammenhæng.

Effekterne på åndedrætsorganerne må anses for at være de kritiske effekter. Det laveste observerede (uønskede) effektniveau hos mennesker (LOAEL) er 0,05 mg Co/m<sup>3</sup> og det laveste observerede effektniveau (LOEL) er omkring 0,02 mg Co/m<sup>3</sup>. Det er dog muligt, at særligt følsomme personer kan reagere ved endnu lavere eksponeringsniveauer.

En engelsk version finns publicerad; *Arbete och Hälsa* 1994;39:1-66.

*Nøgleord:* Arbejdsmiljø, cancer, eksponering, genotoksicitet, helbredsrisici, hårdmetallungesygdomme, kardiomyopati, kinetik, kobolt, koboltasthma, review, toksikologi.

## 15. Referencer

1. Adams RM. *Occupational skin disease*. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1990.
2. Alexander CS. Cobalt and the heart. *Ann Intern Med* 1969;70:411-413.
3. Alexander CS. Cobalt-beer cardiomyopathy. A clinical and pathologic study of twenty-eight cases. *Am J Med* 1972;53:395-417.
4. Alexandersson R. Undersökningar över effekter av exposition för kobolt. VI. Exposition, upptag och lungpåverkan av kobolt i hårdmetallindustri. *Arbete Hälsa* 1979;10:1-24.
5. Alexandersson R. Undersökningar över effekter av exposition för kobolt. II. Reaktionen i andningsorganen vid olika grad av exposition i hårdmetallindustrien. *Arbete Hälsa* 1979;2:1-34. (in Swedish)
6. Alexandersson R. Blood and urinary concentrations as estimators of cobalt exposure. *Arch Environ Health* 1988;43:299-303.
7. Alexandersson R, Atterhög J-H. Studies on effects of exposure to cobalt. VII. Heart effects of exposure to cobalt in the Swedish hard-metal industry. *Arbete Hälsa* 1980;9:1-21.
8. Alexandersson R, Atterhög J-H. Comparison of electrocardiograms among wet grinders in Swedish hard metal industry before and after four weeks holiday. *Arbete och Hälsa* 1983;18:1-15.
9. Alexandersson R, Bergman K. Undersökningar över effekter av exposition för kobolt. I. Undersökning över expositionförhållandena i hårdmetallindustrin. *Arbete och Hälsa* 1978;20:1-25.
10. Alexandersson R, Hedenstierna G. Undersökningar över effekter av exposition för kobolt. III. Ventilationsförmåga, distribution av inandningsgas och luftvägsavstängning under pågående arbete och efter expositionsuppehåll. *Arbete och Hälsa* 1979;7:1-25.
11. Alexandersson R, Lidums V. Undersökningar över effekter av exposition för kobolt. IV. Koboltkoncentrationen i blod och urin som expositionsindikator. *Arbete och Hälsa* 1979;8:1-23.
12. Alexandersson R, Swensson A. Studies on the pulmonary reaction of workers exposed to cobalt in the tungsten carbide industry. *Arch Hig Rada Toksikol* 1979;30:355-361.
13. Allenby CF, Basketter DA. Minimum eliciting patch test concentrations of cobalt. *Contact Dermatitis* 1989;20:185-190.
14. Amacher DE, Paillet SC. Induction of trifluorothymidine-resistant mutants by metal ions in L5178Y/TK +/- cells. *Mutation Res* 1980;78:279-288.
15. Anderson MB, Lepak K, Farinas V, George WJ. Protective action of zinc against cobalt-induced testicular damage in the mouse. *Reprod Toxicol* 1993;7:49-54.
16. Anderson MB, Pedigo NG, Katz RP, George WJ. Histopathology of testes from mice chronically treated with cobalt. *Reprod Toxicol* 1992;6:41-50.
17. Angerer J, Heinrich-Ramm R, Lehnert G. Occupational exposure to cobalt and nickel: Biological monitoring. *Intern J Environ Anal Chem* 1989;35:81-88.
18. Antila V, Telkka A, Kuusisto AN. Goitrogenic action of cobaltous chloride in the guinea pig. *Acta Endocrinol* 1955;20:351-354.
19. Arizono K, Okanari E, Ueno K, Ariyoshi T. Heme oxygenase activity and cytochrome P-450 content associated with induced metallothionein in the liver of rats treated with various metals. *J Environ Sci Health* 1991;A26:941-951.
20. Arlauskas A, Baker RSU, Bonin AM, Tandon RK, Crisp PT, Ellis J. Mutagenicity of metal ions in bacteria. *Environ Res* 1985;36:379-388.
21. Auchincloss JH, Abraham JL, Gilbert R, et al. Health hazard of poorly regulated exposure during manufacture of cemented tungsten carbides and cobalt. *Br J Ind Med* 1992;49:832-836.
22. Bailey MR, Kreyling WG, Andre S, et al. An interspecies comparison of the lung clearance of inhaled monodisperse cobalt oxide particles - part I: Objectives and summary of results. *J Aerosol Sci* 1989;20(2):169-188.
23. Balmes JR. Respiratory effects of hard-metal dust exposure. *Occup Med* 1987;2:327-344.
24. Barborik M, Dusek J. Cardiomyopathy accompanying industrial cobalt exposure. *Br Heart J* 1972;34:113-116.
25. Barnes JE, Kanapilly GM, Newton GJ. Cobalt-60 oxide aerosols: Methods of production and short-term retention and distribution kinetics in the beagle dog. *Health Phys* 1976;30:391-398.
26. Basketter DA, Briatico-Vangosa G, Kaestner W, Lally C, Bontinck WJ. Nickel, cobalt and chromium in consumer products: a role in allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 1993;28:15-25.
27. Bearden LJ. The toxicity of two prosthetic metals (cobalt and nickel) to cultured fibroblasts. *Diss Abstr, Int B* 1976;37:1785B.
28. Bearden LJ, Cooke FW. Growth inhibition of cultured fibroblasts by cobalt and nickel. *J Biomed Mater Res* 1980;14:289-309.
29. Bech AO, Kipling MD, Heather JC. Hard metal disease. *Br J Ind Med* 1962;19:239-252.
30. Bencko V, Wagner V, Wagnerová M, Zavazál V. Human exposure to nickel and cobalt: Biological monitoring and immunobiochemical response. *Environ Res* 1986;40:399-410.
31. Berghem L, Hansson M, Lundborg M, Camner P. Fibronectin concentrations in lung lavage fluid after inhalation exposure to low levels of metals. *Environ Res* 1987;43:179-185.
32. Berk L, Burchenal JH, Castle WB. Erythropoietic effect of cobalt in patients with or without anemia. *N Engl J Med* 1949;240:754-761.
33. Beskid M. The effect of administration of cobalt chloride on the pancreas in the guinea-pig. *Folia Histochem Cytochem* 1963;1:95-102.
34. Binderup M-L. Den arveanlægsbeskadigende effekt af en koboltfarve anvendt i den danske porcelænsindustri. *Arbejdsmedisinsk Tidsskrift* 1993;1:31.
35. Bonenfant J-L, Auger C, Miller G, Chenard J, Roy P-E. Quebec beer-drinkers' myocardiosis: Pathological aspects. *Ann N Y Acad Sci* 1969;156:577-582.
36. Bouman AA, Platenkamp AJ, Posma FD. Determination of cobalt in urine by flameless atomic absorption spectroscopy. Comparison of direct analysis using Zeeman background correction and indirect analysis using extraction in organic solution. *Ann Clin Biochem* 1986;23:346-350.
37. Brewer G. A statistical study of cobalt polycythemia in the dog. *Am J Physiol* 1940;128:345-348.
38. Bucher JR, Elwell MR, Thompson MB, Chou BJ, Renne R, Ragan HA. Inhalation toxicity studies of cobalt sulfate in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Fundam Appl Toxicol* 1990;15:357-372.
39. Burch RE, Williams RV, Sullivan JF. Effect of cobalt, beer, and thiamin-deficient diets in pigs. *Am J Clin Nutr* 1973;26:403-408.
40. Burk D, Hearon J, Caroline L, Schade AL. Reversible complexes of cobalt, histidine, and oxygen gas. *J Biol Chem* 1946;165:723-726.
41. Camarasa JG, Alomar A. Photosensitization to cobalt in a bricklayer. *Contact Dermatitis* 1981;7:154-155.
42. Camarasa JG. Cobalt contact dermatitis. *Acta Derm Venereol* 1967;47:287-292.
43. Camner P, Boman A, Johansson A, Lundborg M, Wahlberg JE. Inhalation of cobalt by sensitised guinea pigs: effects on the lungs. *Br J Ind Med* 1993;50:753-757.

44. Camner P, Johansson A. Reaction of alveolar macrophages to inhaled metal aerosols. *Environ Health Perspect* 1992;97:185-188.
45. Capomazza C, Botta A. Cobalt chloride induces micronuclei in human lymphocytes. *Med Sci Res* 1991;19:219-220.
46. Carlberger G. Kinetics and distribution of radioactive cobalt administered to the mammalian body. *Acta Radiol* 1961; Suppl. 205:1-126.
47. Cassina G, Migliori M, Michetti G, Argenti G, Seghizzi P. Un caso di pneumopatia interstiziale da cobalto: considerazioni patogenetiche e prognostiche. *Med Lav* 1987;78:229-234.
48. Castiglioni G, Carosso A, Manzoni S, Nebiolo F, Bugiani M. Results of routine patch testing of 834 patients in Turin. *Contact Dermatitis* 1992;27:182-185.
49. Casto BC, Meyers J, DiPaolo JA. Enhancement of viral transformation for evaluation of the carcinogenic or mutagenic potential of inorganic metal salts. *Cancer Metastasis* 1979;39:193-198.
50. Cavelier C, Foussereau J, Gille P, Zissu D. Allergy to nickel or cobalt: tolerance to nickel and cobalt samples in man and in the guinea pig allergic or sensitized to these metals. *Contact Dermatitis* 1989;21:72-78.
51. Chaudhury S, Mehendale HM. Amplification of CCl<sub>4</sub> toxicity by chlordecone: Destruction of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 subpopulation. *J Tox Env Health* 1991;32:277-294.
52. Christensen JM, Poulsen OM. A 1982-1992 surveillance programme on Danish pottery painters. Biological levels and health effects following exposure to soluble or insoluble cobalt compounds in cobalt blue dyes. *Sci Total Environ* 1994;150:95-104.
53. Christensen JM, Poulsen OM, Thomsen M. A short-term cross-over study on oral administration of soluble and insoluble cobalt compounds: sex differences in biological levels. *Int Arch Occup Environ Health* 1993;65:233-240.
54. Cikrt M, Tichy M. Biliary secretion of cobalt in rats. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1981;25:364-368.
55. Coates EO, Sawyer HJ, Rebeck JW, Kvale PA, Sweet LW. Hypersensitivity bronchitis in tungsten carbide workers. *Chest* 1973;64:390.
56. Coates EO, Watson JHL. Diffuse interstitial lung disease in tungsten carbide workers. *Ann Intern Med* 1971;75:709-716.
57. Coates EO, Watson JHL. Pathology of the lung in tungsten carbide workers using light and electron microscopy. *J Occup Med* 1973;15:280-286.
58. Collier CG, Hodgson A, Gray SA, Moody JC, Ball A. The lung clearance kinetics of <sup>57</sup>Co<sup>3+</sup> in rats of various ages. *J Aerosol Sci* 1991;22:537-549.
59. Comar CL, Davis GK. Cobalt metabolism studies. IV. Tissue distribution of radioactive cobalt administered to rabbits, swine, and young calves. *J Biol Chem* 1947;170:379-389.
60. Copp DH, Greenberg DM. Studies on mineral metabolism with the aid of artificial radioactive isotopes. VI. Cobalt. *Proc Natl Acad Sci* 1941;27:153-157.
61. Costa M, Heck JD, Robison SH. Selective phagocytosis of crystalline metal sulfide particles and DNA strand breaks as a mechanisms for the induction of cellular transformation. *Cancer Res* 1982;42:2757-2763.
62. Cugell DW. The hard metal diseases. *Clin Chest Med* 1992;13:269-272.
63. Cugell DW, Morgan WKC, Perkins DG, Rubin A. The respiratory effects of cobalt. *Arch Intern Med* 1990;150:177-183.
64. Curtis JR, Goode GC, Herrington J, Urdaneta LE. Possible cobalt toxicity in maintenance hemodialysis patients after treatment with cobaltous chloride: a study of blood and tissue cobalt concentrations in normal subjects and patients with terminal renal failure. *Clin Nephrol* 1976;5:61-65.
65. D'Adda F, Borleri D, Migliori M, et al. Cardiac function in hard metal workers. *Sci Total Environ* 1994;150:179-186.
66. Daniel M, Dingle JT, Webb M, Heath JC. The biological action of cobalt and other metals. I. The effect of cobalt on the morphology and metabolism of rat fibroblasts in vitro. *Br J Exp Pathol* 1963;44:163-176.
67. Davison AG, Haslam PL, Corrin B, et al. Interstitial lung disease and asthma in hard-metal workers: bronchoalveolar lavage, ultrastructural, and analytical findings and results of bronchial provocation tests. *Thorax* 1983;38:119-128.
68. De Moraes S, Mariano M. Biochemical aspects of cobalt intoxication. Cobalt ion action on oxygen uptake. *Med Pharmacol Exp* 1967;16:441-447.
69. Delahant AB. An experimental study of the effects of rare metals on animal lungs. *AMA Arch Ind Health* 1955;12:116-120.
70. Della Tore F, Cassani M, Segale M, Scarpazza G, Pietra R, Sabbioni E. Trace metal lung diseases: A new fatal case of hard metal pneumoconiosis. *Respiration* 1990;57:248-253.
71. Demedts M, Ceuppens JL. Respiratory diseases from hard metal or cobalt exposure. *Chest* 1989;95:2-3.
72. Demedts M, Gheysens B, Nagles J, et al. Cobalt lung in diamond polishers. *Am Rev Respir Dis* 1984;130:130-135.
73. Deng J-F, Sinks T, Elliot L, Smith D, Singal M, Fine L. Characterisation of respiratory health and exposures at a sintered permanent magnet manufacturer. *Br J Ind Med* 1991;48:609-615.
74. Desselberger U, Wegener H-H. Experimentelle Untersuchungen am Meerschweinchen zur Alkohol-, Kobalt- und Kombinierten Alkohol-Kobalt-Intoxikation. *Beir Path* 1971;142:150-176.
75. Dingle JT, Heath JC, Webb M, Daniel M. The biological action of cobalt and other metals. II. The mechanism of the respiratory inhibition produced by cobalt in mammalian tissue. *Biochim Biophys Acta* 1962;65:34-46.
76. Donaldson JD. Cobalt and cobalt compounds. In: Gerhartz W, Yamamoto YS, Campbell FT, Pfeifferkorn R, Rounsaville JF., eds. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 5th ed. Weinheim: VCH-Verlag, 1986:281-313.
77. Duckham JM, Lee HA. The treatment of refractory anaemia of chronic renal failure with cobalt chloride. *Quart J Med* 1976;45:277-294.
78. Edel J, Pozzi G, Sabbioni E, Pietra R, Devos S. Metabolic and toxicological studies on cobalt. *Sci Total Environ* 1994;150:233-244.
79. Edel J, Sabbioni E, Pietra R, et al. Trace metal lung disease: In vitro interaction of hard metals with human lung and plasma components. *Sci Total Environ* 1990;95:107-117.
80. Egilsson V, Evans IH, Wilkie D. Toxic and mutagenic effects of carcinogens on the mitochondria of *Saccaromyces cerevisiae*. *Mol Gen Genet* 1979;174:39-46.
81. Einarsson, Eriksson E, Linstedt G, Wahlberg JE. Dissolution of cobalt from hard metal alloys by cutting fluids. *Contact Dermatitis* 1979;5:129-132.
82. Elinder C-G, Friberg L. Cobalt. In: Friberg L, Nordberg GF, Vouk V, eds. *Handbook on the toxicology of metals*, 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, 1986:211-232.
83. Faber DS, Kaars C, Zottoli SJ. Dual transmission at morphologically mixed synapses: Evidence from postsynaptic cobalt injections. *Neuroscience* 1980;5:433-440.
84. Farah B. The in vivo effect of cobalt chloride on chromosomes. *Rev Bras Genet* 1983;VI(3):433-442.
85. Fernandez JP, Veron C, Hildebrand HF, Martin P. Nickel allergy to dental prostheses. *Contact Dermatitis* 1986;14:312.
86. Ferri F, Candela S, Bedogni L, Piccinini R, Sala O. Exposure to cobalt in the welding process with stellite. *Sci Total Environ* 1994;150:145-147.

87. Fiedler H, Krantz S, Lober M. Optische Rotationsdispersion und Zirkulardichroismus von Fibrinogen normaler und kobaltbehandelter Kaninchen. *Acta Biol Med Germ* 1971;27:207-210.
88. Fischbein A, Abraham JL, Horowitz SF, et al. Hard metal disease: A multidisciplinary evaluation of two cases. *N Y State J Med* 1986;600-603.
89. Fischer T, Rystedt I. Cobalt allergy in hard metal workers. *Contact Dermatitis* 1983;9:115-121.
90. Flodh H. Autoradiographic studies on distribution of radiocobalt chloride in pregnant mice. *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1968;7:121-128.
91. Foster PP, Pearman I, Ramsden D. An interspecies comparison of the lung clearance of inhaled monodisperse cobalt oxide particles - Part II. Lung clearance of cobalt oxide in man. *J Aerosol Sci* 1989;20:189-204.
92. Foussereau J, Cavalier C. Allergic contact dermatitis from cobalt in the rubber industry. *Contact Dermatitis* 1988;19:217-238.
93. Gaddoni G, Baldassari L, Francesconi E, Motolese A. Contact dermatitis among decorators and enamellers in hand-made ceramic decorations. *Contact Dermatitis* 1993;28:127-128.
94. Gaechter A, Alroy J, Andersson GBJ, Galante J, Rostoker W, Schajowicz F. Metal carcinogenesis. A study of the carcinogenic activity of solid metal alloys in rats. *Bone Joint Surg* 1977;5917:622-624.
95. Gale TF. Does cobalt damage the hamster embryo? A preliminary report. *Anat Rec* 1980;196:232A.
96. Garcia J, Armissen A. Cement dermatitis with isolated cobalt sensitivity. *Contact Dermatitis* 1985;12:52.
97. Gennart JP, Lauwerys R. Ventilatory function of workers exposed to cobalt and diamond containing dust. *Int Arch Occup Environ Health* 1990;62:333-336.
98. Gennart JPh, Baleux C, Verellen-Dumoulin Ch, Buchet JP, Meyer RDe, Lauwerys R. Increased sister chromatid exchanges and tumor markers in workers exposed to elemental chromium-, cobalt- and nickel-containing dusts. *Mutation Res* 1993;299:55-61.
99. Gheysens B, Auwerx J, Van den Eeckhout A, Demedts M. Cobalt-induced bronchial asthma in diamond polishers. *Chest* 1985;88:740-744.
100. Gilani SH, Alibai Y. The effects of heavy metals on the chick embryo development. *Anat Rec* 1985;211:68A-69A.
101. Gillespie WJ, Framton CMA, Henderson RJ, Ryan PM. The incidence of cancer following total hip replacement. *J Bone Joint Surg* 1988;70B:539-542.
102. Gilman JPW. Metal carcinogenesis. II. A study on the carcinogenic activity of cobalt, copper, iron, and nickel compounds. *Cancer Res* 1962;22:158-165.
103. Gilman JPW, Ruckerbauer GM. Metal Carcinogenesis. I. Observations on the carcinogenicity of a refinery dust, cobalt oxide, and colloidal thorium dioxide. *Cancer Res* 1962;22:152-157.
104. Goh CL, Kwok SF, Gan SL. Cobalt and nickel content of Asian cements. *Contact Dermatitis* 1986;15:169-172.
105. Gori C, Zucconi L. L'azione citologia indotta da un gruppo di composti inorganici su allium cepa. *Caryologia* 1957;10:29-45.
106. Gregus Z, Klaassen CD. Disposition of metals in rats: a comparative study of fecal, urinary and biliary excretion and tissue distribution of eighteen metals. *Toxicol Appl Pharm* 1986;85:24-38.
107. Grice HC, Goodman T, Munro IC, Wiberg GS, Morrison AB. Myocardial toxicity of cobalt in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 1969;156:189-194.
108. Gross RT, Kriss JP, Spaet TH. The hematopoietic and goitrogenic effects of cobaltous chloride in patients with sickle cell anemia. *Pediatrics* 1955;15:284-290.
109. Gründer K, Lenzen P, Maysner P. Das Allergenspektrum bei Kontaktexzemen im mittel- und oberhessischen Einzugsgebiet der Univ.-Hautklinik Giessen 1975-1989. *Akt Dermatol* 1993;19:269-280.
110. Hall JL, Smith EB. Cobalt heart disease. *Arch Pathol* 1968;86:403-412.
111. Hamilton-Koch W, Snyder RD, Lavelle JM. Metal-induced DNA damage and repair in human diploid fibroblasts and Chinese hamster ovary cells. *Chem Biol Interact* 1986;59:17-28.
112. Harding HE. Notes on the toxicology of cobalt metal. *Br J Ind Med* 1950;7:76-78.
113. Hartmann A, Wüthrich B, Bolognini G. Berufsbedingte Lungenkrankheiten bei der Hartmetallproduktion und -bearbeitung. Ein allergisches Geschehen? *Schweiz med Wschr* 1982;112:1137-1141.
114. Hartung M, Schaller K-H, Brand E. On the question of the pathogenetic importance of cobalt for hard metal fibrosis of the lung. *Int Arch Occup Environ Health* 1982;50:53-57. 115. Hartung M, Sturm G. Röntgenbefunde bei Hartmetallschleifern mit Lungenfibrose. *Prax Pneumol* 1982;36:285-289.
116. Hartung M, Valentini H. Lungenfibrosen durch Hartmetallstäube. *Zbl Bakt Hyg, I Abt* 1983;177:237-250.
117. Hartwig A, Kasten U, Boakye-Dankwa K, Schlepegrell R, Beyersmann D. Uptake and genotoxicity of micromolar concentrations of cobalt chloride in mammalian cells. *Toxicol Environ Chem* 1990;28:205-215.
118. Hartwig A, Snyder RD, Schlepegrell R, Beyersmann D. Modulation by Co(II) of UV-induced DNA repair, mutagenesis and sister-chromatid exchanges in mammalian cells. *Mutation Res* 1991;248:177-185.
119. Heath JC. Cobalt as a carcinogen. *Nature* 1954;173:822-823.
120. Heath JC. The effect of cobalt on mitosis in tissue culture. *Exp Cell Res* 1954;6:311-320.
121. Heath JC. The production of malignant tumours by cobalt in the rat. *Br J Cancer* 1956;10:668-673.
122. Heath JC, Daniel MR. The production of malignant tumours by cobalt in the rat: intrathoracic tumours. *Br J Cancer* 1962;16:473-478.
123. Heath JC, Freeman MAR, Swanson SAV. Carcinogenic properties of wear particles from prostheses made in cobalt-chromium alloy. *Lancet* 1971;1:564-566.
124. Hegde AG, Thakker DM, Bhat IS. Long-term clearance of inhaled <sup>60</sup>Co. *Health Phys* 1979;36:732-734.
125. Herich R. The effect of cobalt on the structure of chromosomes and on the mitosis. *Chromosoma* 1965;17:194-198.
126. Hogstedt C, Alexandersson R. Mortality among hard-metal workers in Sweden. *Scand J Work Environ Health* 1987;13:177-178.
127. Hogstedt C, Alexandersson R. Dödsorsaker hos Härdmetallarbetare. *Arbete och Hälsa* 1990;21:1-26.
128. Hopps HC, Stanley AJ, Shideler AM. Polycythemia induced by cobalt. III. Histologic studies with evaluation of toxicity of cobaltous chloride. *Am J Clin Pathol* 1954;24:1374-1380.
129. Horowitz SF, Fischbein A, Matza D, et al. Evaluation of right and left ventricular function in hard metal workers. *Br J Ind Med* 1988;45:742-746.
130. Hostynek JJ, Hinz RS, Lorence CR, Price M, Guy RH. Metals and the skin. *Crit Rev Toxicol* 1993;23:171-235.
131. Höbel M, Maroske D, Wegener K, Eichler O. über die toxische Wirkung von CoCl<sub>2</sub>, Co[Co-EDTA] oder Na<sub>2</sub>[Co-EDTA] enthaltender Aerosole auf die Rute und die Verteilung von [Co-EDTA]<sup>-</sup> in Organen des Meerschweinchens. *Arch int Pharmacodyn* 1972;198:213-222.

132. Hultquist GT. Effects of cobaltous chloride on the sugar level and the islet cells in rats. *Experientia* 1959;15:340-342.
133. IARC. Cobalt and cobalt compounds. In IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Lyon, France: *International Agency for Research on Cancer* 1991;52:363-472.
134. Ichikawa Y, Kusaka Y, Goto S. Biological monitoring of cobalt exposure, based on cobalt concentrations in blood and urine. *Int Arch Occup Environ Health* 1985;55:269-276.
135. Jarvis JQ, Hammond E, Meier R, Robinson C. Cobalt cardiomyopathy. A report of two cases from mineral assay laboratories and a review of the literature. *J Occup Med* 1992;34:620-626.
136. Jasmin G, Riopelle JL. Renal carcinomas and erythrocytosis in rats following intrarenal injection of nickel subsulfide. *Lab Invest* 1976;35:71-78.
137. Jensen AA, Tüchsen F. Cobalt exposure and cancer risk. *Toxicology* 1990;20:427-437.
138. Johansson A, Camner P, Jarstrand C, Wiernik A. Rabbit alveolar macrophages after inhalation of soluble cadmium, cobalt, and copper: A comparison with the effects of soluble nickel. *Environ Res* 1983;31:340-354.
139. Johansson A, Curstedt T, Camner P. Lung lesions after combined inhalation of cobalt and nickel. *Environ Res* 1991;54:24-38.
140. Johansson A, Curstedt T, Jarstrand C, Camner P. Alveolar macrophages and lung lesions after combined exposure to nickel, cobalt, and trivalent chromium. *Environ Health Perspect* 1992;97:215-219.
141. Johansson A, Curstedt T, Rasool O, Jarstrand C, Camner P. Rabbit lung after combined exposure to soluble cobalt and trivalent chromium. *Environ Res* 1992;58:80-96.
142. Johansson A, Curstedt T, Robertson B, Camner P. Lung morphology and phospholipids after experimental inhalation of soluble cadmium, copper, and cobalt. *Environ Res* 1984;34:295-309.
143. Johansson A, Lundborg M, Hellström P, et al. Effect of iron, cobalt, and chromium dust on rabbit alveolar macrophages: A comparison with the effects of nickel dust. *Environ Res* 1980;21:165-176.
144. Johansson A, Lundborg M, Wiernik A, Jarstrand C, Camner P. Rabbit alveolar macrophages after long-term inhalation of soluble cobalt. *Environ Res* 1986;41:488-496.
145. Johansson A, Robertson B, Camner P. Nodular accumulation of type II cells and inflammatory lesions caused by inhalation of low cobalt concentrations. *Environ Res* 1987;43:227-243.
146. Jones DA, Lucas HK, O'Driscoll M, Price CHG, Wibberley B. Cobalt toxicity after McKee hip arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 1975;57B:289-296.
147. Jordan C, Whitman RD, Harbut M, Tanner B. Memory deficits in workers suffering from hard metal disease. *Toxicol Lett* 1990;54:241-243.
148. Kada T, Kanematsu N. Reduction of N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine induced mutations by cobalt chloride in *Escherichia coli*. *Proc Jpn Acad* 1978;54B:234-237.
149. Kadiiska M, Stoytchev T, Serbinova E. Effect of some heavy metal salts on hepatic monooxygenases after subchronic exposure. *Arch Toxicol* 1985; Suppl. 8:313-315.
150. Kanematsu N. Rec assay and mutagenicity studies on metal compounds. *Mutation Res* 1980;77:109-116.
151. Kasirsky G, Gautieri RF, Mann DE. Inhibition of cortisone-induced cleft palate in mice by cobaltous chloride. *J Pharm Sci* 1967;56:1330-1332.
152. Kasirsky G, Sherman WT, Gautieri RF, Mann DE. Cobalt-cortisone interrelationships in the induction and inhibition of cleft palate in mice. *J Pharm Sci* 1969;58:766-767.
153. Kempf E, Pfeiffer W. Gesundheitsgefahren durch Stäube im Dentallabor. *Arbeitsmed Sozialmed präventivmed* 1987;22:13-18.
154. Kennedy A, Dornan JD, King R. Fatal myocardial disease associated with industrial exposure to cobalt. *Lancet* 1981;1981(1):412-414.
155. Kent NL, McCance RA. The absorption and excretion of 'minor' elements by man. 2. Cobalt, nickel, tin and manganese. *Biochem J* 1941;35:877-883.
156. Kerfoot EJ, Fredrick WG, Domeier E. Cobalt metal inhalation studies on miniature swine. *Am Ind Hyg Assoc J* 1975;36:17-25.
157. Kesteloot H, Roelandt J, Willems J, Claes JH, Joosens JV. An enquiry into the role of cobalt in the heart disease of chronic beer drinkers. *Circulation* 1968;37:854-864.
158. Key MM. Some unusual allergic reactions in industry. *Arch Dermatol* 1961;83:57-60.
159. Kharab P, Singh I. Gentoxic effects of potassium dichromate, sodium arsenite, cobalt chloride and lead nitrate in diploid yeast. *Mutation Res* 1985;155:117-120.
160. Kharab P, Singh I. Induction of respiratory deficiency in yeast by salts of chromium, arsenic, cobalt and lead. *Indian J Exp Biol* 1987;25:141-142.
161. Kiec-Swierczynska M. Occupational dermatoses and allergy to metal in Polish construction workers manufacturing prefabricated building units. *Contact Dermatitis* 1990;23:27-32.
162. Kiec-Swierczynska M. Allergy to chromate, cobalt and nickel in Lodz 1977-1988. *Contact Dermatitis* 1990;22:229-231.
163. Kipling MD. Cobalt. In: Waldron HA, ed. *Metals in the environment*, London: Academic Press, 1980:133-153.
164. Kitamura H, Tozawa T, Kimura Y. Cemented tungsten carbide pneumoconiosis. *Acta Pathol Jpn* 1978;28:921-935.
165. Kitamura H, Yoshimura Y, Tozawa T, Koshi K. Effects of cemented tungsten carbide dust on rat lungs following intratracheal injection of saline suspension. *Acta Pathol Jpn* 1980;30:241-253.
166. Koczynski L, Nowak H, Rejniak L. Effect of cobalt, nickel and iron on mitosis in the roots of the broad bean (*vicia faba*). *Nature* 1963;198:1016-1017.
167. Koponen M, Gustafsson T, Kalliomaki P-L. Cobalt in hard metal manufacturing dusts. *Am Ind Hyg Assoc J* 1982;43:645-651.
168. Kreyling WG, André S, Collier CG, Ferron GA, Métivier H, Schuman G. Interspecies comparison of lung clearance after inhalation of monodisperse, solid cobalt oxide aerosol particles. *J Aerosol Sci* 1991;22:509-535.
169. Kreyling WG, Ferron GA, Haider B. Metabolic fate of inhaled Co aerosols in beagle dogs. *Health Phys* 1986;51:773-795.
170. Kriss JP, Carnes WH, Gross RT. Hypothyroidism and thyroid hyperplasia in patients treated with cobalt. *JAMA* 1955;157:117-121.
171. Kriss JP, Greenspan FS, Carnes WH, Lew W. Alterations in chick thyroid function induced by cobalt. *Endocrinology* 1956;59:555-564.
172. Krnjevic K, Lamour Y, MacDonald JF, Nistri A, Pail E, Werman R. Intracellular divalent cations and neuronal excitability. *Can J Physiol Pharmacol* 1979;57:957-972.
173. Kury G, Crosby RJ. Studies on the development of chicken embryos exposed to cobaltous chloride. *Toxicol Appl Pharm* 1968;13:199-206.
174. Kusaka Y, Ichikawa Y, Shirakawa T, Goto S. Effect of hard metal dust on ventilatory function. *Br J Ind Med* 1986;43:486-489.
175. Kusaka Y, Kumagai S, Kyono H, Kohyama N, Shirakawa T. Determination of exposure to cobalt and nickel in the atmosphere in the hard metal industry. *Ann Occup Hyg* 1992;36:497-507.
176. Kusaka Y, Yokoyama K, Sera Y, et al. Respiratory diseases in hard metal workers: an occupational hygiene study in a factory. *Br J Ind Med* 1986;43:474-485.
177. Kyono H, Kusaka Y, Homma K, Kubota H, Endo-ichikawa Y. Reversible lung lesions in rats due to short-term exposure to ultrafine cobalt particles. *Ind Health* 1992;30:103-118.

178. Lahaye D, Demedts M, Van Den Oever R, Roosels D. Lung diseases among diamond polishers due to cobalt (letter). *Lancet* 1984;1:156-157.
179. Lander F. Kobolstasma. *Ugeskr Læger* 1987;149:3563-3565.
180. Lasfargues G, Lison D, Maldague P, Lauwerys R. Comparative study of the acute lung toxicity of pure cobalt powder and cobalt-tungsten carbide mixture in rat. *Toxicol Appl Pharm* 1992;112:41-50.
181. Lavi N, Alfassi ZB. Determination of trace amounts of cadmium, cobalt, chromium, iron, molybdenum, nickel, selenium, titanium, vanadium and zinc in blood and milk by neutron activation analysis. *Analyst* 1990;115:817-822.
182. Lazarus S, Goldner MG, Volk BW. Selective destruction of pancreatic alpha cells by cobaltous chloride in the dog. *Metabolism* 1953;2:513-520.
183. Lee C-C, Wolterink LF. Blood and tissue partition of cobalt 60 in dogs. *Am J Physiol* 1955;183:173-177.
184. Lee C-C, Wolterink LF. Urinary excretion, tubular reabsorption and biliary excretion of cobalt 60 in dogs. *Am J Physiol* 1955;183:167-172.
185. Leghissa P, Ferrari MT, Piazzolla S, Caironi M, Parigi PC, Lebbolo E. Cobalt exposure evaluation in dental prostheses production. *Sci Total Environ* 1994;150:253-257.
186. Leitao AC, Soares RA, Cardoso JS, Guillobel HC, Caldas LR. Inhibition and induction of SOS responses in *Escherichia coli* by cobaltous chloride. *Mutation Res* 1993;286:173-180.
187. Levy H, Levison V, Schade AL. The effect of cobalt on the activity of certain enzymes in homogenates of rat tissue. *Arch Biochem* 1950;27:34-40.
188. Lewis CPL, Demedts M, Nemery B. The role of thiol oxidation in cobalt(II)-induced toxicity in hamster lung. *Biochem Pharmacol* 1992;43:519-525.
189. Lewis JR, Sr, ed. *Sax's dangerous properties of industrial materials*, 8th ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
190. Lewis JR. *Sax's dangerous properties of industrial materials*, 8th ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
191. Léonard A, Lauwerys R. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of cobalt metal and cobalt compounds. *Mutation Res* 1990;239:17-27.
192. Lin JH, Duffy JL. Cobalt-induced myocardial lesions in rats. *Lab Invest* 1970;23:158-162.
193. Lindegren CC, Nagai S, Nagai H. Induction of respiratory deficiency in yeast by manganese, copper, cobalt and nickel. *Nature* 1958;182:446-448.
194. Liquier-Milward J. Evidence of a complex compound of cobalt with a purine base (adenine). *Nature* 1951;167:1068-1069.
195. Lison D, Buchet J-P, Molders J, Lauwerys R. Biological monitoring of workers exposed to cobalt metal, salt, oxides, and hard metal dust. *Occup Environ Med* 1994;51:447-450.
196. Lison D, Lauwerys R. Biological responses of isolated macrophages to cobalt metal and tungsten carbide-cobalt powders. *Pharmacol Toxicol* 1991;69:282-285.
197. Lison D, Lauwerys R. Study of the mechanism responsible for the elective toxicity of tungsten carbide-cobalt powder toward macrophages. *Toxicol Lett* 1992;60:203-210.
198. Lison D, Lauwerys R. Evaluation of the role of reactive oxygen species in the interactive toxicity of carbide-cobalt mixtures on macrophage culture. *Arch Toxicol* 1993;67:347-351.
199. Liu J, Kershaw WC, Klassen CD. The protective effect of metallothionein on the toxicity of various metals in rat primary hepatocyte culture. *Toxicol Appl Pharm* 1991;107:27-34.
200. Lundgren KD, Öhman H. Pneumokoniose in der Hartmetallindustrie. Technische und medizinische Untersuchungen. *Virchows Arch* 1954;325:259-284.
201. Maines MD, Kappas A. Regulation of cytochrome P-450-dependent microsomal drug metabolizing enzymes by nickel, cobalt, and iron. *Clin Pharmacol Ther* 1977;22:780-789.
202. Manifold IH, Platts MM, Kennedy A. Cobalt cardiomyopathy in a patient on maintenance haemodialysis. *Br Med J* 1978;2:1609.
203. Marcussen PV. Cobalt dermatitis. Clinical picture. *Acta Derm Venereol* 1963;43:231-234.
204. McDermott PH, Delaney RL, Egan JD, Sullivan JF. Myocardiosis and cardiac failure in men. *JAMA* 1966;198:253-256.
205. McLean JR, McWilliams RS, Kaplan JG, Birnboim HC. Rapid detection of DNA strand breaks in human peripheral blood cells and animal organs following treatment with physical and chemical agents. *Mutation Res* 1982;3:137-141.
206. Meachim G, Pedley RB, Williams DF. A study of sarcogenicity associated with Co-Cr-Mo particles implanted in animal muscle. *J Biomed Mater Res* 1982;16:407-416.
207. Meecham HM, Humphrey P. Industrial exposure to cobalt causing optic atrophy and nerve deafness: a case report. *J Neurol Neurosurg Psych* 1991;54:374-375.
208. Meyer-Bisch C, Pham QT, Mur J-M, et al. Respiratory hazards in hard metal workers: a cross sectional study. *Br J Ind Med* 1989;46:302-309.
209. Michel R, Nolte M, Reich M, Lör F. Systemic effects of implanted prostheses made of cobalt-chromium alloys. *Arch Orthop Trauma Surg* 1991;110:61-74.
210. Midtgård U. *Powder metallurgy and advanced technical ceramics: Occupational hazards and toxicity of selected compounds*. Copenhagen: National Institute of Occupational Health, 1992.
211. Mikkelsen S, Raffin E, Aliman D, Groth S, Christensen JM. Helbred og kobolt. En tværseksundersøgelse af platemalere, Copenhagen: Arbejds miljøfondet, 1984.
212. Miller CW, Davis MW, Goldman A, Wyatt JP. Pneumoconiosis in the tungsten-carbide tool industry. *AMA Arch Ind Hyg Occup Med* 1953;8:453-365.
213. Miyaki M, Akamatsu N, Ono T, Koyama H. Mutagenicity of metal cations in cultured cells from Chinese hamster. *Mutation Res* 1979;68:259-263.
214. Mochizuki H, Kada T. Antimutagenic action of cobaltous chloride on Tnp-P-1-induced mutations in salmonella typhimurium TA98 and TA1538. *Mutation Res* 1982;95:145-157.
215. Mohiuddin SM, Taskar PK, Rheault M, Roy P-E, Chenard J, Morin Y. Experimental cobalt cardiomyopathy. *Am Heart J* 1970;80:532-543.
216. Mollenhauer HH, Corrier DE, Clark DE, Hare MF, Elissalde MH. Effects of dietary cobalt on testicular structure. *Virchows Arch* 1985;49:241-248.
217. Morin Y, Daniel P. Quebec Beer-drinkers' cardiomyopathy: Etiological considerations. *Can Med Assoc J* 1967;97:926-928.
218. Morin Y, Têtu A, Mercier G. Cobalt cardiomyopathy: clinical aspects. *Br Heart J* 1971;33 Suppl.:175-178.
219. Morita H, Umeda M, Ogawa HI. Mutagenicity of various chemicals including nickel and cobalt compounds in cultured mouse FM3A cells. *Mutation Res* 1991;261:131-137.
220. Morsy SM, El-Assaly FM. Body elimination rates of 134-Cs, 60-Co and 203-Hg. *Health Phys* 1970;19:769-773.
221. Mosconi G, Bacis M, Vitali MT, Leghissa P, Sabbioni E. Cobalt excretion in urine: results of a study on workers producing diamond grinding tools and on a control group. *Sci Total Environ* 1994;150:133-139.
222. Moulin JJ, Wild P, Mur JM, Fournier-Betz M, Mercier-Gallay M. A mortality study of cobalt production workers: an extension of the follow up. *Am J Ind Med* 1993;23:281-288.
223. Mucklow ES, Griffin SJ, Delves HT, Suchak B. Cobalt poisoning in a 6-year-old. *Lancet* 1990;335:981.
224. Mur JM, Moulin JJ, Charruyer-Seinerra MP, Lafite J. A cohort mortality study among cobalt and sodium workers in an electrochemical plant. *Am J Ind Med* 1987;11:75-81.
225. Naton JR, Bourgeois AE, Clark DE, Hare MF. The effects of chronic cobalt exposure on behavior and metallothionein levels in the adult rat. *Neurobehav Toxicol Teratol* 1983;5:9-15.



226. Nemery B, Lewis CPL, Demedts M. Cobalt and possible oxidant-mediated toxicity. *Sci Total Environ* 1994;150:57-64.
227. Nemery B, Nagels J, Verbeken E, Dinsdale D, Demedts M. Rapidly fatal progression of cobalt lung in a diamond polisher. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:1373-1378.
228. Newton D, Rundo J. The long-term retention of inhaled cobalt-60. *Health Phys* 1971;21:377-384.
229. Ng TB, Liu WK. Toxic effect of heavy metals on cells isolated from the rat adrenal and testis. *In Vitro Cell Dev Biol* 1990;26:24-28.
230. NIOSH. *NIOSH occupational hazard assessment. Criteria for controlling occupational exposure to cobalt*. Cincinnati: National Institute for Occupational Safety and Health, 1981:1-95. (Publication No. 82-107)
231. NIOSH. *NIOSH manual of analytical methods*. Cincinnati: National Institute for Occupational Safety and Health, 1984. (Publication No. 84-100, 3rd ed.)
232. Nishioka H. Mutagenicity activities of metal compounds in bacteria. *Mutation Res* 1975;31:185-189.
233. Nowak HF. The pathogenesis of neoplasia in the rabbit under the influence of polyester resin additions. (Cited from IARC). *Akad Medycz Jul March Bialymstoku* 1961;7:323-348.
234. Nowak HF. Neoplasia in mouse skeletal muscles under the influence of polyester resin activator. *Arch Immun Therap Exp* 1966;12:774-778.
235. Ogawa HI. Inverse correlation between combined mutagenicity in Salmonella typhimurium and strength of coordinate bond in mixtures of cobalt(II) and 4-substituted pyridines. *Mutation Res* 1988;204:117-121.
236. Ogawa HI, Sakata K, Inouye T, et al. Combined mutagenicity of cobalt(II) salt and heteroaromatic compounds in Salmonella typhimurium. *Mutation Res* 1986;172:97-104.
237. Ogawa HI, Sakata K, Inouye T, et al. Combined mutagenicity of cobalt(II) salt and heteroaromatic compounds in Salmonella typhimurium. *Mutation Res* 1986;172:97-104.
238. Ogawa HI, Sakata K, Liu S-Y, Mino H, Tsuruta S, Kato Y. Cobalt (II) salt-quinoline compound interaction: combined mutagenic activity in Salmonella typhimurium and strength of coordinate bond in the mixtures. *Jpn J Genet* 1987;62:485-491.
239. Ohori NP, Sciarba FC, Owens GR, Hodgson MJ, Yousem SA. Giant-cell interstitial pneumonia and hard-metal pneumoconiosis. *Am J Surg Pathol* 1989;13:581-587.
240. Onkelinx C. Compartment analysis of cobalt (II) metabolism in rats of various ages. *Toxicol Appl Pharm* 1976;38:425-438.
241. Ott G, Mikuz G. Hartmetall-Lungenfibrose. Verlauf und Therapie. *Dtsch Med Wochenschr* 1982;107:1396-1399.
242. Pagano DA, Zeiger E. Conditions for detecting the mutagenicity of divalent metals in Salmonella typhimurium. *Environ Mol Mutagen* 1992;19:139-146.
243. Paley KR, Sussman ES. Absorption of radioactive cobaltous chloride in human subjects. *Metabolism* 1963;12:975-982.
244. Palit S, Sharma A, Talukder G. Chromosomal aberrations induced by cobaltous chloride in mice in vivo. *Biol Trace Elem Res* 1991;29:139-145.
245. Parr RM, Taylor DM. The concentrations of cobalt, copper, iron and zinc in some normal human tissues as determined by neutron-activation analysis. *Biochem J* 1964;91:424-431.
246. Paternain JL, Domingo JL, Corbella J. Development toxicity of cobalt in the rat. *J Toxicol Environ Health* 1988;24:193-200.
247. Paton GR, Allison AC. Chromosome damage in human cell cultures induced by metal salts. *Mutation Res* 1972;16:332-336.
248. Pedigo NG, George WV, Anderson MB. Effects of acute and chronic exposure to cobalt on male reproduction in mice. *Reprod Toxicol* 1988;2:45-53.
249. Pedigo NG, Vernon MW. Embryonic losses after 10-week administration of cobalt to male mice. *Reprod Toxicol* 1993;7:111-116.
250. Pehrsson SK, Hatori N, Clyne N, Koch J, Lins L-E, Ryden L. The effect of chronic cobalt exposure on cardiac function in rats. *Trace Elem Med* 1991;8:195-198.
251. Perone VB, Moffitt AE, Possick PA, Key MM, Danzinger SJ, Gellin GA. The chromium, cobalt and nickel contents of American cement and their relationship to cement dermatitis. *Am Ind Hyg Assoc J* 1974;35:301-306.
252. Piriš V. Sensitization to cobalt in pottery workers. *Acta Derm Venereol* 1953;33:193-198.
253. Piriš V, Kajanne H. Sensitization to cobalt and nickel in cement eczema. *Acta Derm Venereol* 1965;45:9-14.
254. Pisati G, Bernabeo F, Cirila AM. Utilizzo di un test di broncostimolazione specifica verso cobalto nella diagnosi dell'asma da metalli duri. *Med Lav* 1986;77:538-546.
255. Plowman MC, Peracha H, Hopfer SM, Sunderman FW jr.. Teratogenicity of cobalt chloride in *Xenopus laevis*, assayed by the FETAX procedure. *Teratogenesis Carcinog Mutagen* 1991;11:83-92.
256. Prazmo W, Balbin E, Baranowska H, Ejchart A, Putrament A. Manganese mutagenesis in yeast. II. Conditions of induction and characteristics of mitochondrial respiratory deficient *Saccharomyces cerevisiae* mutants induced with manganese and cobalt. *Genet Res Camb* 1975;26:21-29.
257. Prescott E, Netterström B, Faber J, Hegedüs L, Suadicani P, Christensen JM. Effect of occupational exposure to cobalt blue dyes on the thyroid volume and function of female plate painters. *Scand J Work Environ Health* 1992;18:101-104.
258. Raffin E, Mikkelsen S, Altman DG, Christensen JM, Groth S. Health effects due to occupational exposure to cobalt blue dye among plate painters in a porcelain factory in Denmark. *Scand J Work Environ Health* 1988;14:378-384.
259. Reintl W, Schnellbacher F, Rahm G. Lungenfibrosen und entzündliche Lungenerkrankungen nach Einwirkung von Kobaltkontaktmasse. *Zbl Arbeitsmed* 1979;29:318-324.
260. Rizzato G, Lo Cicero S, Barberis M, Torre M, Pietra R, Sabbioni E. Trace of Metal Exposure in Hard Metal Lung Disease. *Chest* 1986;90:101-106.
261. Robey JS, Veazey PM, Crawford JD. Cobalt-induced myxedema. Report of a case. *N Engl J Med* 1956;255:955-957.
262. Robinson SH, Cantoni O, Costa M. Strand breakage and decreased molecular weight of DNA induced by specific metal compounds. *Carcinogenesis* 1982;3:657-662.
263. Roche M, Layrisse M. Effect of cobalt on thyroid uptake of I-131. *J Clin Endocrinol Metab* 1956;16:831-833.
264. Rockhold WT. Toxicity of naphthenic acids and their metal salts. *AMA Arch Ind Health* 1955;12:477-482.
265. Rolfe MW, Paine R, Davenport RB, Strieter RM. Hard-metal pneumoconiosis and the association of tumor necrosis factor-alpha. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:1600-1602.
266. Rona G. Experimental aspects of cobalt cardiomyopathy. *Br Heart J* 1971;33, Suppl. :171-174.
267. Rossman TG. The genetic toxicology of metal compounds. I: Induction of prophage in *E. coli* WP2. *Environ Mutagen* 1984;6:59-69.
268. Roto P. Asthma, symptoms of chronic bronchitis and ventilatory capacity among cobalt and zinc production workers. *Scand J Work Environ Health* 1980;6, Suppl. 1:1-49.
269. Roy PE, Bonenfant JL, Turcot L. Thyroid changes in cases of Quebec beer drinkers' myocardiosis. *Am J Clin Pathol* 1968;50:234-239.
270. Rüttnier JR, Spycher MA, Stolkin I. Inorganic particulates in pneumoconiotic lungs of hard metal grinders. *Br J Ind Med* 1987;44:657-660.

271. Rystedt I. Evaluation and relevance of isolated test reactions to cobalt. *Contact Dermatitis* 1979;5:233-238.
272. Rystedt I, Fischer T. Relationship between nickel and cobalt sensitization in hard metal workers. *Contact Dermatitis* 1983;9:195-200.
273. Sandusky GE, Crawford MP, Roberts ED. Experimental cobalt cardiomyopathy in the dog: A model for cardiomyopathy in dogs and man. *Toxicol Appl Pharm* 1981;60:263-278.
274. Scansetti G, Botta GC, Spinelli P, Reviglione L, Ponzetti C. Absorption and excretion of cobalt in the hard metal industry. *Sci Total Environ* 1994;150/1-3:141-144.
275. Scansetti G, Lamon S, Botta GC, Talarico S, Piolatto G. Valutazione dell'esposizione a cobalto nella produzione de metalli duri con misure ambientali e biologiche. *Med Lav* 1983;74:323-332.
276. Scansetti G, Lamon S, Talarico S, et al. Urinary cobalt as a measure of exposure in the hard metal industry. *Int Arch Occup Environ Health* 1985;57:19-26.
277. Schade SG, Felsher BF, Bernier GM, Conrad ME. Interrelationship of cobalt and iron absorption. *J Lab Clin Med* 1970;75:435-442.
278. Schepers GWH. The biological action of particulate cobalt metal. Studies on experimental pulmonary histopathology. *AMA Arch Ind Health* 1955;12:127-133.
279. Schepers GWH. The Biological action of tungsten carbide and cobalt. Studies on experimental pulmonary histopathology. *AMA Arch Ind Health* 1955;12:140-146.
280. Scherrer M, Maillard J-M. Hartmetall-Pneumopathien. *Schweiz med Wschr* 1982;112:198-207.
281. Schirmmacher UOE. Case of cobalt poisoning. *Br Med J* 1967;1:544-545.
282. Schwartz L, Peck SM, Blair KE, Markuson KE. Allergic dermatitis due to metallic cobalt. *J Allergy Clin Immunol* 1945;16:51-53.
283. Scott KG, Reilly WA. Cobaltous chloride and iodine metabolism of normal and tumor-bearing rats. *JAMA* 1955;158:1355-1357.
284. Sedman RM, Tephly TR. Cardiac delta-aminolevulinic acid synthetase activity. Effects of fasting, cobaltous chloride and hemin. *Biochem Pharmacol* 1980;29:795-800.
285. Shabaan AA, Marks V, Lancaster MC, Dufeu GN. Fibrosarcomas induced by cobalt chloride (CoCl<sub>2</sub>) in rats. *Lab Anim* 1977;11:43-46.
286. Shirakawa T, Kusaka Y, Fujimura N, et al. Occupational asthma from cobalt sensitivity in workers exposed to hard metal dust. *Chest* 1989;95:29-37.
287. Shirakawa T, Kusaka Y, Fujimura N, Kato M, Heki S, Morimoto K. Hard metal asthma: cross immunological and respiratory reactivity between cobalt and nickel? *Thorax* 1990;45:267-271.
288. Sjögren I, Hillerdal G, Andersson A, Zetterström O. Hard metal lung disease: importance of cobalt in coolants. *Thorax* 1980;35:653-659.
289. Skog E. Skin affections caused by hard metal dust. *Ind Med Surg* 1963;32:266-268.
290. Smith RJ, Ignarro LJ, Fisher JW. Lysosomal enzyme release: A possible mechanism of action of cobalt as an erythropoietic stimulant. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974;146:781-785.
291. Smith T, Edmonds CJ, Barnaby CF. Absorption and retention of cobalt in man by whole-body counting. *Health Phys* 1972;22:359-367.
292. Sorbie J, Olatunbosun D, Corbett WEN, Valberg LS, Ludwig J, Jones C. Cobalt excretion test for the assessment of body iron stores. *Can Med Assoc J* 1971;104:777-782.
293. Söremark R, Diab M, Arvidson K. Autoradiographic study of distribution patterns of metals wich occur as corrosion products from dental restorations. *Scand J Dent Res* 1979;87:450-458.
294. Speijers GJA, Krajnc EI, Berkvens JM, van Logten MJ. Acute oral toxicity of inorganic cobalt compounds in rat. *Food Chem Toxicol* 1982;20:311-314.
295. Sprince LN, Oliver LC, Eisen EA, Greene RE, Chamberlin RI. Cobalt exposure and lung disease in tungsten carbide production. *Am Rev Respir Dis* 1988;138:1220-1226.
296. Sprince NL, Chamberlin RI, Hales CA, Weber AL, Kazemi H. Respiratory Disease in Tungsten Carbide Production Workers. *Chest* 1984;86:549-557.
297. Stebbins AI, Horstman SW, Daniell WE, Atallah R. Cobalt exposure in a carbide tip grinding process. *Am Ind Hyg Assoc J* 1992;53(3):186-192.
298. Steinhoff D, Mohr U. On the question of a carcinogenic action of cobalt-containing compounds. *Exp Pathol* 1991;41:169-174.
299. Stenberg T. The distribution in mice of radioactive cobalt administered by two different methods. *Acta Otolol Scand* 1983;41:143-148.
300. Stokinger HE. The metals. In: Clayton GD, Clayton FE., eds. *Paty's industrial hygiene and toxicology*. Vol. IIA, 3rd ed. New York: Wiley and Sons, 1981:1493-2060.
301. Stokinger HE, Wagner WD. Early metabolic changes following cobalt exposure. Elevations in serum alpha globulins and serum neuraminic acid. *AMA Arch Ind Health* 1958;17:273-279.
302. Stoner GD, Shimkin MB, Troxell MC, Thompson TL, Terry LS. Test for carcinogenicity of metallic compounds by the pulmonary tumor response in strain a mice. *Cancer Res* 1976;36:1744-1747.
303. Sullivan J, Parker M, Carson SB. Tissue cobalt content in "beer drinkers' myocardiopathy". *J Lab Clin Med* 1968;71:893-896.
304. Suvorov IM, Cekunova MP. Cobalt, alloys and compounds. In: Parmeggiani L., ed. *Encyclopedia of occupational health and safety*, 3rd ed. Geneva: International Labour Organization, 1983:493-495.
305. Suzuki Y, Shimizu H, Nagae Y, Fukumoto M, Okonogi H, Kadokura M. Micronucleus test and erythropoiesis: Effect of cobalt on the induction of micronuclei by mutagens. *Environ Mol Mutagen* 1993;22:101-106.
306. Swanson SAV, Freeman MAR, Heath JC. Laboratory tests on total joint replacement prostheses. *Bone Joint Surg* 1973;55B:759-773.
307. Swennen B, Buchet J-P, Stănescu D, Lison D, Lauwerys R. Epidemiological survey of workers exposed to cobalt oxides, cobalt salts, and cobalt metal. *Br J Ind Med* 1993;50:835-842.
308. Tabatowski K, Roggli VL, Fulkerson WJ, Langley RL, Benning T, Johnston WW. Giant cell interstitial pneumonia in a hard-metal worker. *Acta Cytol* 1988;32:240-246.
309. Taylor DM. The absorption of cobalt from the gastro-intestinal tract of the rat. *Phys Med Biol* 1962;6:445-451.
310. Templeton DM, Chaitu N. Effects of divalent metals on the isolated rat glomerulus. *Toxicology* 1990;61:119-133.
311. Theocharis S, Margeli A, Panayiotidis P. Effects of various metals on DNA synthesis and lymphokines production by human peripheral blood lymphocytes in vitro. *Comp Biochem Physiol* 1991;99C:131-133.
312. Tribukait B. Der Einfluss von Cobalt auf die Erythropoiese der Ratte. *Acta Physiol Scand* 1963;58:101-110.
313. Tso W-W, Fung W-P. Mutagenicity of metallic cations. *Toxicol Lett* 1981;8:195-200.
314. Valberg LS, Ludwig J, Olatunbosun D. Alterations in cobalt absorption in patients with disorders of iron metabolism. *Gastroenterology* 1969;56:241-251.
315. Van Den Oever R, Roosels D, Douwen M, Vanderkeel J, Lahaye D. Exposure of diamond polishers to cobalt. *Ann Occup Hyg* 1990;34:609-614.
316. Wahlberg JE. Percutaneous toxicity of metal compounds. *Arch Environ Health* 1965;11:201-204.

317. Webb M. The biological action of cobalt and other metals. III. Chelation of cations by dihydrolipoic acid. *Biochim Biophys Acta* 1962;65:47-65.
318. Wehner AP, Busch RH, Olson RJ, Craig DK. Chronic inhalation of cobalt oxide and cigarette smoke by hamsters. *Am Ind Hyg Assoc J* 1977;38:338-346.
319. Wehner AP, Craig DK. Toxicology of inhaled NiO and CoO in Syrian golden hamsters. *Am Ind Hyg Assoc J* 1972;33:146-155.
320. Wiberg GS, Munro IC, Morrison AB, Grice HC. Factors affecting the cardiotoxic potential of cobalt. *Clin Toxicol* 1969;2:257-271.
321. Wiberg GS, Munro IC, Morrison AB. Effect of cobalt on myocardial metabolism. *Can J Biochem* 1967;45:1219-1223.
322. Wide M. Effect of short-term exposure to five industrial metals on the embryonic and fetal development of the mouse. *Environ Res* 1984;33:47-53.
323. Wiegand H, Uhlig S, Gotzsch U, Lohmann H. The action of cobalt, cadmium and thallium on presynaptic currents in mouse motor nerve endings. *Neurotoxicol Teratol* 1990;12:313-318.
324. Windholz M, ed. *The Merck index*, 9th ed. Rahway, N.J.: Merck and Co., 1976.
325. Wong PK. Mutagenicity of heavy metals. *Bull Environ Contam Toxicol* 1988;40:597-603.
326. Yamamoto K, Inoue S, Yamazaki A, Yoshinaga T, Kawanishi S. Site-Specific DNA Damage Induced by Cobalt(II) Ion and Hydrogen Peroxide: Role of Singlet Oxygen. *Chem Res Toxicol* 1989;2:234-239.
327. Yokoiyama A, Kada T, Kuroda Y. Antimutagenic action of cobaltous chloride on radiation-induced mutations in cultured Chinese hamster cells. *Mutation Res* 1990;245:99-105.
328. Yukawa M, Suzuki-Yasumoto M. Distribution of trace elements in the human body determined by neutron activation analysis. *Arch Environ Health* 1980;35:36-44.
329. Zarafonetis CJD, Bartlett RH, Brody GL. Lipid mobilizer hormone in cobalt chloride hyperlipemia. *JAMA* 1965;191:169-171.

## Appendix

Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av cobalt och oorganiska föreningar (som Co) i luften.

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	-	0.05		1988	1
Finland	-	0.05		1993	2
Island	-	0.05	S	1989	3
Nederländerna	-	0.05		1994	4
Norge	-	0.05	S	1989	5
Serige	-	0.05	S	1993	6
USA (ACGIH)	-	0.002	A3	1994-95	7
(NIOSH)	-	0.05		1990-91	8

A3: djurcarcinogen

S: sensibiliserande

## Referenser

1. *Gränsvärder för stoffer og materialer*. København: Arbejdstilsynet, 1988 (Anvisning Nr.3.1.0.2).
2. *HTP-värden 1993*. Tammerfors: Arbetsministeriet, 1993 (Säkerhetsmeddelande 25). ISBN 951-47-8343-3.
3. *Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun*. Skrá yfir mengunarmörk. Reykjavik: Vinnuefurlit Ríkisins, 1989.
4. *De Nationale MAC-lijst 1994*. Den Haag: 1994 (Arbeidsinspectie P 145). ISBN 90-399-0600-9.
5. *Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere*. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Oslo: Direktoratet for arbeidstilsynet, 1989 (Bestillingsnr. 361).
6. *Hygieniska gränsvärden*. Stockholm: Arbetarskyddsstyrelsen, 1993 (AFS 1993:9). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. Rules and Regulations. *Federal Register Vol.54*. Washington: US Government, 1990:2329-2984.

1994:42

## **Kriteriedokument från Nordiska Expertgruppen 1994**

*Redaktörer:*

*Brita Beije*

*Per Lundberg*

### Centrum för arbetsmiljöforskning

Arbetsmiljöinstitutet forskar, utbildar och informerar om arbetsmiljö. Institutet är Sveriges största centrum för forskning inom arbetsmiljöområdet. Forskning bedrivs inom ämnesområdena fysiologi, kemi, medicin, psykologi, teknik och toxikologi. Totalt arbetar 390 personer vid AI, varav drygt 300 med forskning. AI finns i Solna och Umeå.

Vid institutet bedrivs både tillämpad forskning och riktad grundforskning. Verksamheten sker i samarbete med bl a högskolor, företagshälsövärd och yrkesmedicinska kliniker, både inom och utom Norden.

Institutets satsning på 90-talet är den goda arbetsmiljön. Satsningen sker genom fyra särskilda forskningsprogram som inriktar sig på ungdomar, äldre, yrkesförare samt anställda inom sjukvården. Sedan flera år prioriterar institutet forskning om problem som: belastningsskador, lungsjukdomar, cancer och genetiska skador, hudsjukdomar, olycksfall, datorn som hjälpmedel samt elektromagnetiska riskfaktorer.

De senaste forskningsrönen inom arbetsmiljöområdet presenteras bl a i institutets vetenskapliga skriftserie *Arbete och Hälsa* samt i Undersökningsrapporter. Dessutom ges Utbildningsrapporter och Metodrapporter ut.

### Arbete och Hälsa

**Redaktör:** Anders Kjellberg.

**Redaktionskommitté:** Åsa Kilbom, Elisabeth Lagerlöf, Anders Colmsjö, och Nils Stjernberg.

**Grafisk produktion:** Eva Nilsson

© Arbetsmiljöinstitutet & författarna 1994  
Arbetsmiljöinstitutet,  
171 84 Solna, Sverige.

ISBN 91-7045-290-3

ISSN 0346-7821

Tryckt hos Graphic Systems

## Förord

Inom Nordiska Ministerrådets projekt för dokumentation av yrkeshygieniska gränsvärden har bildats en expertgrupp för att leda arbetet. Den består för närvarande av:

- |                      |  |
|----------------------|--|
| •Helgi Gudbergsson   | Heilsuverndarstödin, Reykjavik           |
| •Petter Kristensen   | Statens Arbeidsmiljøinstitutt, Oslo      |
| •Per Lundberg (ordf) | Arbetsmiljöinstitutet, Solna             |
| •Vesa Riihimäki      | Institutet för arbetshygien, Helsingfors |
| •Adolf Schaich Fries | Arbejdsmiljøinstituttet, København       |

Målsättningen för arbetet är att ge ett vetenskapligt underlag inför diskussion om yrkeshygieniskt gränsvärde. Underlaget syftar till att från publicerad vetenskaplig litteratur komma fram till ett dos-respons-/dos-effekt-förhållande och en kritisk effekt, så långt detta är möjligt. Det är däremot inte expertgruppens uppgift att ge direkta förslag till gränsvärden.

Det insamlade materialet värderas och ett dokumentförslag utarbetas av författare som föreslås av expertgruppen. Den nationelle ledamoten fungerar som referent. Förslaget diskuteras av expertgruppen och bearbetas därefter av författaren innan det blir antaget.

Redaktionell granskning sker vid gruppens sekretariat vid Arbetsmiljöinstitutet i Solna. Vetenskaplig sekreterare är Brita Beije.

Endast artiklar som bedömts vara pålitliga och av betydelse för just denna diskussion åberopas i detta dokument.

Biologiska halter är angivna i mol/l eller mg/kg, lufthalter i mg/m<sup>3</sup>. Om halterna i de refererade arbetena ej är uttryckta i dessa sorter är de såvitt möjligt omräknade med angivelse av den ursprungliga sorten inom parentes.

Denna volym består av en skandinavisk version av de dokument som under 1994 har publicerats på engelska. I innehållsförteckningen finns namnen på författarna samt det datum då respektive dokument godkänts av Nordiska Expertgruppen. Dokumenten är skrivna på danska, norska eller svenska.

Solna, december 1994

Brita Beije  
Sekreterare

Per Lundberg  
Ordförande

## INNEHÅLL

Dietylamin, Dietylentriamin, Dimetylamin, Etylendiamin (24 februari, 1994) E. Andersson, B. Järvholm	7
Industriella enzymer (14 juni, 1994) J. Brisman	59
2-Etylhexansyra (14 juni, 1994) V. Riihimäki	87
1,3-Butadien (13 juni, 1994) M. Sorsa, K. Peltonen	117
Kobolt og koboltförbindelser (21 oktober, 1994) U. Midtgård, M.L. Binderup	163
N-Metyl-2-pyrrolidon (15 juni, 1994) B. Åkesson	235
Sammanfattning	260
Summary	260
Appendix (Dokument som publicerats från Nordiska Expertgruppen)	261

# N-Metyl-2-pyrrolidon

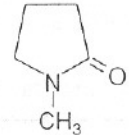
(NMP)

Bengt Åkesson

Yrkes- och miljömedicinska kliniken  
Universitetssjukhuset  
221 85 Lund

1. Fysikaliska och kemiska data
  2. Förekomst, användning
    - 2.1. Användning
    - 2.2. Lufthalter i arbetsmiljön
      - 2.2.1. Metoder för analys av lufthalter
      - 2.2.2. Metoder för analys av biologiska prov
  3. Kinetik
    - 3.1. Upptag
    - 3.2. Distribution
    - 3.3. Biotransformation
    - 3.4. Elimination
    - 3.5. Biologiska exponeringsindikatorer
  4. Allmän toxicologi
    - 4.1. Akut toxicitet
    - 4.2. Faktorer som kan påverka toxiciteten
  5. Organeffekter
    - 5.1. Effekter på hud, slemhinnor och ögon
    - 5.2. Effekter på andningsorganen
    - 5.3. Effekter på lever
    - 5.4. Effekter på njurar
    - 5.5. Effekter på magtarmkanalen
    - 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl
    - 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ
    - 5.8. Effekter på centrala och perifera nervsystemet
    - 5.9. Övriga organeffekter
  6. Immunotoxicitet och allergi
  7. Mutagenicitet och genotoxicitet
  8. Carcinogenicitet
  9. Reproduktionstoxikologi
  10. Samband mellan exponering, effekt och respons
    - 10.1. Effekter av korttidsexponering
    - 10.2. Effekter av långtidsexponering
    - 10.3. Reproduktionstoxiska effekter
  11. Forskningsbehov
  12. Diskussion och värdering
  13. Sammanfattning
  14. Referenser
- Appendix

## 1. Fysikaliska och kemiska data

Kemiskt namn	N-metyl-2-pyrrolidon (NMP)
Synonymer	N-metylpyrrolidon metylpyrrolidon N-metyl-a-pyrrolidon N-metyl-2-pyrrolidinon 1-metyl-2-pyrrolidinon N-metylpyrrolidinon 1-metyl-5-pyrrolidinon N-metyl-2-oxypyrrolidinon N-metyl-2-ketopyrrolidinon Butyrolaktam
Handelsnamn	M-pyrol
CAS nummer	872-50-4
Summaformel	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO
Strukturformel	
Molekylvikt	99,13
Ångtryck	0,039 kPa (0,29 mm Hg) vid 20°C 0,045 kPa (0,33 mm Hg) vid 25°C
Kokpunkt	202°C vid 101,3 kPa (760 mm Hg)
Smältpunkt	-23,0 till -24,4°C
Flampunkt	95°C (204°F; open cup) 90°C (194°F; closed cup)
Explosionsgränser	1,3-9,5 % (v/v) i luft
Densitet	1,028 g/cm <sup>3</sup>
Fördelningsfaktor (Kow) (oktanol/vatten)	0,42
Omräkningsfaktorer	1 ppm = 4,12 mg/m <sup>3</sup> ; 1 mg/m <sup>3</sup> = 0,24 ppm



NMP är en färglös vätska med en mild ammoniakliknande lukt. Den är en polär, basisk förening med god stabilitet. NMP, som enkelt kan renas genom fraktionerad destillation, oxideras långsamt i luft. NMP är hygroskopiskt. NMP är obegränsat blandbar med vatten men även blandbar med de flesta organiska lösningsmedel (23, 36). NMP korroderar inte kolstål. I reningsprocessen av avloppsvatten omvandlas NMP till stabila karbonylföreningar (10). Nedbrytningshastigheten, halveringstiden, i lera, gjuterisand och sand är 4, 8 respektive 12 dagar (21).

## 2. Förekomst, användning

### 2.1. Användning

NMPs användning inom ett stort antal verksamheter med kommersiell betydelse beror på dess starka och selektiva egenskaper som lösningsmedel. Inom den petrokemiska industrin har NMP stor betydelse som extraktionsmedel för alifatiska och aromatiska kolväten, olika gaser, oljor, kol- och tjärafraktioner samt föreningar innehållande syre, kväve och/eller halogener (23).

NMP kan lösa de flesta mono- och polymerer samt har katalytisk effekt på ett flertal olika polymerisationsreaktioner. NMP är därför ett utmärkt reaktionsmedium vid tillverkning av polymerer, t.ex. aromatiska polyamider, polyimider, polysulfider, polyvinylklorider, polyvinylacetater, naturhartser och hartser med fluor. NMP används även som katalysator i andra typer av reaktioner, t.ex. alkylering, acylering, etnylering, vinylering, disproportionering, pyrolysning, klorering och sulfonering.

Inom den mikroelektroniska industrin används NMP för strippning och/eller tvättning av komponenterna. I elektrolytiska kapacitörer och i batterier är NMP användbar på grund av sin höga elektriska konduktivitet. NMP är allmänt förekommande vid beredning av insekticider, herbicider och fungicider samt vid tillverkning av pigment, färg och bläck. NMP används också som mellansteg/intermediär vid tillverkning av läkemedel, till att öka upptaget av läkemedel genom huden samt som bindemedel i kosmetiska produkter.

Ett nytt användningsområde med stor betydelse är som ersättning för andra ämnen med sämre stabilitet, större flyktighet och toxicitet, t.ex. för klorerade kolväten såsom metylenklorid i färgborttagningsmedel. Användningen av NMP vid borttagning av graffiti har ökat mycket kraftigt (23).

### 2.2. Lufthalter i arbetsmiljön

Endast två undersökningar av yrkesmässig NMP exponering har redovisats. Vid tillverkning av mikroelektronikkomponenter (6) exponerades arbetarna (tidsvägt medelvärde under 8 tim i andningszonen) för NMP halter från <0,1 till 6 mg/m<sup>3</sup>. De högsta halterna, 3-6 mg/m<sup>3</sup>, innehöll arbetsmoment med varm NMP.

Provtagning vid stationära provtagningsplatser visade halter (medelvärden för hela skiftet) från <0,1 till 280 mg/m<sup>3</sup> (6). I annan undersökning rapporterades en kortvarig exponering för 10 mg/m<sup>3</sup> vid borttagning av graffiti (3).

#### 2.2.1. Metoder för analys av lufthalter

Provsamling av NMP i luftprov kan utföras på fasta adsorbenter, såsom kiselgel (9), Amberlite XAD-7 (1) eller aktivt kol samt i absorptionslösning (utspädd saltsyra). Desorption från de fasta adsorbenterna och extraktion av absorptionslösningen sker med organiskt lösningsmedel, t.ex. toluen, etylacetat, diklormetan. Bäst effektivitet erhålles vid provsamling på Amberlite XAD-7 och desorption (1:a glasullspluggen + analyskiktet) med toluen eller etylacetat. Analysen av NMP i luftprover kan utföras gaskromatografiskt med flamjonisations- eller kvävespecifik detektor. Med dessa metoder kan  $\leq 0,1$  mg/m<sup>3</sup> bestämmas (t.ex. fast adsorbent, 15 min, 0,200 l/min).

#### 2.2.2. Metoder för analys av biologiska prov

Bestämning av NMP i urin- och plasmaprov kan utföras, efter olika matrismodulerande steg, med HPLC. Kromatografin utföres med "reversed phase mode" med UV-detektor (12, 33, 42, 44). NMP i urin och blod kan också analyseras genom att proven göres alkaliska med kaliumhydroxid, varefter NMP extraheras med organiskt lösningsmedel (t.ex. toluen eller etylacetat), och analyseras gaskromatografiskt med masspektrometer eller kvävekänslig detektor. Med den senare metoden kan  $\leq 0,1$   $\mu$ mol/l i urin och 0,04  $\mu$ mol/l blod bestämmas.

## 3. Kinetik

### 3.1. Upptag

Försök med råttor har visat att NMP effektivt tages upp via andningsvägarna (35), magtarmkanalen (33) och huden (33). Råttor, som inhalerade 620 mg/m<sup>3</sup> under 6 tim, uppvisade, efter avslutad exponering, en fortsatt ökning av NMP koncentrationen i blodet under ytterligare 4 tim. Hos dräktiga råttor varade ökningen 8 tim efter avslutad exponering (35). När NMP administrerades genom magsond uppmättes, hos både hanar och honor, den högsta koncentrationen i plasma 2 tim efter administrationen. När NMP administrerades via huden nådde koncentrationen i plasma maximum 1 tim efter hudapplikationen hos hanrättor och hos honrättor efter 2 tim. Upptaget genom huden, mätt som plasmakoncentrationen, var, i stort sätt, konstant under 1-6 tim efter applikationen. Den kumulativa utsöndringen i urin efter administrering på huden indikerar ett hudupptag på ca 70% samt att upptaget tycks vara större för honrättor än för hanrättor. Undersökningar, in vitro, visar att upptaget genom humanhud är ca 4 ggr lägre än genom råttuhud (34). Det metaboliska mönstret för NMP och dess metaboliter indikerar en betydande åter-absorption av NMP i njurarna (33).

### 3.2. Distribution

Undersökning med intravenös injektion av isotopmärkt NMP på råtta visade att NMP distribuerades snabbt till alla organ. I plasma sjönk halten kraftigt under perioden 5-30 min efter administrationen. Därefter, under den följande 90 min perioden, var sänkningen av NMP-halten i plasma betydligt mindre. Distributionsvolymen beräknades till 0,3-0,5 l/kg kroppsvikt. Sex timmar efter administrationen fanns den högsta ackumulerade radioaktiviteten i lever, tunn- och tjocktarm, testiklar, mage samt njurar. Vid beräkning av radioaktiviteten per gram vävnad uppvisade tymus och urinblåsa de högsta halterna. Efter 24 tim var radioaktiviteten fortfarande mätbar i lever och tarmar (42). NMP passerar placentan. Vid inhalationsförsök med NMP var koncentrationen av NMP efter 6 timmar lika hög i fostrets blod som i moderdjurets blod (35).

### 3.3. Biotransformation

Den huvudsakliga biotransformationen av NMP, hos råtta, är hydroxylering till 5-hydroxy-N-metyl-2-pyrrolidon (44). Utsöndringen i urin återspeglar en bildning av 5-hydroxy-N-metyl-2-pyrrolidon motsvarande 70-75% av administrerad NMP dos. Ytterligare två, icke identifierade, polära metaboliter motsvarande 15 respektive 9% av dosen har konstaterats (42). Man har ej funnit någon utsöndring av isomeren 3-hydroxy-N-metyl-2-pyrrolidon (44). Bildning av CO<sub>2</sub> genom nedbrytning av pyrrolidon-ringen är minimal. Metabolismen vid dermal och oral administration är i stort sett identisk, vilket indikerar att "first-pass metabolism" är obetydlig (33).

### 3.4. Elimination

Eliminationen av NMP hos råtta sker i huvudsak genom biotransformation till polära metaboliter. Endast en liten del (<1%) av ursprungsföreningen utsöndras i urinen. Utsöndring via gallan är också obetydlig (ca 2%) liksom elimination via utandningsluften (1-2%). Metaboliterna utsöndras via njurarna. Man har inte funnit några konjugerade metaboliter i urinen (42).

Den, vid intravenös administration, snabba distributionsfasen av NMP följs av en långsammare eliminationsfas. Hos råtta är NMPs halveringstid i plasma 7-10 tim. Metaboliter av NMP kunde inte detekteras i plasman förrän 4 tim efter administrationen. Efter ytterligare 2 tim var fortfarande 80% av den intravenösa radioaktiva dosen ometaboliserad NMP. Utsöndringen i urin under de första 12 tim efter administration motsvarade ca 70% av dosen och efter 24 tim 80% (42). Halveringstiden för utsöndringen i urin, uttryckt som radioaktivitet i urin efter administration av en radioaktiv dos, var 2,3 tim (23).

Tabell 1. N-metyl-2-pyrrolidon (NMP): LD<sub>50</sub> värden för olika gnagare.

Djurslag	Administrationsväg	LD <sub>50</sub> (mg/kg kroppsvikt)	Ref.
Råtta <sup>1</sup>	intravenös	2300	5
Mus <sup>2</sup>	intravenös	3600	5
Råtta <sup>1</sup>	intraperitoneal	2500	5
Mus <sup>2</sup>	intraperitoneal	4400	5
Råtta <sup>1</sup>	oral	3900	5
Råtta <sup>1</sup>	oral	4200	2
Råtta <sup>3</sup>	oral <sup>5</sup>	7900	32
Mus <sup>4</sup>	oral	4100	41
Mus <sup>4</sup>	oral <sup>5</sup>	5300	32
Mus <sup>2</sup>	oral	7700	5
Kanin <sup>4</sup>	oral <sup>5</sup>	3500	32
Marsvin <sup>4</sup>	oral <sup>5</sup>	4400	32
Råtta <sup>4</sup>	hud	7000	41
Råtta <sup>1</sup>	hud	2500-10000	11
Kanin <sup>3</sup>	hud	4000-8000	23
Kanin <sup>3</sup>	hud <sup>6</sup>	2000-4000	23

1. Sprague-Dawley råtta; 2. NMRI mus; 3. Albino kanin; 4. Stam ej redovisad; 5. Mittletala dosen; 6. Avskavd hud.

Både vid oral och percutan administration uppvisade NMP, efter upptag och distribution, samma eliminationsmönster som efter intravenös administration. Plasma koncentrationen, som uppnådde maximum 2 tim efter oral administration, minskade under de följande 6 tim med en halveringstid av 9-12 tim. Vid denna tidpunkt, 8 tim efter den orala administrationen, var fortfarande ca 80% av dosen ometaboliserad. Därefter blev biotransformationen mer påtaglig och efter ca 12 timmar förelåg i stort sett hela dosen som polära metaboliter (33).

Dräktiga och icke-dräktiga råttor eliminerade NMP olika snabbt. Icke-dräktiga råttor eliminerade med hastigheten 0,21 mM/kg kroppsvikt/tim medan dräktiga råttor eliminerade långsammare, 0,11 mM/kg kroppsvikt/tim. Eliminationen följde en "0-order" funktion (35).

### 3.5. Biologiska exponeringsindikatorer

Information om biologiska exponeringsindikatorer saknas.

## 4. Allmän toxicologi

### 4.1. Akut toxicitet

De flesta undersökningar av den akuta toxiciteten har utförts på mus eller råtta efter intravenös, intraperitoneal eller oral administration. I Tabell 1 redovisas LD<sub>50</sub>-värdena. De inhalationsundersökningar som utförts visar, med undantag av en 4-veckors undersökning av Lee et al (28), ingen eller obetydlig dödlighet bland de studerade djuren (Tabell 3). I de undersökningar som omfattat både han- och hondjur har inga skillnader mellan könen observerats.

Vid en undersökning av den akuta toxiciteten på Sprague-Dawley råtta efter oral administration fann man, hos råttor som inte överlevde, irritationseffekter i mag-tarmkanalen och missfärgning av njurar, lever och lungor (2). Vid sub-letala doser, 1/8 av LD<sub>50</sub> värdet (LD<sub>50</sub>=4200 mg/kg kroppsvikt), registrerades störning av samordningen av muskelrörelser (ataxia) och urinutsöndring (diuresis) hos överlevande djur.

### 4.2. Faktorer som kan påverka toxiciteten

NMP kan öka andra ämnens förmåga att penetrera huden. Denna effekt kan resultera i en ökad risk för upptag av dessa ämnen. En 500-faldig ökning av hudgenomträngligheten har uppmätts (25). Effekten är dock övergående/transient. När NMP själv har penetrerat huden, upphör den accelerande effekt som NMP haft på andra ämnens hudupptag (38).

## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud, slemhinnor och ögon

Ett flertal arbetare i en elektroteknisk fabrik erhöll hudirritation efter endast några dagars arbete med NMP. Tio utav tolv exponerade arbetare fick akutirriterande kontakteksem på händerna. Graden av hudskador tycktes vara proportionell mot graden av NMP exponering. Tre veckor efter det att exponeringen upphört var hudskadorna läkta (29).

Effekten på hud har undersökts på 50 frivilliga försökspersoner. Vid totalt 15 tillfällen placerades testlappar indränkta med NMP på samma ställe på huden under 24 tim (varannan dag). Svag till moderat transient hudirritation observerades. Inga tecken på hudsensibilisering kunde observeras (23).

NMPs hudtoxicitet på djur redovisas också som svag/moderat (2, 11). På kanin testades hudirritationen med en modifierad Draize metod. Man registrerade ett irritationsindex på 0,5, vilket indikerar låg potential för hudirritation. Marsvin, som exponerades för NMP i vattenlösning, erhöll hudirritation av en 50% lösning

men inte av en 5% (23). Dräktiga Sprague-Dawley råttor som exponerades på huden för 500-2500 mg NMP/kg kroppsvikt per 25 cm<sup>2</sup> uppvisade uttorkning av huden vid applikationsstället (7).

Den ögonirriterativa effekten testades på vita New Zealand kaniner genom att 0,1 ml utspädd NMP applicerades i den konjunktivala säcken på det ena ögat medan det andra ögat tjänstgjorde som kontroll. En subgrupp av de exponerade kaninerna fick ögonen spolade 30 sek efter NMP applikationen. De konjunktivala effekterna (ögonirritation såsom grumling av hornhinnan (corneal opacity), inflammation av regnbågs- (iritis) och binhinnan (conjunctivitis) beräknade enligt Draize metoden (13)) försvann inom 21 dagar. För de djur som fick sina ögon sköljda försvann effekterna inom 14 dagar (2).

I en industri, med tillverkning av komponenter för mikroelektronik, i vilken arbetarna exponerades för <0,1 till 6 mg/m<sup>3</sup> (8 tim tidsvägt medelvärde) rapporterades att exponeringar, så låga som 3 mg/m<sup>3</sup>, redan efter kort exponeringstid (30 min), orsakade kraftig ögonirritation samt huvudvärk. Mätningar inom de arbetsområden där arbetarna endast arbetade under korta perioder, visade medelhalter upp till 280 mg/m<sup>3</sup>, vilket indikerar att arbetarna tillfälligt kunde exponeras för höga halter. Vid beräkningen av dos-effekt-förhållandet måste hänsyn tagas till dessa kortvariga "peak" exponeringar (6).

### 5.2. Effekter på andningsorganen

I en inhalationsstudie helkroppsexponerades råttor (Charles River CD; 15 djur av båda könen per exponeringsnivå) för NMP (0, 100, 500 och 1000 mg/m<sup>3</sup>) under 6 tim/dag, 5 dagar/vecka under 4 veckor. Den genererade NMP atmosfären bestod av aerosol där >95% av aerosoldiametern var mindre än 10 µm. Vid samtliga NMP nivåer observerades, efter 3-4 tim exponering, slöhet (letargi) och oregelbunden andning. Vid 1000 mg/m<sup>3</sup> ökade dödligheten kraftigt. Åtta råttor utav 30 dog under de första 9 dagarna varför exponeringen vid denna nivå stoppades efter 10 dagar. När dessa 8 döda djur undersöktes fann man kraftiga lungödem och blödningar (pulmonary edema och congestion). På de råttor som överlevde men som avlivades efter exponeringsstoppet fann man vävnadsfokuserad inflammation i lungorna (focal interstitial pneumoniös) och ett ökat antal neutrofiler i lungkapillärerna. För de djur som inte avlivades omedelbart efter exponeringsstoppet var dessa effekter borta 2 veckor efter exponeringen. Vid exponering för 100 eller 500 mg/m<sup>3</sup> fann man efter avslutad exponering inga effekter på lungorna (28).

När samma forskare under 2 år exponerade råttor (Charles River CD; 120 djur av båda könen per exponeringsnivå) för NMP (0, 40 och 400 mg/m<sup>3</sup>) under 6 tim/dag, 5 dagar/vecka (28) fann man inga effekter på andningsvägarna. Förhållandet ånga/aerosol analyserades inte i testatmosfären men andelen aerosol bedömdes vara liten (28).

Inhalering av 210 mg/m<sup>3</sup> NMP under 2 tim per dag, 6 dagar/vecka under 1 månad orsakade irritation i luftvägarna på möss (39).

### 5.3. Effekter på lever

Exponering för 400 mg NMP/m<sup>3</sup> (se 5.2) orsakade en ökning av den alkaliska fosfatasnivån i plasma hos hanrättor efter 18 månader jämfört med rättorna i kontrollgruppen. Efter 24 månader kunde man emellertid inte se någon skillnad mellan exponerade och kontroller (28).

Administrering av NMP via födan till han- och honrättor (Wistar; 40, 100 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag) under 90 dagar visade en ökning av SGPT enzymaktiviteten vid den högsta dosnivån (23).

Subletala, orala doser av NMP (1/5 av LD<sub>50</sub> värdet) under 1,5 månad till råttor (1,58 g/kg kroppsvikt) och till kanin (0,7 g/kg kroppsvikt) ökade, i råttor, koncentrationen av glykogen i levern, bilirubin i serum och kolesterol i blodet. Hos kaninerna fann man vävnadsskada i levern. Vid oral administration av NMP-doser motsvarande 1/10 av LD<sub>50</sub> fann man inga effekter varken på råttor eller kanin (27).

Vid oral administration av NMP (0,025, 0,25 eller 2,5 mg/kg kroppsvikt/dag) under 6 månader ökade glykogenhalten i råttlever vid högsta dosnivån men inte i kaninlever (32).

Vid administrering av NMP via födan till hundar under 90 dagar (Beagle; båda könen; 25, 79 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag) minskade koncentrationen av kolesterol i serum med ökande NMP doser, hos hanar (8). Intravenös injektion av NMP på råttor (200 mg/kg kroppsvikt) orsakade förhöjd blodsockerhalt (hyperglycemia (4)).

### 5.4. Effekter på njurar

Inhalation av NMP (se 5.2) medförde, efter 12 månader, en svag ökning av kronisk progressiv njurskada (nefropati) hos hanrättorna vid 40 mg/m<sup>3</sup>, men anmärkningsvärt nog, inte vid 400 mg/m<sup>3</sup>. Man fann också kronisk progressiv njurskada hos 8 av 23 rättor som exponerats för 400 mg/m<sup>3</sup> och som undersökts fram till den 18:e månaden jämfört med 4 av 19 rättor i kontrollgruppen. Ingen statistisk skillnad förelåg mellan exponerade rättor och kontroller efter 18 eller efter 24 månaders exponering. Vid exponering för 400 mg/m<sup>3</sup> ökade urinutsöndringen hos hanrättorna, medan båda könen utsöndrade mörkt guldfärgad urin vid denna halt (28).

I en reproduktionsstudie, i vilken NMP administrerades på moderdjurens (SpD rättor) hud, fann man en med NMP dosen korrelerad utsöndring av mörkfärgad (bright yellow enl. ref.) urin (7).

Subletala orala doser av NMP till kanin under 1,5 månad (1/5 av LD<sub>50</sub>; 0,7 g/kg kroppsvikt) orsakade vävnadsskada i njurarna. Vid oral administration av doser motsvarande 1/10 av LD<sub>50</sub> (0,35 g/kg kroppsvikt) fann man ingen effekt på njurarna (27).

### 5.5. Effekter på magtarmkanalen

Subletala, orala doser av NMP till kanin under 1,5 månad (1/5 av LD<sub>50</sub>; 0,7 g/kg kroppsvikt) orsakade vävnadsskada (dystrofi) i magtarmkanalen. Vid oral administration av doser motsvarande 1/10 av LD<sub>50</sub> (0,35 g/kg kroppsvikt) fann man ingen effekt på magtarmkanalen (27).

### 5.6. Effekter på hjärta och blodkärl

Intravenös injektion av NMP, 500 mg/kg kroppsvikt, i råttor orsakade en sänkning av blodtrycket (hypotension) samt svåra störningar av hjärtrytmen. Efter en intravenös dos av 200 mg/kg kroppsvikt observerades ingen effekt på elektrokardiogrammet eller det artäriella blodtrycket (4).

Subletala, orala doser av NMP till kanin under 1,5 månad (1/5 av LD<sub>50</sub>; 0,7 g/kg kroppsvikt) skadade hjärtvävnaden (dystrofi). Vid oral administration av doser motsvarande 1/10 av LD<sub>50</sub> fann man ingen effekt (27).

### 5.7. Effekter på blod och blodbildande organ

På råttor som exponerats för en luftkoncentration av NMP på 1000 mg/m<sup>3</sup> (se 5.2) fann man efter 10 dagars exponering en minskning av benmärgen (hypoplasi), degenerering (atrofi) av all lymfoid vävnad i mjälten och tymus, ökning av relativa och absoluta antalet neutrofiler samt en sänkning av relativa antalet lymfocyter. Effekten var övergående (inom 2 veckor) hos överlevande djur (28).

Antalet retikulocyter och neutrofiler i blodet ökade hos råttor vid oral administration av 2,5 mg/kg kroppsvikt i 6 månader. Ökningen kunde inte observeras vid dosnivåerna 0,025 eller 0,25 mg/kg kroppsvikt. Ingen effekt kunde observeras när samma dosnivåer administrerades till kanin (32).

I två-års studien (se 5.2) fann man hos hanrättor, som exponerats för 400 mg/m<sup>3</sup> i 18 månader, högre hematokrit än hos kontrolldjuren. Skillnaden kunde inte observeras efter 24 månader (28). Mjältens vikt ökade hos möss som exponerats via lungorna i för 210 mg/m<sup>3</sup> 1 månad (2 tim/dag och 6 dagar/vecka (39)). Däremot fann man en minskning av mjältens vikt när NMP administrerades under 90 dagar via födan till mus (Charles River CD-1; båda könen; 48, 120 och 300 mg/kg kroppsvikt/dag). Minskningen observerades hos honor vid den högsta dosen och hos hanar vid de två högsta halterna (23).

När NMP administrerades via födan till hund (Beagle; båda könen; 25, 79 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag) under 90 dagar fann man en ökning av antalet trombocyter (medelvärde) som korrelerade till ett ökat antal megakaryocyter i bröstbensmärgen (8).

### 5.8. Effekter på centrala och perifera nervsystemet

Rättor som exponerats via lungorna för NMP (100, 500 och 1000 mg/m<sup>3</sup>) under 6 tim per dag (se 5.2) visade, vid alla exponeringsnivåerna, slöhet (letargi) och

oregelbunden andning. Effekterna kunde observeras 3-4 tim efter påbörjad exponering. Vid 100 och 500 mg/m<sup>3</sup> avklingade störningarna inom 18 tim och inga andra kliniska symptom eller sjukliga förändringar registrerades. Vid 1000 mg/m<sup>3</sup> fanns störningarna fortfarande kvar efter 18 tim. Det är emellertid anmärkningsvärt att inte samma exponeringsprofil (400 mg/m<sup>3</sup>, 6 tim/dag) under 2 år orsakade slöhet och oregelbunden andning (28). Dosrelaterad slöhet och oregelbunden andning observerades hos möss (NMRI stam) som oralt administrerades NMP (0, 950, 1900 eller 3800 mg/kg kroppsvikt (14)).

NMPs effekt på centrala nervsystemet studerades hos råttor (Mol: WIST) vid exponering för 620 mg/m<sup>3</sup> under 90 dagar (6 tim/dag och 7 dagar/vecka). Undersökningar av framprovocerade potentialer (evoked potentials) i hjärnan vid avslutad exponering visade inga neurotoxiska effekter i centrala nervsystemet (20).

NMP, in vitro, verkade svagt inhiberande på acetylkolinesterasaktiviteten (AChE). Den koncentration som ger 50% inhibition (IC<sub>50</sub>) av 0,5 mM AChE var 12,1 nM NMP(24).

### 5.9. Övriga organeffekter

Exponering för 400 mg NMP/m<sup>3</sup> under 2 år (se 5.2) minskade, jämfört med kontrollrättor, medelvikten hos hanrättor (28). Minskad kroppsvikt kunde också registreras hos möss, som under 90 dagar inhalerat 210 mg NMP/m<sup>3</sup> (2 tim/dag och 6 dagar/vecka (39)).

Hos beagle hundar, som via dieten exponerats av NMP (25, 79 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag) under 90 dagar, fann man en minskad viktökning. Minskningen var dos-relaterad (8).

Administration av NMP via födan till rättor (Wistar-stam; båda könen; 40, 100 och 250 mg/kg kroppsvikt/dag) under 90 dagar orsakade, hos honrättorna, en ökad sköldkörtelvikt vid den högsta NMP-dosen (23).

## 6. Immunotoxicitet och allergi

Inga uppgifter finns redovisade.

## 7. Mutagenicitet och genotoxicitet

NMPs mutagena förmåga har undersökts med Salmonella/mikrosomtestet (8 olika Salmonella stammar, med och utan aktivering med Aroclor-inducerad rättlever S9-mix) vid sex log-lineära doser från 0,01 till 1000 µmol/plata (43). Antalet revertanter hos "basparsubstitutions" stammarna TA102 utan S9 (vid alla NMP doserna) och TA104 utan S9 (vid 0,01, 1 och 10 µmol/plata) var significant högre än hos kontrollerna. Ökningen av antalet revertanter var inte dos-relaterad och

ökningen var mindre än två gånger antalet hos bakgrunden. NMP var cytotoxisk i förinkuberingstester vid den högsta dosnivån.

Tillsammans med en blandning av etylacetat och propionitril inducerade NMP kraftig kromosomförlust vid celledelning hos jästen *Saccharomyces cerevisiae* D61.M stam (45). Endast vid köld-chock (31), men ej vid kontinuerlig inkubation vid 20°C (46), inducerade NMP kromosomförlust.

Oralt administrerade engångsdoser, upp till 3800 mg NMP/kg kroppsvikt, ökade inte antalet erythrocyter med mikrokärnor hos möss. Dosen påverkade ej heller de strukturella eller numeriska kromosomabberationerna i benmärgen från Kinesisk hamster (14).

## 8. Carcinogenicitet

Lee och hans medarbetare (1987) rapporterade i sin två-års inhalationsstudie (Charles River CD råttor; 120 djur av båda könen vid varje exponeringsnivå; 0, 40 och 400 mg/m<sup>3</sup>; 6 tim/dag, 5 dagar/vecka; helkroppsexponering) att man inte fann någon onkogen effekt hos NMP. Man redovisade dock att man funnit en svagt ökad förekomst av tumörer i hypofysen hos båda könen vid den lägre exponeringsnivån, men inte vid den högre. Man fann också, hos honrättorna vid den lägre exponeringsnivån, en minskad förekomst av bröstkörteltumör och ökad förekomst av bröstkörtelförstoring (28). Rapporten innehåller emellertid inga data för bedömning av den carcinogena effekten. Den onkoga effekten hos NMP kan därför inte utvärderas.

## 9. Reproduktionstoxikologi

I två olika studier (20, 22) exponerades dräktiga rättor (Mol:WIST) för 620 mg NMP/m<sup>3</sup> under 6 tim per dag. I den teratogena undersökningen (20) exponerades rättorna från 4:e till 20:e dräktighetsdagen. Man fann en signifikant förhöjd preimplantationsförlust samt lägre fostervikt i den exponerade gruppen än i kontrollgruppen. Man observerade ingen ökning av fosterskador men en försenad skelettbildning (ossifikation) av skallben, halskotor, bröstben samt fot- och fingerben.

I den beteendevetenskapliga undersökningen (22) exponerades de dräktiga rättorna från 7:e till 20:e dräktighetsdagen. Man fann inga kliniska symptom av maternal toxicitet. Viktökning under dräktigheten, dräktighetslängd, antal ungar och könsfördelning i kullen, dödlighet i kullen och antalet implantationer per hona var normal. Däremot fann man påverkan på beteendet hos den exponerade gruppen. Efter avvänjning observerades försämrad förmåga för högre kognitiva funktioner i samband med lösning av komplexa prov. Eftersom testerna utfördes när rättorna nått vuxen ålder, kan effekterna vara bestående.

NMPs effekt på testiklar och sädesvätska studerades efter exponering för NMP med samma exponeringsprofil som föregående studier (Mol: WIST råttor; 620 mg/m<sup>3</sup>; 6 tim/dag, 7 dagar/vecka) under 90 dagar. Testiklar och sädesvätska

undersöktes dels efter avslutad exponering och dels efter ytterligare 90 dagar. Man fann inget histologiskt onormalt vid undersökning av testiklarna och det var ingen skillnad i testikelvikten mellan exponerade och icke-exponerade råttor. Man fann ej heller effekter på form eller koncentration av sädesceller (20).

Dräktiga råttor exponerades under 6 tim per dag för NMP (Charles River CD albino råttor; 100 och 360 mg/m<sup>3</sup>) från 6:e till 15:e dräktighetsdagen. NMP atmosfären bestod av en blandning av ånga och aerosol med okänd fördelning av partikelstorlekarna. Man fann inga effekter av exponeringen på dräktigheten. Fostrens viktökning samt utveckling av skelett och vitala organ var normal. Ej heller fann man några kliniska symptom eller sjukliga funktionsförändringar hos moderdjuren (28).

NMP-doser administrerade via huden (750 mg/kg kroppsvikt/dag) till dräktiga Sprague-Dawley råttor från den 6:e till 15:e dräktighetsdagen orsakade foster-skador. Undersökning av honan på den 20:e dräktighetsdagen visade minskad viktökning under dräktigheten. Man fann ökad fosterresorption, minskad fostervikt samt skelettmisbildningar såsom avsaknad av bröstben, sammanväxta/delade/extra revben, ofullständiga ryggkotor och skallben, sammanväxt atlas med nackben och reducerat eller ofullständigt tungben. Den toxicitet hos moderdjuren som författarna rapporterade kan ifrågasättas. Den ökade fosterresorptionen och även den minskade fostervikten kan vara orsaken till den minskade viktökningen hos moderdjuren. När de dagliga NMP doserna minskades till 37 och 237 mg/kg kroppsvikt observerades inte några effekter på varken honan eller avkomman (7).

I en förstudie till undersökningen ovan (7) exponerades dräktiga råttor via huden under 6:e till 15:e dräktighetsdagen för 1100 eller 500 mg NMP/kg/dag. Vid dosnivån 1100 mg/kg kroppsvikt/dag resorberades 65 av 66 foster vilket orsakade en minskning av moderdjuren viktökning. När dosen halverades till 500 mg/kg kroppsvikt/dag fann man ingen negativ inverkan under dräktigheten på hona eller foster (7).

Intraperitoneala NMP doser (14-166 mg/kg kroppsvikt; engångs- eller upprepede) till två olika musstammar (AB Jena och C57B1) vid olika tidpunkter under dräktigheten ökade preimplantationsförluster och medförde minskad vikt hos fostren. Exponeringen resulterade också i morfologiska förändringar såsom exencefali (grav hjärnskada), "öppna" ögonlock, små ögon, gomspalt, felande tår, kort och/eller krokig svans, sammanväxta och krökta nack- och ryggkotor, sammanväxt bröstben samt revbensfusioner. När NMP administrerades som en engångsdos (166 mg/kg till AB Jena möss) observerade man störst embryotoxisk effekt när dosen administrerades på den 7:e dräktighetsdagen, då 23% av de implanterade fostren dog, samt på den 9:e dräktighetsdagen, då missbildningsgraden blev 19%. När NMP administrerades från 7:e till 11:e dräktighetsdagen var 92 mg/kg kroppsvikt/dag den lägsta dos vid vilken man kunde observera embryotoxiska effekter (Lowest Observed Adverse Effect Level, LOAEL) hos AB Jena möss medan LOAEL för C57B1 möss var 74 mg/kg kroppsvikt/dag. Resultaten är emellertid svåra att utvärdera då effekter på det vuxna djuret inte har redovisats (37).

Dagliga intraperitoneala (1570 mg/kg kroppsvikt/dag) eller orala (2640 mg/kg kroppsvikt/dag) NMP doser till NMRI-möss från den 11:e till 15:e dräktighetsdagen ökade resorptionen och förekomsten av "minstingar" (runts), minskade vikt och längd hos fostren samt resulterade i en ökad förekomst av missbildningar, t.ex. gomspalt. Ingen toxicitet observerades hos honorna. Dagliga intraperitoneala (630 mg/kg kroppsvikt/dag) eller orala (1060 mg/kg kroppsvikt/dag) doser orsakade ingen observerbar embryotoxicitet (15).

Dagliga orala NMP doser (1000 mg/kg kroppsvikt/dag) till Sprague-Dawley råttor från den 6:e till 15:e dräktighetsdagen orsakade 95% fosterdödlighet, missbildningar hos 8 av de 15 överlevande fostren samt minskad viktökning hos den moderrättan. Inga skadliga effekter kunde observeras vid dagliga doser av 330 mg/kg kroppsvikt/dag (15, 16). En liknande undersökning (oral NMP doser; 6:e till 15:e dräktighetsdagen; Sprague-Dawley råttor; 40, 125 eller 400 mg/kg kroppsvikt/dag) visade toxicisk effekt hos honan vid 400 mg/kg kroppsvikt/dag i form av minskad viktökning, samt jämfört med kontrollrättor minskad fostervikt samt ett ökat antal "minstingar" (stunting). Den högsta dos som testades som inte gav observerbar effekt (No Observed Adverse Effect Level, NOAEL) var 125 mg/kg kroppsvikt/dag för toxicitet hos både hona och foster (18).

Vita New Zealand SPF honkaniner (20 kaniner/dosnivå) exponerades oralt för NMP (55, 175 och 540 mg/kg kroppsvikt/dag) under den 6:e till 18:e dräktighetsdagen. Toxiciteten hos moderdjuret, såsom minskad viktökning, observerades vid 175 och 540 mg/kg/day. Reproduktionstoxiska effekter, såsom ökad postimplantationsförlust, förändrad fetal morfologi samt ökad förekomst av såväl kardiovaskulära missbildningar som skallbensskador, observerades vid 540 mg/kg kroppsvikt/dag (23).

I en reproduktionsstudie (23) över flera generationer exponerades råttor (Sprague-Dawley CDBR råttor; 30 hanrättor och 30 honrättor/dosnivå/generation) via födan för 50, 160 och 500 mg NMP/kg/dag. Den första föräldragenerationen (P1) exponerades under minst 10 veckor före befruktningen (befruktningsperioden varade omkring 3 veckor), under dräktigheten, diandet och avvänjningen av första kullen (F1a), samt under minst 2 veckor före den andra befruktningen, under dräktigheten, diandet och avvänjningen av andra kullen (F1b). Från och med den 21:a dagen efter förlossningen exponerades den andra föräldragenerationen (P2=F1b) under minst 10 veckor före befruktningen, under dräktigheten, diandet och avvänjningen av sin första kull (F2a), samt under minst 2 veckor före den andra befruktningen, under dräktigheten, diandet och avvänjningen av sin andra kull (F2b). Exponering för den högsta dosen (500 mg/kg kroppsvikt/dag) var reproduktionstoxisk. Man fann minskad parental kroppsvikt, foderkonsumtion och reproduktion samt minskad överlevnad och tillväxt hos avkomman. Resultaten från dosnivåerna 50 and 160 mg/kg kroppsvikt/dag visade inget entydigt NOAEL (19).

Tabell 2. Exponering för N-metyl-2-pyrrolidon (NMP) och redovisade symptom (6).

Koncentration (mg/m <sup>3</sup> )	Redovisade symptom
200-340	Outhärdlig även vid mycket kortvarig exponering.
62-70	Upplevs omedelbart som obehaglig. Godtagbar endast under kort tid, ca 30 sek. Ögonirritation rapporterad vid denna korttidsexponering.
3-6	Exponeringen igenkänns omedelbart. Obehaglig efter ca 30 min. Ögonirritation. Huvudvärk.
<0,1	Inga symptom.

## 10. Samband mellan exponering, effekt och respons

### 10.1. Effekter av korttidsexponering

Samband mellan korttidsexponering och redovisade symptom vid tillverkning av mikroelektronik redovisas i Tabell 2. Den redovisade exponeringen är tidsvägda medelvärden under hela skiftet och kan således innehålla perioder med "peak" exponeringar (6).

### 10.2. Effekter av långtidsexponering

För människa finns inga uppgifter redovisade. Undersökningar på djur redovisas i Tabell 3. För de höga exponeringarna måste man ta i beaktande att mätnadskoncentrationen för NMP vid 20 °C är ca. 1400 mg/m<sup>3</sup>. De höga exponeringsnivåerna innebär således exponering för NMP i en blandning av ånga och aerosol.

### 10.3. Reproduktionstoxiska effekter

Reproduktionstoxiska effekter (Tabell 4) vid exponering för NMP under dräktigheten har undersökts på kanin (23), råtta (7, 15, 16, 18, 20, 22, 28), och mus (15, 37).

Hos kanin är den lägsta exponeringsnivån, vid oral administration, vid vilken man observerat en skadlig effekt, LOAEL, 175 mg/kg kroppsvikt/dag och den högsta nivån för vilken man inte observerat någon skadlig effekt, NOAEL, är 55 mg/kg kroppsvikt/dag, med avseende på toxiciteten för moderdjuret. Med avseende på toxiciteten för foster är LOAEL 540 mg/kg kroppsvikt/dag och NOAEL 175 mg/kg kroppsvikt/dag.

Tabell 3. Experimentella studier av exponering för N-metyl-2-pyrrolidon.

Koncentration (mg/m <sup>3</sup> )	Tid	Djurslag	Effekter	Ref
5100	6 tim	Råtta	Ingen ökad dödlighet	(23)
1500	6 tim/d, 10 d	Råtta	Ingen ökad dödlighet	(23)
1400	6-8 tim	Flera*	Ingen ökad dödlighet	(23)
1000	6 tim/d, 5 d/v, 10 d	Råtta	8/30 döda. Lungödem, minskning av benmärg, degenerering av lymfoid vävnad i mjälte och tymus. Relativa och absoluta antalet neutrofiler ökade. Relativa antalet lymfocyter minskade. Slöhet och oregelbunden andning.	(28)
500	6 tim/d, 5 d/v, 4 v	Råtta	Slöhet och oregelbunden andning.	(28)
400	6 tim/d, 5 d/v, 2 år	Råtta	Mörkfärgad urin. Hanrättor: ökad hematokrit, alkaliska fosfataser och urinutsöndring samt minskad kroppsvikt.	(28)
180-200	2 tim/d, 6 d/1v, 1 m	Mus	Minskad viktökning, ökad mjältvikt samt lindrig irritation i luftvägarna.	(39)
100-150	4 tim/d, 5 m	Råtta	Lindrig irritation i luftvägarna.	(39)
100	6 tim/d, 5 d/v, 4v	Råtta	Slöhet och oregelbunden andning.	(28)
40	6 tim/d, 5 d/v, 2 år	Råtta	Mörkfärgad urin.	(28)

\*råtta, mus, katt, marsvin och kanin; d=dag, v=vecka och m=månad.

Hos råtta är LOAEL och NOAEL, vid oral administration, 400 respektive 330 mg/kg kroppsvikt/dag hos både hona och foster. När NMP administreras via huden är LOAEL och NOAEL också desamma för moderdjurets och fostrets toxicitet, 750 respektive 237 mg/kg kroppsvikt/dag. Vid exponering via lungorna finns inga data redovisade för LOAEL med avseende på toxicitet hos moderdjuret. Vid exponering under 6 tim per dag för 620 mg/m<sup>3</sup> observerades inga skadliga effekter. Med avseende på fostertoxicitet redovisas 620 och 360 mg/m<sup>3</sup> för LOAEL respektive NOAEL.

De redovisade undersökningarna av reproduktionstoxiciteten på möss är bristfälliga med avseende på data och kan därför inte utvärderas.

**Tabell 4.** Rapporterade undersökningar av NMPs effekter på honor av olika djurslag, samt reproduktionstoxiska effekter.

Adm.väg (Ref.)	Administration		Observerade effekter	
	Behandling	Dräktighets- dag/ar	Moder- djur	Embryo/Foster
<b>KANTIN</b>				
Oral <sup>1</sup>	540 mg/kg/d	6-18	Effekter	Postimplant.förlust. Missbildn.
(23)	175 "	"	Effekter	N.o.
	55 "	"	N.o.	N.o.
<b>RÅTTA</b>				
Inhalation <sup>2</sup>	620 mg/m <sup>3</sup>	4-20 (6tim/d)	N.o.	Preimplant.förlust. Red.k.v. Försenad skelettbildning.
(20)				Effekter på beteendet.
Inhalation <sup>2</sup>	620 mg/m <sup>3</sup>	7-20 (6tim/d)	N.o.	
(22)				
Inhalation <sup>3</sup>	360 mg/m <sup>3</sup>	6-15 (6tim/d)	N.o.	N.o.
(28)	100 "	"	N.o.	N.o.
Oral <sup>4</sup>	1000 mg/kg/d	6-15	Red.k.v.ökning	Ökad fosterdöd (95%). Missbildn
(16)	330 "	"	N.o.	N.o.
Oral <sup>4</sup>	400 mg/kg/d	6-15	Red.k.v.ökning <sup>a</sup>	Red.k.v. Ökat antal minstingar*.
(18)	125 "	"	N.o.	N.o.
	40 "	"	N.o.	N.o.
Dermal <sup>4</sup>	750 mg/kg/d	6-15	Red.k.v.ökning	Ökad resorption. Red.k.v. Missbildn
(7)				
	237 "	"	N.o.	
	75 "	"	N.o.	
<b>MUS</b>				
Oral <sup>5</sup>	2640 mg/kg/d	11-15	N.o.	N.o.
(15)	1060 "	"	N.o.	Ökad resorp. Red.k.v. Missbildn. N.o.
I. p. <sup>5</sup>	1570 mg/kg/d	11-15	N.o.	Ökad resorp. Red.k.v. Missbildn.
(15)	630 "	"	N.o.	N.o.
I. p. <sup>6</sup>	166 mg/kg	3, 7 eller 11	N.r.	Postimplant.förlust
(37)	166 "	9	"	Postimplant.förlust. Missbildn.
	129 "	"	"	
	129 mg/kg/d	7-11	"	Postimplant.förlust.
	92 "	"	"	Postimplant.förlust
	74 "	"	"	Postimplant.förlust
	74 "	1-14	"	Postimplant.förlust
	37 "	"	"	Postimplant.förlust
	14 "	"	7-11	N.o.
I. p. <sup>7</sup>	130 mg/kg/d	7-11	N.r.	Postimplant.förlust. Missbildn.
(37)	74 "	"	"	Ökad fosterdödlighet.
	37 "	"	"	Postimplant.förlust
	74 "	1-14	"	Ökad fosterdödlighet.

N.o.=inga observerade effekter; N.r.=ej redovisat; Red.=minskad; I.p.=intraperitoneal; k.v.= kroppsvikt; <sup>a</sup>)osäker observation; <sup>1</sup>)New Zealand White SPF; <sup>2</sup>)Mol:WIST råtta; <sup>3</sup>)Charles River CD råtta; <sup>4</sup>)Sprague Dawley råtta; <sup>5</sup>)NMRI-mus; <sup>6</sup>)AB Jena mus; <sup>7</sup>)C57B1 mus  
\* "runt" i engelska originalartikeln

## 11. Forskningsbehov

Kunskapen om effekter av NMP-exponering på människa är minimal och dessutom är de få redovisade undersökningarna motsägande. Den yrkesmässiga exponeringen för NMP behöver kartläggas. Experimentella inhalationsstudier på människa behövs för utvärdering av effekt vid korttidsexponering. Metabolismen av NMP hos människa bör kartläggas för riskbedömning vid exponering och för att utarbeta metoder för biologisk monitorering av exponering och/eller risk. Exponering för NMP via huden behöver studeras på människa med avseende på upptag av NMP och av andra toxiska ämnen som förekommer tillsammans med NMP. Det behövs ytterligare reproduktionstoxiska undersökningar på olika djurslag. Det är viktigt att under dräktigheten studera dos-effekt sambandet så att den högsta exponeringsnivån, vid vilken man ej kan observera en skadlig effekt (NOAEL) på centrala nervsystemet hos foster, kan fastställas. Ytterligare undersökningar av exponering för NMP, före och under implantationen, behövs för kartläggning preimplantationsförluster. Den carcinogena effekten av subkronisk och kronisk NMP-exponering samt NMPs immunologiska och allergena effekter bör undersökas ytterligare.

## 12. Diskussion och värdering

NMP, som är ett allmänt förekommande lösningsmedel, används i ett stort antal, vitt skilda, kemiska processer. En ökad användning av NMP är som ersättning för andra föreningar med större toxicitet i arbets- och omgivningsmiljön, t.ex. som ersättning för klorerade kolväten (23).

Exponeringsnivån vid yrkesmässig hantering av NMP har rönt mycket liten uppmärksamhet i litteraturen. Detta kan bero på att exponeringsnivån i industrin är låg jämfört med hygieniska gränsvärden (200-400 mg/m<sup>3</sup>). Därför blir värderingen i stort sett baserad endast på resultat från djurstudier. Effekter av exponering för NMP har tidigare utvärderats av Lundberg 1987 (50), av US Environmental Protection Agency (EPA) 1990 (17) och av Wallén 1991 (40).

Oberoende av administrationsväg, intravenös (42), oral (33), perkutan (33) eller inhalation (35), finner man vid studier av NMP på råttor liknande farmakokinetiska data. NMP tages effektivt upp via luftvägarna, magtarmkanalen samt huden och distribueras snabbt till kroppens olika organ. Upptaget genom huden var större hos honråttor än hos hanråttor (33). NMP passerar placenta och kan anrikas i fostret (35). NMP elimineras till största delen via biotransformation till 5-hydroxy-2-metyl-N-pyrrolidon, som utsöndras med urinen (44). Utsöndringen i urinen av isotopmärkta NMP-doser var efter 24 tim 80% (33,42). Det sker troligen återresorption av NMP i njurarna (33).

Studier av NMPs akuta toxicitet på gnagare antyder att NMP är måttligt toxisk (26). Inga LD<sub>50</sub>-data finns redovisade vid inhalering av NMP. I olika inhalations-



studier har emellertid råttor exponerats för 1500-6000 mg NMP/m<sup>3</sup> under 6 tim utan att ökad dödlighet observerats. Detta indikerar att den akuta toxiciteten vid inhalation är densamma som vid de andra administrationsvägarna.

Resultaten från olika inhalationsundersökningar på råttor är emellertid divergerande. Exponering för 1000 mg/m<sup>3</sup> under 10 dagar ökade kraftigt dödligheten samt orsakade slöhet och oregelbunden andning. I samma testserie orsakade även 100 och 500 mg/m<sup>3</sup> under 4 veckor slöhet och oregelbunden andning, om än i mindre grad. Däremot kunde man inte observera någon av dessa effekter vid 2 års exponering för 400 mg/m<sup>3</sup> (28). Diskrepansen kan bero på brister i de rapporterade studierna. NMP är hygroskopisk och har dessutom låg flyktighet. Olika metoder vid generering av en hög NMP-halt i luften kan därför producera olika fördelning mellan ånga och aerosol. Diskrepansen kan således bero på skillnader i deposition av inhaled NMP, p.g.a. olika ång/aerosol ratio och partikelstorlek.

En summering av data från djurstudier visar att NMP exponering kan orsaka degenerativa förändringar i andningsvägar och i hemopoietisk och lymfoid vävnad. I en del undersökningar har man redovisat att han- och hondjur påverkats olika. De observerade skillnaderna är troligen tillfälliga. Utan att ytterligare undersöka orsaken redovisas i de flesta studier att urinen blir mörkfärgad (gul) vid NMP exponering. De i djurförsök redovisade skadliga effekterna visar att NMP exponering kan innebära hälsorisk hos människa på grund av NMPs subkroniska toxicitet.

Lee et al (28) konkluderar, att man i 2-årsstudien inte fann någon carcinogen effekt hos NMP. Man redovisade ökad förekomst av tumörer i hypofysen, minskad förekomst av bröstkörteltumör och ökad förekomst av bröstkörtelförstoring. Men då inga enskilda data redovisades och inga andra undersökningar är rapporterade, kan inte den onkogen effekten hos NMP utvärderas.

NMP har endast en svag mutagen potential. Man har funnit en svag ökning av antalet revertanter när NMP testades på basparsubstituerade Salmonella-stammar (43) samt induktion av aneuploidi i jästceller, *Saccharomyces cerevisiae* (31).

Det finns brister i de redovisade reproduktionstoxiska undersökningarna. På grund av otillräckligt antal dosnivåer kan inte dos-effekt samband etableras. Inga eller otillräckliga data redovisas för toxiciteten hos moderdjuret, exponeringen har inte fullständigt täckt den viktigaste perioden av fosterutvecklingen och inte i någon undersökning har mer än ett djurslag studerats. Trots dessa begränsningar, visar djurundersökningar av den reproduktionstoxiska effekten, att NMP vid doser som inte ger, eller endast ger svag, toxicitet hos moderdjuret, kan ge upphov till fosterskada.

Studier på djur visade att NMPs hudtoxicitet är svag/moderat (2,11). Man har inte kunnat sensibilisera marsvin för NMP (23). Övergående hudskada, irritation och eksem, har rapporterats dels vid experimentell exponering av frivilliga försökspersoner (23) och dels i yrkesmässig hantering (29). Då NMP har lågt ångtryck och stor förmåga att penetrera huden, kan upptaget via huden bli avsevärt. Dessutom kan NMPs förmåga att öka hudpenetreringen av andra ämnen (33), medföra ökat upptag av andra skadliga ämnen. Därför bör, trots att

experimentella data indikerar att NMP inte har sensibiliserande effekt, NMP exponering på huden betraktas som en potentiell risk i arbetslivet.

NMP anses vara moderat till kraftigt ögonirriterande. En studie på kanin har visat grumling av hornhinnan samt inflammation i ögats bindhinna. Icke-reversibel effekt på ögat har inte observerats (2). I arbetslivet (6) har arbetare erhållit kraftig ögonirritation samt huvudvärk efter 30 min exponering för 3-6 mg NMP/m<sup>3</sup>. Exponering för 280 mg/m<sup>3</sup> kunde inte ens uthärdas under några få sekunder.

Den kritiska effekten av exponering för NMP i arbetslivet är irritation på öga och hud. En annan kritisk effekt för NMP kan vara dess förmåga att öka hudupptaget av andra ämnen. Vid utvärdering av den kritiska effekten för fastställande av hygieniskt gränsvärde, måste det beaktas, att kunskapen om effekter på människa vid exponering för NMP är mycket begränsad.

### 13. Sammanfattning

B. Åkesson. N-Metyl-2-pyrrolidon (NMP). Nordiska expertgruppen för kriteriedokumentation av kemiska hälsorisker. *Arbete och Hälsa* 1994;42:235-259.

Kritisk genomgång och värdering av den litteratur, som funnits relevant för fastställande av ett yrkeshygieniskt gränsvärde för N-metyl-2-pyrrolidon.

Trots att NMP är ett vanligt förekommande lösningsmedel, med allmän och ökande användning, är kunskapen om dess toxicitet liten. Den irritation som på människa observerats på hud och ögon tyder på att NMP är ett irriterande/kraftigt irriterande ämne.

Subkronisk NMP exponering kan orsaka vävnadskada och påverka andning, blodbildning och lymfsystem. Slöhet (letargi) och oregelbunden andning, som observerats både efter inandning och oral administration, kan vara en neurotoxisk effekt. Den mutagena effekten hos NMP är liten. NMP cancerogena effekt kan ej utvärderas då data saknas. Exponeringsdoser, som har ingen eller endast mild toxisk effekt på modern, har i reproduktionsstudier visat utvecklingsskadande toxicitet. När dräktiga gnagare på olika vägar administrerats NMP, har man observerat minskad viktökning hos modern, ökad fosteravstötning, minskad fostervikt, försenad skelettbildning och en ökad grad av missbildningar. NMP exponering före födseln kan orsaka effekter på det neurologiska beteendet.

Den kritiska effekten av yrkesmässig NMP exponering är irritation på hud och ögon. En annan effekt, som kan ha stor betydelse, är NMP förmåga att öka upptaget genom huden av andra ämnen.

*Nyckelord:* N-metyl-2-pyrrolidon, exponering, hud irritation, ögon irritation, metabolism, subkroniska effekter, reproduktionstoxicitet.

En engelsk version finns publicerad; *Arbete och Hälsa* 1994;40:1-23.

## 14. Referenser

1. Andersson B, Andersson K. Determination of heterocyclic tertiary amines in air. *Appl Occup Environ Hyg* 1991;6:40-43.
2. Ansell JM, Fowler JA. The acute oral toxicity and primary ocular and dermal irritation of selected N-alkyl-2-pyrrolidones. *Fd Chem Toxic* 1988;26:475-479.
3. Anundi H, Lind M-L, Friis L, Itkes N, Langworth S, Edling C. High exposures to organic solvents among graffiti removers. *Int Arch Occup Environ Health* 1993;65:247-251.
4. Baggio G, Ferrari F, Ferrari P. Adrenaline release caused by N-methylpyrrolidone injected into the adrenal gland. *Farmacol, Ed. Prat* 1976;31:275-282.
5. Bartsch W, Sponer G, Dietmann K, Fuchs G. Acute toxicity of various solvents in the mouse and rat. *Arzneim.-Forsch (Drug Res)* 1976;26:1581-1583.
6. Beaulieu HJ, Schmerber KR. M-Pyrol (NMP) use in the microelectronics industry. *Appl Occup Environ Hyg* 1991;6:874-880.
7. Becci PJ, Knickerbocker MJ, Reagan EL, Parent RA, Burnette LW. Teratogenicity study of N-methylpyrrolidone after dermal application to Sprague-Dawley rats. *Fundam Appl Toxicol* 1982;2:73-76.
8. Becci PJ, Gephart LA, Koschier FJ, Johnson WD, Burnette LW. Subchronic feeding study in beagle dogs of N-methylpyrrolidone. *J Appl Toxicol* 1983;3:83-86.
9. Blome H, Hennig M. Messung ausgewählter aliphatischer und aromatischer Amine in der Luft von Arbeitsbereichen. *Staub-Reinhalt Luft* 1984;44:27-32.
10. Chow ST, Ng TL. The biodegradation of N-methyl-2-pyrrolidone in water by sewage bacteria. *Water Res* 1983;17:117-118.
11. Clark B, Furlong JW, Ladner A, Slovak AJM. Dermal toxicity of dimethyl acetylenedicarboxylate, N-methylpyrrolidone, triethylene glycol dimethyl ether, dioxane and tetralin in the rat. *IRCS Med Sci* 1984;12:296-297.
12. Dell UD, Fiedler J, Jacobi H, Kamp R. Beitrag zur Bestimmung von 2-Oxo-pyrrolidin-Derivaten aus biologischem Material. *Fresenius Z Anal Chem* 1980;304:407-411.
13. Draize JH, Woodward G, Calvery HO. Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 1944;82:377.
14. Engelhardt G, Fleig H. 1-Methyl-2-pyrrolidinone (NMP) does not induce structural and numerical chromosomal aberrations *in vivo*. *Mutation Res* 1993;298:145-155.
15. Environmental Protection Agency. Letter from Ciba-Geigy Corp to USEPA regarding initial information on studies demonstrating embryoletality in both the mouse and rat with N-methylpyrrolidone. NITS: OTS0513411. (EPA Doc I.D. 88-880000001).
16. Environmental Protection Agency. Evaluation of development toxicity on N-methylpyrrolidone with attachment and cover letter dated 052588. NITS: OTS0513411-1. (EPA Doc I.D. 89-880000180).
17. Environmental Protection Agency. N-Methylpyrrolidone; Proposed test rule. OPTS 42114. *Federal Register* 1990;55:11398-11407.
18. Environmental Protection Agency. Developmental toxicity study in rats with N-methylpyrrolidone. NITS: OTS0539109. (EPA Doc I.D. 88-920001848).
19. Environmental Protection Agency. EPA to study paint stripping chemicals, expedite NMP review. *Pesticide Toxic Chem News* 1992;20(50):22-23.
20. Fries AS, Hass U, Jakobsen BM, Jølnes JE, Lund SP, Simonsen L. *Toxic effects of N-methylpyrrolidone on fetal development, the central nervous system, and semen in rats*. Copenhagen: Arbejds miljøfonden, 1992. (In Danish; summary and conclusion in English). ISBN 87-7359-543-8.
21. Gordon A, Gordon M. Analysis of volatile organic compounds in a textile finishing plant effluent. *Trans Ky Acad Sciences* 1981;42(3-4):149.
22. Hass U. *Neurobehavioural teratology of industrial chemicals. Effects of prenatal exposure to organic solvents on postnatal development and behaviour - validation and use of a screening test battery in laboratory rats*. Copenhagen: National Institute of Occupational Health, 1992. (Ph.D thesis).
23. International Specialty Products (ISP), Chemical Division: M-Pyrol; N-Methyl-2-Pyrrolidone Handbook with Toxicity Overview suppl. New York.
24. Karadsheh N, Kussie P, Linthicum DS. Inhibition of acetylcholinesterase by caffeine, anabasine, methyl pyrrolidine and their derivatives. *Toxicol Lett (Amst)* 1991;55:335-342.
25. Kawaguchi T, Seki T, Juni K. Percutaneous absorption of zidovudine through rat and human skin. *Chemotherapy (Tokyo)* 1990;38:897-901. (In Japanese)
26. Klaassen CD. Principles of toxicology. In: Klaassen CD, Amdur MO, Doull J, eds. *Toxicology*. MacMillan Publ Co, 1986:11-32. ISBN 0-02-36450-0.
27. Kommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe der Deutschen Forschungsgemeinschaft. *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 16 ed. Weinheim: Verlag Chemie, 1990.
28. Lee KP, Chromey NC, Culik R, Barnes JR, Schneider PW. Toxicity of N-methyl-2-pyrrolidone (NMP): Teratogenic, subchronic, and two-year inhalation studies. *Fundam Appl Toxicol* 1987;9:222-235.
29. Leira HL, Tiltues A, Svendsen K, Vetlesen L. Irritant cutaneous reactions to N-methyl-2-pyrrolidone (NMP). *Contact Dermatitis* 1992;27:148-150.
30. Lundberg P. N-methyl-2-pyrrolidone. Scientific basis for Swedish occupational standard. *Arbete och Hälsa* 1987;39:173-177.
31. Mayer VW, Goin CJ, Taylor-Mayer RE. Aneuploidy induction in *Saccharomyces cerevisiae* by two solvent compounds, 1-methyl-2-pyrrolidinone and 2-pyrrolidinone. *Environ Mutagen* 1988;11:31-40.
32. Meleschenko KF. Sanitary hygienic characterizing of methylpyrrolidone as water pollution. *Gig Sanit* 1970;36:84-85. (In Russian)
33. Midgley I, Hood AJ, Chasseaud LF, Brindley CJ, Baughman S, Allan G. Percutaneous absorption of co-administered N-methyl-2-[<sup>14</sup>C]pyrrolidinone and 2-[<sup>14</sup>C]pyrrolidinone(<sup>14</sup>C) in the rat. *Fd Chem Toxic* 1992;30:57-64.
34. Priborsky J, Mühlbachova E. Evaluation of *in vitro* percutaneous absorption across human skin and in animal models. *J Pharm Pharmacol* 1990;42:468-472.
35. Ravn-Jensen A, Edelfors S, Hass U, Lund SP. The kinetic of N-methyl-2-pyrrolidinone in pregnant rats and their foetuses compared with non-pregnant rats. *Toxicol Letters* 1992; suppl. 136 (Abstract).
36. Sasaki H, Kojima M, Mori Y, Nakamura J, Shibasaki J. Enhancing effect of pyrrolidone derivatives on transdermal drug delivery. 1. *Int J Pharmac* 1988;44:15-24.
37. Schmidt R. Tierexperimentelle Untersuchungen zur embryotoxischen und teratogenen Wirkung von N-Methyl-Pyrrolidon (NMP). *Biologische Rundschau* 1976;14:38-41.
38. Southwell D, Barry BW, Evans R, Fildes FJT. The accelerant effect on N-methylpyrrolidone of the model compound mannitol into cadaver human skin, a transient effect. *J Pharm Pharmacol* 1981;33: Suppl. 3P.
39. Stasenkova KP, Kochetkova TA. Toxicological characteristics of methyl- pyrrolidone. *Tekstol Novykh Prom Khim Veshchestv* 1965;7:27-28.

40. Wallén M. *Methylpyrrolidinone*. Stockholm: National Chemicals Inspectorate, 1991. (Scientific Documentation and Research)
41. Weisbrod D, Seyring B. Comparative studies on acute toxicity to warm-blooded animals and fish of technical solvent N-methylpyrrolidin-2-one and N-methyl-ε-caprolactam. *Toxicol Anal Probl Lösungsmittel Expo Forir Minisymposium* 1979:55-59.
42. Wells DA, Digenis GA. Disposition and metabolism of double-labeled [<sup>3</sup>H and <sup>14</sup>C] N-methyl-2-pyrrolidinone in the rat. *Drug Metab Dispos* 1988;16:243-249.
43. Wells DA, Thomas HF, Digenis GA. Mutagenicity and cytotoxicity of N-methyl-2-pyrrolidinone and 4-(methylamino)butanoic acid in the Salmonella/microsome assay. *J Appl Toxicol* 1988;8:135-139.
44. Wells DA, Hawi AA, Digenis GA. Isolation and identification of the major urinary metabolite of NMP in the rat. *Drug Metab Dispos* 1992;20:124-126.
45. Zimmermann FK, Holzwarth ULI, Scheel I, Resnick MA. Aprotic polar solvents that affect porcine brain tubulin aggregation in vitro induce aneuploidy in yeast cells growing at low temperature. *Mutation Res* 1988;201:431-442.
46. Zimmermann FK, Scheel I, Resnick MA. Induction of chromosome loss by mixtures of organic solvents including neurotoxins. *Mutation Res* 1989;224:287-303.
47. Åkesson B, Bengtsson M, Florén I. Visual disturbances after industrial triethylamine exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 1986;57:297-302.

#### Tack.

Genomgång och värdering av NMP data har utförts med hjälp av anslag från Arbetsmiljöfonden och Medicinska fakulteten, Universitetssjukhuset, Lund.

## Appendix

Tillåtna eller rekommenderade högsta halter av N-metyl-2-pyrrolidon (NMP) i luften

Land	ppm	mg/m <sup>3</sup>	Kommentarer	År	Ref.
Danmark	100	400		1988	1
Finland	25	-		1993	2
Island	-	-		1989	3
Nederländerna	100	400		1994	4
Norge	50	200		1989	5
Sverige	50 75	200		1993	6
USA (ACGIH)	-	300	15 min	1994-95	7
(NIOSH)	-			1990-91	8

## Referenser

1. *Gränsvärder för stoffer och materialer*. Köpenhamn: Arbejdstilsynet, 1988 (Anvisning Nr.3.1.0.2).
2. *HTP-värden 1993*. Tammerfors: Arbetsministeriet, 1993 (Säkerhetsmeddelande 25). ISBN 951-47-8343-3.
3. *Mengunarmörk og adgerdir til ad draga úr mengun*. Skrá yfir mengunarmörk. Reykjavik: Vinnuefirlit Ríkisins, 1989.
4. *De Nationale MAC-lijst 1994*. Den Haag: 1994 (Arbeidsinspectie P 145). ISBN 90-399-0600-9.
5. *Administrative normer for forurensinger i arbeidsatmosfaere*. Veiledning til arbeidsmiljøloven. Oslo: Direktoratet for arbeidstilsynet, 1989 (Bestillingsnr. 361).
6. *Hygieniska gränsvärden*. Stockholm: Arbetsarkivstyrelsen, 1993 (AFS 1993:9). ISBN 91-7930-046-4.
7. *Threshold Limit Values and biological exposure indices for 1994-95*. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 1994. ISBN 1-882417-06-2.
8. Rules and Regulations. *Federal Register Vol.54*. Washington: US Government, 1990:2329-2984.

## Sammanfattning

Beije B, Lundberg P (red.). Kriteriedokument från Nordiska Expertgruppen 1994. *Arbete och Hälsa* 1994;42:1-263

Den Nordiska Expertgruppen är en arbetsgrupp med uppgift att producera kriteriedokument om hälsoeffekter av kemiska ämnen i arbetsmiljön. Dokumenten skall användas av tillsynsmyndigheterna i de fem nordiska länderna som ett vetenskapligt underlag vid fastställande av hygieniska gränsvärden.

Volymen omfattar en översättning, till danska, norska eller svenska, av de kriteriedokument som publicerats på engelska under 1994.

**Nyckelord:** 1,3-Butadien, dietylamin, detylentriamin, dimetylamn, etylendiamin, 2-etylhexansyra, hygieniska gränsvärden, industriella enzymer, kobolt, koboltförbindelser, kriteriedokument, N-metyl-2-pyrrolidon (NMP), nordiska expertgruppen.

## Summary

Beije B, Lundberg P (eds). Criteria documents from the Nordic Expert Group 1994. *Arbete och Hälsa* 1994;42:1-263.

The Nordic Expert Group is a standing committee with the task of producing criteria documents on health effects of occupationally used chemicals. The documents are meant to be used by the regulatory authorities in the five Nordic countries as a scientific basis for the setting of national occupational exposure limits.

This volume consists of translations to a Scandinavian language (Danish, Norwegian or Swedish) of the criteria documents which have been published in English during 1994.

**Key words:** 1,3-Butadiene, cobalt, cobalt compounds, criteria document, diethylamine, dethylenetriamine, dimethylamine, ethylenediamine, 2-ethylhexanoic acid, industrial enzymes, N-methyl-2-pyrrolidone (NMP), Nordic Expert Group, Occupational Exposure Limit.

## KRITERIEDOKUMENT FRÅN NORDISKA EXPERTGRUPPEN

Kriteriedokumenterna är skrivna på ett skandinaviskt språk (danska, norska eller svenska) och/eller engelska (markerat med \*). Dokument som markerats med <sup>D</sup> har publicerats i samarbete med den holländska expertgruppen (the Dutch Expert Committee for Occupational Standards, DECOS). Dokument som markerats med <sup>N</sup> har publicerats i samarbete med NIOSH, USA (National Institute of Occupational Safety and Health).

Acetaldehyd	Arbete och Hälsa 1986:25
Aceton	Arbete och Hälsa 1986:39
Acetonitril	Arbete och Hälsa 1989:22, 1989:37*
Alifatiska monoketoner (7/8 kol)	Arbete och Hälsa 1990:2* <sup>D</sup>
Akrolein	Arbete och Hälsa 1991:45
Akrylater	Arbete och Hälsa 1983:21
Akrylonitril	Arbete och Hälsa 1985:4
Allyl alkohol	Arbete och Hälsa 1986:8
Aluminium	Arbete och Hälsa 1992:45, 1993:1*
Ammoniak	Arbete och Hälsa 1986:31
Arsenik, oorganisk	Arbete och Hälsa 1981:22, 1991:9, 1991:50*
Arsine	Arbete och Hälsa 1986:41
Asbest	Arbete och Hälsa 1982:29
Benomyl	Arbete och Hälsa 1984:28
Bensen	Arbete och Hälsa 1981:11
Bly, oorganiskt	Arbete och Hälsa 1979:24, 1992:43, 1993:1*
Borsyra, Borax	Arbete och Hälsa 1980:13
1,3-Butadien	Arbete och Hälsa 1994:36*
1-Butanol	Arbete och Hälsa 1980:20
Cyklohexanon, Cyclopentanon	Arbete och Hälsa 1985:42
n-Decan	Arbete och Hälsa 1987:25, 1987:40*
Diacetonalkohol	Arbete och Hälsa 1989:4, 1989:37*
2-Dietylaminöctanol	Arbete och Hälsa 1994:25* <sup>N</sup>
Dietylamin, Dietylentriamin, Dimetylamn & Etylendiamin	Arbete och Hälsa 1994:23*
Dieselavgaser	Arbete och Hälsa 1993:34, 1993:35*
Diisocyanater	Arbete och Hälsa 1979:34, 1985:19
Dimetylditiokarbamater	Arbete och Hälsa 1990:26, 1991:2*
Dimetyletylamin	Arbete och Hälsa 1991:26, 1991:50*
Dimetylformamid	Arbete och Hälsa 1982:28
Dimetylsulfoxid	Arbete och Hälsa 1991:37, 1991:50*
Dioxan	Arbete och Hälsa 1982:6
Epiklorohydrin	Arbete och Hälsa 1981:10
Etylacetat	Arbete och Hälsa 1990:35* <sup>D</sup>
Etylbensen	Arbete och Hälsa 1986:19
Etylenbisditiokarbamater och Etylendiamin	Arbete och Hälsa 1994:23*
Etylenglykol	Arbete och Hälsa 1980:14
Etylenglykolmonoalkyletrar	Arbete och Hälsa 1985:34
Etylenisiditiokarbamater	Arbete och Hälsa 1993:24, 1993:35*
Etylenoxid	Arbete och Hälsa 1982:7
Etylentiourinämne	Arbete och Hälsa 1993:24, 1993:35*
2-Etylhexansyra	Arbete och Hälsa 1994:31*