



5-Chloro-2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on i 2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on (masa reakcyjna 3: 1)

Dokumentacja proponowanych dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego^{1,2}

5-Chloro-2-methyl-2*H*-isothiazol-3-one and 2-methyl- 2*H*-isothiazol-3-one (reaction mass 3: 1)

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

mgr inż. KATARZYNA KONIECZKO

<https://orcid.org/0000-0001-7878-5248>

e-mail: Katarzyna.Konieczko@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

mgr inż. ANNA BRODA

NDS	0,2 mg/m ³
NDSCh	0,4 mg/m ³
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono

A substancja o działaniu uczulającym

C substancja o działaniu żrącym

Skóra wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 19-21.10.2021 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 2.12.2021 r.

Streszczenie

Masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2*H*-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2*H*-izotiazol-3-onu (3: 1), zwana dalej CIT/MIT, jest jasnożółtym krystalicznym ciałem stałym, bardzo dobrze rozpuszczalnym w wodzie. Jest stosowana jako środek biobójczy w płynach technologicznych oraz jako konserwant w różnorodnych produktach konsumenckich. Skutki przewlekłego narażenia ludzi były badane prawie wyłącznie pod kątem potencjału działania uczulającego na skórę. Skutki przewlekłego narażenia zwierząt wynikały przede wszystkim z działania drażniącego. Skutkiem krytycznym CIT/MIT jest działanie drażniące na błony śluzowe nosa. Podstawą do obliczenia proponowanej wartości NDS były wyniki 13-tygodniowego eksperymentu inhalacyjnego na szczurach, w którym wyznaczono wartość NOAEC na poziomie 0,34 mg/m³. Do obliczenia wartości NDS przyjęto współczynnik niepewności $A = 2$ ze względu na różnice wrażliwości osobniczej u ludzi, pozosta-

¹ Wartość NDS 5-chloro-2-metylo-2*H*-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2*H*-izotiazol-3-onu (masa reakcyjna 3: 1) została w dniu 2.12.2021 r. przyjęta na 100. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona Ministrowi Rozwoju, Pracy i Technologii (wniosek nr 116) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Opracowano i wydano na podstawie wyników V etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr II.PB.03 pt. „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy

le współczynniki przyjęto równe 1. Zaproponowano przyjęcie wartości NDS równej $0,2 \text{ mg/m}^3$. Ze względu na działanie drażniące proponuje się przyjęcie wartości chwilowej NDSC_h wynoszącej $0,4 \text{ mg/m}^3$. Dostępne dane są niewystarczające do ustalenia wartości dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym DSB. Zaproponowano oznakowanie CIT/MIT: A – substancja uczulająca; C – substancja żrąca; Skóra – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne jak przy narażeniu drogą oddechową. Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagadnienia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: izotiazolon, narażenie zawodowe, NDS, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

Reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1) (CIT/MIT) is a light yellow crystalline solid, very soluble in water. It is used as a biocide in process fluids and as a preservative in a variety of consumer products. The effects of chronic human exposure have been investigated almost exclusively for skin sensitization potential. The effects of chronic animals exposure were mainly due to the irritating effect of the substance. The critical effect of CIT/MIT is irritation of the nasal mucosa. The basis for calculating the MAC value were the results of the 13-week inhalation experiment on rats, in which the NOAEC value of 0.34 mg/m^3 was determined. To calculate the MAC value, the uncertainty factor $A = 2$ was adopted due to differences in individual sensitivity in humans. The MAC value of 0.2 mg/m^3 and STEL value of 0.4 mg/m^3 have been proposed. There is no basis for setting BEI value. The following notations have been proposed: A – sensitizing substance; C – corrosive substance and Skin – skin absorption of the substance may be just as important as for inhalation exposure. This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: isothiazolone, occupational exposure, MAC, OEL, health sciences, environmental engineering.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

5-Chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-on i 2-metylo-2H-izotiazol-3-on (masa reakcyjna 3: 1), zwana dalej CIT/MIT, to zgodnie z obowiązującą definicją substancja chemiczna dwuskładnikowa (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006). W tabeli 1 zestawiono dostępne numery identyfikacyjne zarówno CIT/MIT, jak i jego składowych: 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (MIT) oraz jego chlorowanej pochodnej 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (CIT).

W tabeli 2 zamieszczono zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie CIT/MIT oraz MIT zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 z dnia 31.12.2008 r. (Dz. Urz. WE L 353, 1-1355 z późn. zm.), zwanego rozporządzeniem CLP. CIT nie jest substancją stosowaną w postaci czystej, dlatego nie ma ustalonej klasyfikacji zharmonizowanej.

Ze względu na toksyczność ostrą CIT/MIT jest zaklasyfikowany do kategorii zagrożenia 2 (droga inhalacyjna i dermalna) z przypisanymi zwrotami wskazującymi rodzaj zagrożenia H310 „Grozi śmiercią w kontakcie ze skórą” i H330 „Wdychanie grozi śmiercią” oraz do kategorii zagrożenia 3 (droga pokarmowa) z przypisanym zwrotem H301 „Działa toksycznie po połknięciu”. Jest zaklasyfikowany jako substancja działająca żrąco na skórę (Skin Corr. 1C), powodująca poważne uszkodzenia oczu (Eye Dam. 1) oraz silnie uczulająca w kontakcie ze skórą (Skin Sens. 1A). Dodatkowo przypisano zwrot uzupełniający o zagrożeniu EUH071 „Działa żrąco na drogi oddechowe”. Należy podkreślić bardzo restrykcyjne specyficzne stężenia graniczne ustalone dla tej substancji – dla działania uczulającego na skórę specyficzne stężenie graniczne wynosi $0,0015\%$ (15 ppm), jako działające drażniąco na skórę i oczy klasyfikuje się mieszaniny zawierające od $0,06\%$ CIT/MIT, a jako żrące od $0,6\%$.

Pod kątem zagrożeń dla środowiska CIT/MIT jest zaklasyfikowany jako substancja stwarzająca zagrożenie dla środowiska wodnego – działa bardzo toksycznie na organizmy wodne zarówno

w warunkach narażenia ostrego, jak i przewlekłego (kategoria zagrożenia 1). Współczynniki M ustalone dla działania na środowisko wodne wynoszą 100, co świadczy o silnym działaniu toksycznym.

Produkty handlowe są roztworami wodnymi zawierającym ok. 14% CIT/MIT, a jako stabilizatory są stosowane np. azotan(V) magnezu i chlorek

magnezu (razem do ok. 25%). W przemyśle kosmetycznym stosuje się również produkty handlowe o stężeniu 1,5% CIT/MIT. Większość dostępnych badań toksyczności i ekotoksyczności przeprowadzono na tego typu produktach handlowych.

Tabela 1. Ogólna charakterystyka masy reakcyjnej 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3: 1) oraz jej składników (ChemIDplus Advanced 2021; Evaluation of active substances... 2015; GESTIS Substance Database 2021; PubChem 2021)

Table 1. General characteristics of reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3: 1) and its components (ChemIDplus Advanced 2021; Evaluation of active substances ... 2015; GESTIS Substance Database 2021; PubChem 2021)

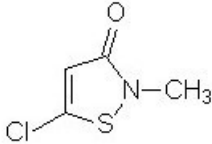
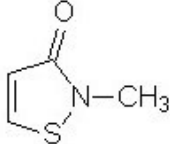
Substancja	CIT/MIT	CIT	MIT
Nazwa chemiczna wg IUPAC lub ECHA	masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3: 1)	5-chloro-2-metylo-2H-izotiazol-3-on	2-metylo-2H-izotiazol-3-on
Synonimy	masa reakcyjna 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3-onu i 2-metylo-4-izotiazolin-3-onu (3: 1), C(M)IT/MIT, CIT/MIT, MCI/MI, CMI/MI	5-chloro-2-metylo-4-izotiazolin-3(2H)-on, CIT, C(M)IT, MCI, CMI	2-metylo-4-izotiazolin-3(2H)-on, MIT, MI
Nazwy handlowe	Kathon™ 886 Biocide; Kathon™ MW, Kathon™ WT, Kathon™ LC, Kathon™ CG; Microcare IT, Microcare ITL; Acticide 14, Acticide LG	–	–
Numer CAS	55965-84-9	26172-55-4	2682-20-4
Numer WE	–	247-500-7	220-239-6
Numer indeksowy	613-167-00-5	–	613-326-00-9
Wzór sumaryczny	–	C ₄ H ₄ ClNOS	C ₄ H ₅ NOS
Wzór strukturalny	–		
Masa cząsteczkowa	–	149,59	115,15

Tabela 2. Klasyfikacja i oznakowanie CIT/MIT oraz MIT wg kryteriów rozporządzenia CLP (tabela 3 załącznika VI do rozporządzenia WE nr 1272/2008 z późn. zm.)
Table 2. CIT/MIT and MIT Classification and labeling according to the criteria of the CLP Regulation (Table 3 of Annex VI to Regulation EC No 1272/2008 as amended)

Numer indeksowy	Nazwa chemiczna (oraz synonimy)	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie			Specyficzne stężenia graniczne, współczynniki „M” oraz ATE ^{a)}	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	dodatkowe kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
613-167-00-5	masa reakcyjna 5-chloro-2-(2-metylo-2H-izotiazol-3-onu i 2-metylo-2H-izotiazol-3-onu (3:1)	–	55965-84-9	Acute Tox. 2 Acute Tox. 2 Acute Tox. 3 Skin Corr. 1C Eye Dam. 1 Skin Sens. 1A Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H330 H310 H301 H314 H318 H317 H400 H410	GHS06 GHS05 GHS09 Dgr	H330 H310 H301 H314 H317 H410	EUH071	B	
613-326-00-9	2-metyloizotiazol-3(2H)-on	220-239-6	2682-20-4	Acute Tox. 2 Acute Tox. 3 Acute Tox. 3 Skin Corr. 1B Eye Dam. 1 Skin Sens. 1A Aquatic Acute 1 Aquatic Chronic 1	H330 H311 H301 H314 H318 H317 H400 H410	GHS06 GHS05 GHS09 Dgr	H330 H311 H301 H314 H317 H410	EUH071	Skin Corr. 1C; H314: C ≥ 0,6% Skin Irrit. 2; H315: 0,06% ≤ C < 0,6% Eye Dam. 1; H318: C ≥ 0,6% Eye Irrit. 2; H319: 0,06% ≤ C < 0,6% Skin Sens. 1A; H317: C ≥ 0,0015% M = 100 M = 100 Skin Sens. 1A; H317: C ≥ 0,0015% M = 10 M = 1	

Piktogramy stosowane na oznakowaniu:
GHS06 GHS05 GHS09



Objaśnienia do tabeli 2:

^{a)} ATE – wartości oszacowanej toksyczności ostrej.

Klasy zagrożenia:

Acute Tox. – Toksyczność ostra.
Skin Corr. – Działanie żrące/drażniące na skórę (dot. działania żrącego – kategoria zagrożenia 1).
Skin Irrit. – Działanie żrące/drażniące na skórę (dot. działania drażniącego – kategoria zagrożenia 2).
Eye Dam. – Poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy (dot. poważnego uszkodzenia oczu – kategoria zagrożenia 1).
Eye Irrit. – Poważne uszkodzenie oczu/działanie drażniące na oczy (dot. działania drażniącego – kategoria zagrożenia 2).
Skin Sens. – Działanie uczulające na drogi oddechowe lub skórę (dot. działania na skórę).
Aquatic Acute – Stwarzająca zagrożenie dla środowiska wodnego – kategoria ostra.
Aquatic Chronic – Stwarzająca zagrożenie dla środowiska wodnego – kategoria przewlekła.

Zwroty wskazujące rodzaj zagrożenia:

H301 – Działa toksycznie po połknięciu.
H310 – Grozi śmiercią w kontakcie ze skórą.
H311 – Działa toksycznie w kontakcie ze skórą.
H314 – Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.
H315 – Działa drażniąco na skórę.
H317 – Może powodować reakcję alergiczną skóry.
H318 – Powoduje poważne uszkodzenie oczu.
H319 – Działa drażniąco na oczy.
H330 – Wdychanie grozi śmiercią.
H400 – Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne.
H410 – Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Informację uzupełniające o zagrożeniach:

EUH071 – Działa żrąco na drogi oddechowe.

Hasło ostrzegawcze:

Dgr – Niebezpieczeństwo.

Uwagi:

B – Niektóre substancje (kwas, zasady itp.) są wprowadzane do obrotu w postaci wodnych roztworów o różnych stężeniach i dlatego roztwory te wymagają różnej klasyfikacji i oznakowania, ponieważ zagrożenia zmieniają się przy różnych stężeniach. W części 3 pozycje z uwagą B mają ogólne oznaczenie następującego rodzaju: „kwas azotowy ... %”. W tym przypadku dostawca musi podać na etykiecie stężenie procentowe roztworu. Jeśli nie wskazano inaczej, przyjmuje się, że stężenie procentowe zostało obliczone w oparciu o stosunek wagowy.

Właściwości fizykochemiczne

CIT/MIT jest jasnożółtym, krystalicznym, bardzo dobrze rozpuszczalnym w wodzie ciałem stałym o ostrym, słodkawym zapachu. Nie jest substancją łatwopalną, utleniającą ani wybuchową. Roztwory handlowe o stężeniu 14% są przezroczystymi, bezbarwnymi lub jasnożółtymi cieczami o słabo wyczuwalnym zapachu. Mają odczyn kwaśny (w zależności od dodatków stabilizujących pH postaci handlowej o stężeniu 1% wynosi $2,5 \div 3,43$).

Właściwości fizykochemiczne CIT/MIT (CLH Report 2015; SCCS 2009):

- temp. topnienia 35,1 °C
- temp. rozkładu rozkład od 97,3 °C
- gęstość względna 1,396 (stopiony, w temp. 38 °C)
1,420 (w postaci stałej w temp. 25 °C)
- prężność par 2,2 Pa w temp. 20 °C
3,8 Pa w temp. 25 °C
- rozpuszczalność w wodzie >3000 g/dm³
(CIT 1000 g/dm³;
MIT 4000 g/dm³)
- temp. zapłonu (zamknięty tygiel) >110 °C
(w postaci stopionej)
- temp. samozapłonu 395 °C
- współczynnik podziału oktanol-woda (log Pow) brak danych (CIT 0,401; MIT -0,486)

Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Otrzymywanie

CIT/MIT jest otrzymywany jako mieszanina obu izotiazolonów w przybliżonym stosunku 3: 1 w reakcji ditio-*N,N'*-dimetylodipropanamidu z nadmiarem chlorku siarczynu w 1,2-dichloroetanie (MAK Value Documentation 1993).

Zastosowanie

CIT/MIT jest stosowany jako środek biobójczy od lat 70. XX w. W mechanizmie działania biobójczego na mikroorganizmy kluczową rolę odgrywa aktywne wiązanie N-S izotiazolonów, które bierze udział w reakcjach z grupami amidowymi, aminowymi i tiolowymi białek mikroorganizmów.

W przemyśle CIT/MIT jest stosowany w celu kontroli rozwoju bakterii, glonów i grzybów w płynach technologicznych, głównie wodnych, m.in. w wodzie stosowanej w instalacjach chłodzących, w płynach stosowanych przy obróbce metali i drewna, ale również w woskach i w emulsjach lateksowych. W tego typu zastosowaniach stężenia CIT/MIT wynoszą zwykle do 0,003% (30 ppm), (CLH Report 2015; GESTIS Substance Database 2021).

Z punktu widzenia możliwości stosowania CIT/MIT w produktach konsumenckich istotne jest to, że wykazuje on działanie biobójcze w stężeniach mniejszych od 0,0015%, czyli poniżej stężenia granicznego, od którego wymagana jest klasyfikacja mieszanin jako uczulających. Dlatego jest powszechnie stosowany do konserwacji różnego rodzaju produktów przeznaczonych dla konsumentów, takich jak np. produkty chemii gospodarczej, farby do malowania ścian lub elementów wyposażenia, kleje, kosmetyki. Należy podkreślić, że w przypadku kosmetyków zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 CIT/MIT może być stosowany wyłącznie w stężeniu poniżej 0,0015% i tylko w produktach spłukiwanych (Załącznik V poz. 39), natomiast zgodnie z nowym ograniczeniem wprowadzonym w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1907/2006 po 4 stycznia 2022 r. mieszaniny przeznaczone do tatuowania zawierające powyżej 0,001% (10 ppm) CIT/MIT nie będą mogły być wprowadzane do obrotu ani używane (Załącznik XVII poz. 75).

Narażenie

Substancja została zarejestrowana w Europejskiej Agencji Chemikaliów przez 5 producentów/importerów z UE w zakresie tonażu 10 ÷ 100 ton (numer rejestracyjny 01-2120764691-48), (ECHA 2021).

W dostępnym piśmiennictwie i w bazach danych nie znaleziono informacji o stężeniach CIT/MIT w powietrzu na stanowiskach pracy. Narażenie na aerozole lub pary CIT/MIT może występować podczas produkcji substancji oraz podczas stosowania w płynach do obróbki metali przy czynnościach takich jak wiercenie otworów i cięcie, podczas których istnieje możliwość powstawania aerozoli (GESTIS Substance Database 2021).

Według danych z Centralnego Rejestru Chorób Zawodowych w Polsce w latach 2012-2020 stwierdzono 9 przypadków chorób zawodowych spowodowanych narażeniem na izotiazolony – w tym 8 przypadków chorób skóry i 1 przypadek alergicznego nieżytytu nosa (Centralny Rejestr... 2021).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

Działanie ostre i przedłużone

Nie są dostępne informacje dotyczące ostrej toksyczności CIT/MIT u ludzi.

Działanie żrące i uczulające

Narażenie na roztwory zawierające więcej niż 0,5% CIT/MIT powoduje poważne podrażnienia skóry, uszkodzenia rogówki i błony śluzowej oczu (GESTIS Substance Database 2021). Zgodnie z ustalonymi w rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 specyficznymi stężeniami granicznymi mieszaniny zawierające 0,06% CIT/MIT lub więcej klasyfikuje się jako drażniące, a 0,6% lub więcej jako żrące.

Działanie drażniące CIT/MIT badano okluzyjnym testem płatkowym Laumana-Maibacha na 12 ochotnikach, którym podawano na skórę po 0,3 ml wodnych roztworów CIT/MIT o stężeniach: 0,000625; 0,00125; 0,0025; 0,005; 0,01; 0,02; 0,04 lub 0,08% na 23 h dziennie przez 5 dni. Poważne podrażnienie obserwowano przy 2 największych stężeniach, lekkie podrażnienie przy stężeniu 0,02%, a przy stężeniach 0,01% lub mniejszych nie obserwowano podrażnień. W celu oceny działania uczulającego substancji u tych samych osób użyto do prowokacji roztworu o stężeniu 0,01% – pozytywną reakcję odnotowano u 6 z 12 ochotników (Hill Top Research Inc. 1978).

Dostępnych jest wiele badań działania uczulającego CIT/MIT w kontakcie ze skórą ludzi, w szczególności dużo badań wykonywano w celu oceny bezpieczeństwa różnego rodzaju kosmetyków zawierających CIT/MIT. Badania te były opisywane i podsumowywane w licznych raportach i opracowaniach zbiorczych (6 Final Report... 1992; CLH Report 2015; Evaluation of active substances... 2015; *Fewings, Menné* 1999; RAC 2016; SCCS 2009) – ich wyniki są spójne i potwierdzają potencjał uczulający substancji. Na podstawie wyników tych badań wyznaczono specyficzne stężenie graniczne dla uczulającego na skórę działania CIT/MIT wynoszące 0,0015% (15 ppm) i takie samo stężenie przyjęto jako dopuszczalne w kosmetykach (rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 i nr 1223/2009).

W testach HRIPT (*human repeat insult patch testing*) przeprowadzonych na ochotnikach,

którym roztwór CIT/MIT o stężeniu 0,01% podawano 3 razy w tygodniu przez 3 tygodnie, u 2 na 104 testowane osoby wystąpiły zmiany skórne wskazujące na alergię kontaktową, natomiast przy stężeniu 0,005% nie odnotowano zmian u żadnej z 96 osób (*Maibach* 1985). Nie stwierdzono działania uczulającego u żadnego z 1121 ochotników, którym podawano w analogiczny sposób roztwory CIT/MIT o stężeniu 0,0006 ÷ 0,001%, a następnie podano na skórę ten sam roztwór po 2 tygodniach. Przy stężeniu 0,00125% wystąpienie reakcji alergicznej odnotowano u 1 osoby z 84 (1,2%), a przy stężeniu 0,002% u 2 z 45 osób (4,4%), (*Cardin* i in. 1986).

Działanie przewlekłe

Skutki przewlekłego narażenia ludzi na CIT/MIT były badane prawie wyłącznie pod kątem potencjału działania uczulającego na skórę. Badania te były opisywane i podsumowywane w kolejnych raportach i opracowaniach zbiorczych (6 Final Report... 1992; *Alinaghi* i in. 2019; CLH Report 2015; Evaluation of active substances... 2015, *Fewings, Menné* 1999; *Kim* i in. 2019; RAC 2016; SCCS 2009).

Fewings i *Menné* (1999) wskazali, że grupami zawodowymi, w których najczęściej stwierdzano reakcje alergiczne na CIT/MIT, byli pracownicy zatrudnieni przy obróbce metali, podczas której stosowano oleje chłodzące konserwowane CIT/MIT (testy płatkowe wykazały uczulenie na CIT/MIT u 12/150 pracowników zakładu) oraz pracownicy fabryki produkującej farby akrylowe i kleje, w których CIT/MIT stosowano jako środek konserwujący (testy wykazały uczulenie u 9/51 osób, co stanowiło 17,6%). Przypadki alergicznego kontaktowego zapalenia skóry diagnozowano w krótkim czasie po wprowadzeniu CIT/MIT do procesu technologicznego – w przędzalni lnu oraz w fabryce produkującej nylon po 2 miesiącach alergiczne kontaktowe zapalenie skóry z potwierdzeniem testami płatkowymi zdiagnozowano u 15 ÷ 20% pracowników (nie jest znane stężenie CIT/MIT stosowanego w tych procesach).

Mose i in. (2012) przeanalizowali wyniki testów płatkowych 219 malarzy zarejestrowanych przez Danish Contact Dermatitis Group w latach 2001-2010 i stwierdzili, że 3 izotiazolinony, w tym

CIT/MIT, były w tej grupie zawodowej najczęstszą przyczyną alergicznych zmian na skórze.

Przeanalizowano dane dotyczące 6722 pacjentów z kontaktowym zapaleniem skóry leczonych w 3 duńskich szpitalach w latach 2009-2012, u których wykonano testy płatkowe z CIT/MIT. Dodatni wynik testu otrzymano u 213 osób (3,2%). W poszczególnych latach odsetek dodatnich testów mieścił się w zakresie $2,2 \div 3,7\%$ i nie wykazywał istotnego trendu wzrostowego. Największy odsetek osób, u których stwierdzono uczulenie na CIT/MIT, był zatrudniony na stanowiskach robotniczych i wśród kosmetyczek. W grupie pracowników zatrudnionych przy obróbce metali (kowalstwo) stwierdzono 5 przypadków uczulenia na CIT/MIT na 44 osoby (11,4%; OR = 4,15; 95% CI: 1,52-2,10), w grupie malarzy 7/63 osoby (11,1%; OR = 3,54; 95% CI: 1,48-8,46), wśród operatorów maszyn 8/83 osoby (9,6%; OR = 3,09; 95% CI: 1,39-6,91); największy odsetek odnotowano wśród kosmetyczek (3/19, tj. 15,8%; OR = 5,85; 95% CI: 1,52-11,30), (Schwensen i in. 2014).

Alinaghi i in. (2019) badali rozpowszechnienie czynników uczulających w populacji generalnej na podstawie analizy wyników 28 badań z lat 1966-2017, w których łącznie wykonano ponad 20 tys. testów płatkowych u osób z populacji generalnej. W 6 z tych badań w testach uwzględniono CIT/MIT, a częstość występowania alergii kontaktowych na ten alergen wyniosła 1,5% (95% CI: 0,8-2,5%).

W ostatnich latach ukazały się doniesienia wskazujące na CIT/MIT jako jeden z możliwych czynników powodujących uszkodzenia dróg oddechowych u dzieci w wyniku niezgodnego z zalecanym stosowania środków dezynfekujących w nawilżaczach powietrza (Cheon i in. 2008; Lee i in. 2013; Yang i in. 2013). Najczęściej składnikiem aktywnym tych środków były pochodne guanidyny, ale udało się wyodrębnić przypadki, gdy używano wyłącznie środków zawierających CIT/MIT.

Lee i in. (2019) opisali przypadek zespołu ostrej niewydolności oddechowej u 26-miesięcznego dziecka, w którego pokoju przez 12 miesięcy (od 11. do 25. miesiąca życia dziecka, z przerwą w miesiącach letnich) używano nawilżacza powietrza ze środkiem biobójczym zawierającym CIT/MIT.

Podczas snu nawilżacz znajdował się w odległości 50 cm od twarzy dziecka, a strumień aerozolu był skierowany na jego twarz – oszacowano, że stężenie CIT/MIT w strefie oddychania wynosiło $1,65 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Posiewy bakteryjne były ujemne, badania wykluczyły wirusy jako przyczynę choroby. Pomimo stosowania wentylacji mechanicznej oraz intensywnego leczenia antybiotykami, sterydami i immunoglobulinami dziecko zmarło po 3 miesiącach. Zarówno obraz kliniczny, jak i zmiany histopatologiczne w oskrzelikach były spójne z tymi opisywanymi wcześniej podczas zatruc spowodowanych środkami dezynfekcyjnymi na bazie innych składników aktywnych stosowanych w nawilżaczach powietrza.

Cho i in. (2017) badali zależność pomiędzy poziomem narażenia na CIT/MIT pochodzący ze środków dezynfekujących stosowanych w nawilżaczach a występowaniem uszkodzeń układu oddechowego u dzieci. Do badania wytypowano 24 dzieci spośród 360, które brały udział w koreańskim rządowym programie badawczym – kryterium wyboru było stosowanie w nawilżaczach środków dezynfekcyjnych zawierających wyłącznie CIT/MIT bez innych substancji biobójczych. Zgodnie z kryteriami klasyfikacji opracowanymi w celu rozpoznawania uszkodzeń płuc jako skutków stosowania środków dezynfekujących w nawilżaczach powietrza (*Humidifier Disinfectant Lung Injury*, HDLI), (Choi i in. 2016) dzieci zostały podzielone na 4 grupy: definitywnie rozpoznane przypadki HDLI (2 dzieci), prawdopodobne (2), możliwe (8) i mało prawdopodobne (12). W przypadku dzieci z definitywnie rozpoznanym lub prawdopodobnym HDLI oszacowane stężenia CIT/MIT były istotnie większe podczas snu ($32,4 \pm 8,7 \mu\text{g}/\text{m}^3$) i znaczenie miał także młodszy wiek rozpoczęcia narażenia ($3,5 \pm 3,3$ miesiąca) w porównaniu z mało prawdopodobnymi przypadkami HDLI ($17,3 \pm 11,0 \mu\text{g}/\text{m}^3$, $p = 0,026$ oraz $22,5 \pm 26,2$ miesiąca, $p = 0,039$). W badaniu metodą oscylometrii impulsowej (IOS) stwierdzono istotną zależność pomiędzy pogorszeniem funkcji płuc a oszacowanym narażeniem podczas snu (obniżenie reaktancji oddechowej przy częstotliwości 5 Hz $p = 0,001$; powiększenie obszaru reaktancji $p = 0,039$).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i przedłużona

Wartości median dawek i stężeń śmiertelnych CIT/MIT w zależności od drogi podania i stężenia zastosowanej w eksperymencie postaci handlowej CIT/MIT zestawiono w tabeli 3. Wszystkie podane wartości DL_{50}/CL_{50} zostały przeliczone i dotyczą CIT/MIT, a nie roztworu handlowego. Uzyskane w różnych badaniach wartości są zbliżone bez względu na stężenie CIT/MIT w badanej postaci handlowej. Wyniki potwierdzają klasyfikację CIT/MIT w klasie zagrożeń toksyczność ostra do kategorii zagrożenia 3 drogą pokarmową (kryterium: $50 \div 300$ mg/kg mc.) oraz kategorii zagrożenia 2 drogą inhalacyjną (kryterium dla aerozoli: $0,05 \div 0,5$ mg/dm³/4 h) i dermalną (kryterium: $50 \div 200$ mg/kg mc.).

Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt po podaniu CIT/MIT *per os* w postaci 14-procentowego roztworu (postać handlowa) obejmowały: senność, biegunkę, opadanie powiek i łzawienie oczu, nadmierne wydzielanie śliny, zmierzwienie sierści, wydzielinę z nosa i zaburzenia koordynacji ruchów. Badania sekcyjne wykazały uszkodzenia błony śluzowej żołądka oraz umiarkowane do silnego zaczerwienienie błon śluzowych jelita cienkiego (Craig 1993b; ECHA 2021; Mercier 1994a; Rohm and Haas 1977a). Po narażeniu inhalacyjnym zwierząt na aerozol CIT/MIT obserwowano: duszność, nadmierne wydzielanie śliny, wydzielinę z nosa, drżenie, drgawki, zmniejszenie aktywności. W badaniu sekcyjnym obserwowano przekrwienie i rozedmę płuc oraz krwotoki w płucach, co autorzy badań uznali za skutek silnego działania drażniącego CIT/MIT (ECHA 2021; International Research... 1978; 1981; Wanner, Hagan 1991). Wartość RD_{50} (stężenia powodującego zmniejszenie częstości oddychania o 50%) wyznaczona w eksperymencie na szczurach narażanych na aerozol roztworu CIT/MIT wynosi 9,4 mg/m³ (Rohm and Haas 1993). Po podaniu dermalnym odnotowano następujące objawy kliniczne: senność, zaburzenia koordynacji ruchów, rozszerzenie źrenic, hipotermię, zmniejszenie częstości oddychania i pogorszenie apetytu. W miejscu podania obserwowano silny rumień i obrzęk. W badaniu sekcyjnym stwierdzano jedynie uszkodzenie tkanki podskórnej w miejscu podania (Craig 1993a; ECHA 2021; Mercier 1994b).

Do i in. (2021) badali wpływ CIT/MIT na naczyń krwionośne samców szczurów Sprague-Dawley (wyizolowaną aortę piersiową) oraz na hodowle komórek mięśni gładkich naczyń (VSMCs – *vascular smooth muscle cells*) wyizolowanych z aorty piersiowej szczurów. Celem badań była ocena potencjalnej toksyczności sercowo-naczyniowej CIT/MIT. W badaniach miograficznych nie obserwowano wpływu CIT/MIT w stężeniach do 2,5 µg/ml (0,00025%) na podstawowe napięcie aorty piersiowej szczura. Jednak wstępne potraktowanie aorty CIT/MIT w zakresie stężeń 0,5 ÷ 2,5 µg/ml (0,00005 ÷ 0,00025%) osłabiało skurcz naczyń wywoływany fenylefryną lub 5-hydroksytryptaminą, skutek ten był w dużej mierze nieodwracalny. Badanie histopatologiczne aorty potwierdziło uszkodzenia tkanki. W komórkach mięśni gładkich naczyń (VSMCs) CIT/MIT powodował ubytek tiolu, co skutkowało podwyższeniem poziomu Zn^{2+} w cytozoluach i tworzeniem reaktywnych form tlenu (ROS – *reactive oxygen species*). Autorzy podsumowali, że CIT/MIT powoduje upośledzenie czynnościowe i uszkodzenie tkanek naczyń krwionośnych, a narażenie na CIT/MIT zawarty w produktach konsumpcyjnych może być czynnikiem ryzyka zaburzeń sercowo-naczyniowych.

Działanie żrące/drażniące

CIT/MIT jest substancją żrącą – działanie żrące na skórę i błony śluzowe królika wykazywały produkty handlowe zawierające zarówno 14,2%, jak i 1,5% CIT/MIT (Mercier 1994c; Rohm and Haas 1999b; 1999c). Królikom New Zealand White (po 3 zwierzęta w grupie) podawano na skórę wodny roztwór CIT/MIT o stężeniach: 0,25; 0,5; 0,75 lub 1% przez 4 h. Zaczerwienienie i obrzęk skóry oceniano w 4-punktowej skali – wartości punktowe (obliczone jako średnia z ocen po 24, 48 i 72 h) wynosiły w kolejnych grupach: 2,1; 2,5; 3,1 i 3,2 w przypadku zaczerwienienia skóry oraz 2,5; 3,3; 3,1 i 3,7 w przypadku obrzęku. CIT/MIT o stężeniu 0,25% działał drażniąco na skórę w umiarkowanym stopniu, o stężeniu 0,5% silnie drażniąco, a o stężeniach 0,75 i 1% żrąco. U zwierząt narażanych na 2 najmniejsze stężenia objawy były odwracalne odpowiednio po 7 ÷ 14 i 14 ÷ 21 dniach obserwacji (Morrisson 1985).

Tabela 3. Wartości median dawek i stężeń śmiertelnych CIT/MIT**Table 3.** Median doses and lethal concentrations of CIT/MIT

Droga podania / narażenia	Stężenie CIT/MIT w postaci handlowej	Gatunek, płeć zwierząt	Wartość DL ₅₀ /CL ₅₀	Piśmiennictwo
Pokarmowa	1,5%	szczury samce samice	>75 mg/kg mc. 49,6 mg/kg mc.	Rohm and Haas 1991
	1,5%	szczury (samice)	zakres 7,5 ÷ 75 mg/kg mc.	Rohm and Haas 1999a
	14%	szczury (płeć – brak danych)	60 mg/kg mc.	Rohm and Haas 1977a
	13,3 i 14%	szczury Charles River (samce)	64 mg/kg mc.	Craig 1993b
	14%	szczury Sprague-Dawley (samce i samice)	66 mg/kg mc.	Mercier 1994a
	14%	szczury samce samice	69 mg/kg mc. 59 mg/kg mc.	PFG Biopharm 1998
Inhalacyjna (4-godzinne narażenie na aerozol)	14%	szczury Sprague-Dawley (samce i samice)	0,171 mg/dm ³ /4 h	Jackson 1997
	14%	szczury (płeć – brak danych)	0,2 ÷ 0,3 mg/dm ³ /4 h	International Research and Development Corp. 1978
	13,9%	szczury CrI;CD@BR (samce i samice)	0,33 mg/dm ³ /4 h	Wanner, Hagan 1991
Dermalna	1,5%	króliki (samice)	>75 mg/kg mc.	Rohm and Haas 1999a
	14%	króliki (płeć – brak danych)	80 mg/kg mc.	Rohm and Haas 1976
	14%	króliki Albino (samce)	87,12 mg/kg mc.	Craig 1993a
	14%	szczury Sprague-Dawley (samce i samice)	141 mg/kg mc.	Mercier 1994b

Roztwór CIT/MIT o stężeniu 0,01% nie działał drażniąco na błony śluzowe oczu królika (Rohm and Haas 1975a).

Wyniki badań znalazły odzwierciedlenie w ustalonych w klasyfikacji zharmonizowanej specyficznych stężeniach granicznych (SCL). Dla działania żrącego na skórę i poważnych uszkodzeń oczu SCL ustalono na poziomie 0,6%, a dla działania drażniącego na skórę i na oczy na poziomie 0,06%, a więc SCL są znacznie mniejsze niż ogólne stężenia graniczne (GCL) dla substancji żrących, które wynoszą odpowiednio: 5% dla działania żrącego na skórę, 3% dla poważnych uszkodzeń oczu oraz 1% dla działania drażniącego (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008).

Działanie uczulające

Działanie uczulające CIT/MIT potwierdzono zarówno w testach na świnkach morskich (test płatkowy, test maksymalizacji Magnussona-Klingmana, test okluzyjny Buehlera), (Chan i

in. 1982; Stahl 2000; Wiemann, Hellwig 2001), jak i w testach LLNA (*Local Lymph Node Assay* – test lokalnych węzłów chłonnych) na myszach (*House* 2000a; 2000b). W badaniach LLNA na samicach myszy CBA/J wartość SI (*Stimulation Index*) powyżej 3 uzyskano dla stężeń 0,003% (*House* 2000a) oraz 0,007% (*House* 2000b) – należy podkreślić, że w obu przypadkach były to bardzo małe stężenia, zgodnie z kryteriami klasyfikacji CLP substancje, dla których wartość EC₃ ≤ 2%, klasyfikuje się jako substancje działające uczulająco na skórę kategorii zagrożenia 1A. Wartość stężenia granicznego CIT/MIT do klasyfikacji mieszanin pod kątem działania uczulającego ustalono na poziomie 0,0015%.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej CIT/MIT u zwierząt doświadczalnych zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej CIT/MIT u zwierząt doświadczalnych
Table 4. Results of sub-chronic and chronic toxicity studies with CIT/MIT in experimental animals

Gatunek, szcep, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
<p>Szczury Charles River CRL:CD(SD)BR samce: 16 w grupie samice: 16 w grupie kontrola samce: 16 w grupie samice: 16 w grupie</p>	<p>stężenia CIT/MIT w powietrzu: 0,34; 1,15 lub 2,64 mg/m³ czas narażenia: 6 h /dzień, 5 dni/tydz. przez 13 tyg.</p>	<p>NARAŻENIE INHALACYJNE</p> <p>nie obserwowano skutków narażenia (NOAEC)</p> <p>1,15 mg/m³ podrażnienie nosa i niewielkie zwiększenie liczby przypadków nieżyty błony śluzowej nosa</p> <p>2,64 mg/m³ istotne zmniejszenie masy ciała, mniejsze przyrosty masy ciała, zmniejszenie spożycia pokarmu (brak danych o poziomie istotności); objawy kliniczne: wyciek z nosa, spowolnienie oddechu, duszność, mrużenie oczu; zmiany histopatologiczne o słabym lub umiarkowanym nasileniu w błonie śluzowej małżowin nosowych (krople eozynoflowe), rozrost nabłonka płaskiego małżowin nosowych; nieżyt nosa w wyższym przedniej części jamy nosowej; zapalenie zatok przynosowych o różnym nasileniu; zmniejszone stężenia białka w surowicy u samic (brak danych o istotności); zmniejszenie masy śledziony u samców (brak danych o istotności)</p>	<p>Rohm and Haas 1984a</p>
<p>Szczury COBS CD (SD) BR samce: 15 w grupie samice: 15 w grupie kontrola samce: 25 w grupie samice: 25 w grupie</p>	<p>z wodą do picia w stężeniach: 0,0025; 0,0075; 0,0225%</p> <p>dawki: samce: 2,38; 6,28; 16,3 mg/kg mc./ dzień samice: 4,06; 10,8; 24,7 mg/kg mc./ dzień</p> <p>kontrola (2 grupy): jednej grupie podawano wodę, drugiej wodę z 0,0225% soli magnezu</p> <p>czas narażenia: 90 dni</p>	<p>NARAŻENIE PER OS</p> <p>Wszystkie zwierzęta przeżyły do końca eksperymentu. Istotne zmniejszenie masy ciała obserwowano u samców przy największej dawce w ciągu pierwszych 2 tyg. badania. W pierwszych kilku tygodniach odnotowano istotnie mniejsze spożycie paszy we wszystkich narażanych grupach samców, a u samic przy średniej i dużej dawce. Spożycie wody było istotnie mniejsze we wszystkich grupach badanych zwierząt. Nie podano poziomów istotności tych zmian.</p> <p>W trakcie badania nie obserwowano żadnych klinicznych objawów narażenia ani zmian w morfologii krwi. Po 13 tyg. eksperymentu w grupach zwierząt otrzymujących największe dawki odnotowano następujące zmiany (zmiany stężeń i względnej masy narządów były statystycznie istotne, ale nie podano poziomów istotności): samce (16,3 mg/kg mc./dzień): zmniejszenie stężenia białka ogółem we krwi; zmniejszenie stężenia globuliny i zwiększenie stosunku albumin do globulin (A/G) – należy podkreślić, że skutek ten był widoczny także u samców z grupy kontrolnej, której podawano sole magnezu; zmniejszenie względnej masy wątroby; miejscowe podrażnienie gruczołowej błony śluzowej żołądka u 7/15 samców; samice (24,7 mg/kg mc./dzień): niewielkie (40%) zwiększenie aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AST); zwiększenie względnej masy nerek; miejscowe podrażnienie gruczołowej błony śluzowej żołądka u 5/15 samic.</p> <p>W żadnej z badanych grup nie zaobserwowano zmian histopatologicznych w innych narządach i tkankach.</p>	<p>Rohm and Haas 1982a</p>

cd. tab. 4 / Table 4 cont.

Gatunek, szczerp, płęć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
<p>Szczury Charles River CRL:CD@BR samce: 80 w grupie samice: 90 w grupie</p> <p>kontrola (2 grupy): samce: 80 w grupie samice: 90 w grupie (jednej z nich podawano czystą wodę, drugiej wodę z solami magnezu – chlorek+azotan(V))</p>	<p>z wodą do picia w stężeniach: 0,003; 0,01 lub 0,03%</p> <p>dawki: samce: 0 (kontrola); 2,0; 6,6 lub 17,2 mg./kg mc./dzień samice: 0 (kontrola); 3,1; 9,8 lub 25,7 mg./kg mc./dzień</p> <p>czas narażenia: 24 mies.</p>	<p>2,0 lub 3,1 mg./kg mc./dzień zmniejszenie zapotrzebowania na wodę do picia o 0 ÷ 22% w stosunku do kontroli</p> <p>6,6 lub 9,8 mg./kg mc./dzień zmniejszenie zapotrzebowania na wodę do picia o 3 ÷ 30% w stosunku do kontroli</p> <p>17,2 lub 25,7 mg./kg mc./dzień zmniejszenie zapotrzebowania na wodę do picia o 15 ÷ 40% w stosunku do kontroli, w związku z tym dawki uznano za maksymalne tolerowane odpowiednio u samców i samic;</p> <p>zmniejszenie masy ciała i przyrostu masy ciała zwierząt (zdaniem autorów skutek ten mógł być wtórny i wynikać ze zmniejszonego spożycia wody)</p> <p>Zapotrzebowanie na wodę w obu grupach kontrolnych było porównywalne.</p>	<p>Rohm and Haas 1994</p>
<p>Psy beagle samce: 4 w grupie samice: 4 w grupie</p> <p>kontrola: samce: 4 w grupie samice: 4 w grupie</p>	<p>z paszą w stężeniach: 0 (kontrola); 84; 280; 840 mg./kg paszy</p> <p>dawki: 2,7; 8,9; 26,9 mg./kg mc./dzień</p> <p>dodatkowo 2 grupom podawano paszę z NMMMA+MA *)</p> <p>1. 150 ppm + 30 ppm 2. 500 ppm +100 ppm</p> <p>dawki: 1. NMAA ok. 5 + MA: ok. 1 mg./kg mc./dzień 2. NMMMA 16 ÷ 17 + MA: 3,2 ÷ 3,4 mg./kg mc./dzień</p> <p>czas narażenia: 3 mies.</p> <p>*) NMMMA – kwas N-metylomalonamidowy, MA – malonamid, NMMMA jest głównym metabolitem CIT/MIT</p>	<p>Wszystkie zwierzęta przeżyły do końca eksperymentu. Nie obserwowano ogólnoustrojowych skutków toksycznych narażenia ani u zwierząt narażanych na CIT/MIT, ani na NMMMA+MA. Nie odnotowano różnic w masie ciała zwierząt, w spożyciu pokarmu ani w ogólnym zachowaniu zwierząt z grup narażanych na CIT/MIT lub NMMMA+MA w stosunku do grupy kontrolnej. Badania krwi i moczu nie wykazały zależności od narażenia zmian parametrów. Nie zaobserwowano zmian masy narządów narażanych zwierząt ani zmian w badaniu mikroskopowym narządów.</p>	<p>Rohm and Haas 1975b</p>

cd. tab. 4 / Table 4 cont.

Gatunek, szczerp, płeć i liczba zwierząt	Warunki narażenia	Skutki narażenia	Piśmiennictwo
Psy beagle <i>samice</i> : 58 w grupie <i>samice</i> : 58 w grupie kontrola: <i>samice</i> : 58 w grupie <i>samice</i> : 58 w grupie	z paszą w stężeniach: 0 (kontrola); 150; 500; 750 mg/kg paszy dawki: 6; 20; 30 mg/kg mc./dzień czas narażenia: 90 dni	Wszystkie zwierzęta przeżyły do końca eksperymentu. W grupie otrzymującej największą dawkę CIT/MIT odnotowano istotne zmniejszenie spożycia pokarmu, co skutkowało zmniejszeniem przyrostów masy ciała. Powodem zmniejszenia spożycia paszy był smak paszy, a nie zmniejszenie apetytu. Nie odnotowano zmian parametrów hematologicznych, zmian w badaniu oftalmoskopowym, zmian masy poszczególnych narządów ani żadnych innych zmian makro- i mikroskopowych w narządach, wskazujących na toksyczność CIT/MIT w warunkach eksperymentu.	Covance Laboratories 1998a
NARAŻENIE DERMALNE			
Szczyry Sprague-Dawley <i>samice</i> : 10 w grupie <i>samice</i> : 10 w grupie	dawki: 0 (kontrola); 0,1; 0,53; 2,66 mg/kg mc./dzień czas narażenia: 91 dni (podanie na nieuszkodzoną skórę w warunkach semi-okluzyjnych przez 6 h)	miejscowe reakcje skórne obejmowały zależny od dawki rumień od niewielkiego do umiarkowanego, złuszczenie naskórka, nieznaczny obrzęk, tworzenie się strupa 0,10 mg/kg mc./dzień samce: nie obserwowano skutków narażenia (NOAEL) samice: reakcje skórne u 2 samic (LOAEL) 0,53 mg/kg mc./dzień reakcje skórne u 3/10 samców i 3/10 samic 2,66 mg/kg mc./dzień reakcje skórne u większości badanych zwierząt	Hazleton Europe 1994a
Myszy Charles River CD-1 <i>samice</i> : 40 w grupie	dawki: 0 (kontrola); 25 µl 0,04-procentowego roztworu (ok. 0,3 mg/kg mc./dzień) czas narażenia: 3 razy/tydz. przez 30 miesięcy (szczegółowo opisano w rozdziale dot. działania rakotwórczego)	w miejscu podawania roztworu CIT/MIT skóra miała brązowe zabarwienie, obserwowano martwicę naskórka, strupy, hiperkeratozę, zapalenie skóry	Rohm and Haas 1983b

Narażenie inhalacyjne

Szczury Charles River CRL:CD(SD)BR (po 16 samców i 16 samic w grupie) narażano inhalacyjnie na aerozol wodnego roztworu CIT/MIT 6 h/dzień, 5 dni/tydz. przez 13 tygodni. Stężenia substancji czynnej wynosiły: 0 (kontrola); 0,34; 1,15 lub 2,64 mg/m³. Doświadczenie przeprowadzono metodą OECD 413 zgodnie z GLP (Good Laboratory Practice). Wszystkie zwierzęta przeżyły eksperyment. U zwierząt narażonych na największe stężenie odnotowano istotne zmniejszenie masy ciała, mniejsze przyrosty masy ciała i zmniejszenie spożycia pokarmu (brak danych o poziomie istotności), ponadto obserwowano wyciek z nosa, spowolnienie oddechu, duszność, mrużenie oczu. Obserwowano zmiany histopatologiczne o słabym lub umiarkowanym nasileniu w błonie śluzowej małżowin nosowych (krople eozynofilowe) oraz niewielkiego stopnia nieżyt nosa w wyściółce przedniej części jamy nosowej. Zmiany te były związane z działaniem drażniącym substancji. Ponadto odnotowano niewielki rozrost nabłonka płaskiego małżowin nosowych oraz zapalenie zatok przynosowych o różnym nasileniu. W grupie zwierząt narażanych na średnie stężenie CIT/MIT (1,15 mg/m³) obserwowano podrażnienie nosa – skutkiem było niewielkie zwiększenie liczby przypadków nieżyty błony śluzowej nosa (tab. 4). Poza skutkami związanymi z drogami oddechowymi nie odnotowano żadnych zmian makroskopowych ani histopatologicznych wskazujących na toksyczność ogólnoustrojową. Nie stwierdzono zależnych od narażenia zmian parametrów w badaniach krwi i moczu ani zmian w badaniu okulistycznym z wyjątkiem zmniejszonych stężeń białka w surowicy u samic narażanych na największe stężenie CIT/MIT (brak danych o statystycznej istotności tych zmian). Samce z tej grupy miały zmniejszoną masę śledziony, ale nie obserwowano zmian histopatologicznych. Biorąc pod uwagę działanie drażniące CIT/MIT na błony śluzowe nosa, wyznaczona w tym badaniu wartość NOAEC wynosi 0,34 mg/m³ (Rohm and Haas 1984a).

Podanie per os

Toksyczność podprzewlekłą i przewlekłą po podaniu CIT/MIT *per os* badano na szczurach po podaniu z wodą do picia (Rohm and Haas 1982a) oraz psach beagle po podaniu z paszą (Covance Laboratories 1998a; Rohm and Haas 1975b). Wyniki zestawiono w tabeli 4, w której zamieszczono

także wyniki uzyskane w badaniu rakotwórczości na szczurach (Rohm and Haas 1994), w którym odnotowano znaczne zmniejszenie spożycia wody u narażanych zwierząt, co było spójne z wynikami badania 90-dniowego.

Po 3 miesiącach podawania psom beagle CIT/MIT w dawkach 2,7 ÷ 30 mg/kg mc./dzień nie odnotowano skutków działania toksycznego (Covance Laboratories Ltd. 1998a; Rohm and Haas 1975b). Skutków działania toksycznego nie obserwowano również u szczurów, którym CIT/MIT podawano w dawkach 2,0 ÷ 17,2 mg/kg mc./dzień (samce) i 3,1 ÷ 25,7 mg/kg mc./dzień przez 24 miesiące (Rohm and Haas 1994).

Podanie na skórę

Szczurom Sprague-Dawley (po 10 samców i 10 samic w grupie) podawano na nieuszkodzoną skórę 0,06 ml wodnych roztworów CIT/MIT o stężeniach: 0,18; 0,89 i 4,44%, co odpowiadało dawkom: 0,104; 0,53 i 2,66 mg/kg mc./dzień, raz dziennie przez 91 dni. Wyniki wskazywały na brak toksyczności ogólnoustrojowej CIT/MIT w warunkach badania. Nie stwierdzono wpływu narażenia na CIT/MIT na masę ciała zwierząt ani na spożycie pokarmu; nie obserwowano klinicznych objawów poza rumieniem w miejscu podania roztworu CIT/MIT. Nie stwierdzono zmian parametrów hematologicznych, biochemicznych, zmian w badaniu moczu, zmian w badaniu okulistycznym; nie obserwowano zmian makroskopowych poza opisanymi poniżej zmianami skórnymi. W badaniu sekcijnym nie obserwowano zmian masy narządów ani żadnych zależnych od narażenia zmian histopatologicznych. Jedynym skutkiem narażenia były miejscowe reakcje skórne – zależny od dawki rumień (nasilenie od niewielkiego do umiarkowanego), złuszczenie naskórka, nieznaczny obrzęk, tworzenie się strupów (tab. 4), (Hazleton Europe 1994a).

Brażowe zabarwienie skóry, martwicę naskórka, strupy, hiperkeratozę i zapalenie skóry obserwowano także u myszy, którym podawano na skórę 25 µl 0,04-procentowego roztworu CIT/MIT (ok. 0,3 mg/kg mc./dzień) 3 razy/tydz. przez 30 miesięcy (tab. 4), (Rohm and Haas 1983b).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Na podstawie dostępnych wyników badań substancji nie zaklasyfikowano jako mutagennej (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady

(WE) nr 1272/2008). Wyniki badań działania mutagennego i genotoksycznego CIT/MIT zestawiono w tabeli 5.

Tabela 5. Zestawienie wyników badań mutagenności i genotoksyczności CIT/MIT
Table 5. Summary of the results of CIT/MIT mutagenicity and genotoxicity tests

Test	Układ badawczy / droga podania w przypadku badań in vivo	Wyniki		Piśmiennictwo
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	
TESTY NA BAKTERIACH				
Mutacje powrotne	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA100	+	–	<i>Scribner</i> i in. 1983
		(od 0,1 µg/płytkę)		
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1535	+	+	<i>Monte</i> i in. 1983 <i>Wright</i> i in. 1983
		(od 0,03 µg/płytkę)	(od 0,3 µg/płytkę)	
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA1537	–	–	<i>Scribner</i> i in. 1983
	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA98	–	–	<i>Scribner</i> i in. 1983
	<i>Escherichia coli</i> WP2uvrA(p)	–	+	<i>Wright</i> i in. 1983
		(od 0,268 µg/płytkę)		
	<i>Salmonella</i> Typhimurium <i>Escherichia coli</i> WP2uvrA(p)	– NMMA*)	nb.	Rohm and Haas 2005
TESTY Z ZASTOSOWANIEM MUSZKI OWOCOWEJ				
Recesywne mutacje letalne związane z płcią	<i>Drosophila melanogaster</i>		–	<i>Scribner</i> i in. 1983
TESTY NA KOMÓRKACH SSAKÓW W WARUNKACH IN VITRO				
Mutacje genowe	komórki chłoniaka myszy L5178Y	+	+	<i>Scribner</i> i in. 1983
	komórki chłoniaka myszy	+	nb.	Hazleton Europe 1994b; Rohm and Haas 1981b
Addukty DNA	komórki chłoniaka myszy	–	nb.	Rohm and Haas 1983a
Aberracje chromosomowe	komórki płuca chomika chińskiego	–	nb.	Rohm and Haas 1982b
Naprawa DNA	hodowle hepatocytów szczura F344	–	nb.	<i>Scribner</i> i in. 1983
Nieplanowa synteza DNA	hodowle hepatocytów szczura	–	nb.	Rohm and Haas 1990
Transformacje komórkowe	fibroblasty zarodków myszy C3H 10T1/2	–	nb.	<i>Scribner</i> i in. 1983
BADANIA W WARUNKACH IN VIVO				
Aberracje chromosomowe w komórkach szpiku kostnego	szczur, podanie dootrzewnowe, 0,28; 2,8 lub 28 mg/kg mc./dzień przez 5 dni		–	Rohm and Haas 1973
	myszy, podanie zgłębnikiem, 1,5; 6 lub 15 mg/kg mc./dzień przez 5 dni		–	Rohm and Haas 1981a
	myszy, podanie zgłębnikiem lub z paszą, jednorazowo lub przez 5 dni do 30 mg/kg mc.		–	Rohm and Haas 1982c
	myszy, podanie zgłębnikiem jednorazowo do 30 mg/kg mc.		–	Rohm and Haas 1992a

cd. tab. 5 / Table 5 cont.

Test	Układ badawczy / droga podania w przypadku badań in vivo	Wyniki		Piśmiennictwo
		bez aktywacji metabolicznej	z aktywacją metaboliczną	
Test mikrojądrowy (komórki szpiku kostnego)	myszy, podanie dootrzewnowe 250 mg/kg mc. /dzień przez 2 kolejne dni (osobno podawano CIT i MIT)	–		<i>Richardson i in. 1983</i>
	myszy, podanie zgłębnikiem jednorazowo do 50 mg/kg mc.	–		<i>Marshall 1997</i>
Nieplanowa synteza DNA	szczury, podanie zgłębnikiem jednorazowo do 60 mg/kg mc.	–		<i>Ward 1994</i>
Addukty z DNA (komórki jąder)	szczury, jednorazowe podanie na skórę 0,2-procentowego roztworu CIT/MIT	–		<i>Rohm and Haas 1983a</i>

Objaśnienia:

*) badano NMMA, metabolit CIT/MIT.

nb. – nie badano.

– – wynik ujemny.

+ – wynik dodatni.

CIT/MIT został przebadany pod kątem działania mutagennego na bakteriiach *Salmonella Typhimurium*, komórkach chłoniaka L5178Y myszy i muszce owocowej *Drosophila melanogaster*. Na szczepach *Salmonella Typhimurium* TA1535, TA1537, TA98 i TA100 badano mutagenność zarówno Kathonu, jak i składników: CIT (o czystości 99,95%) oraz MIT (o czystości 99,99%) w testach bez aktywacji metabolicznej oraz z aktywacją. CIT/MIT ani składnik CIT nie wykazywały działania mutagennego w szczepach TA1535, TA1537 lub TA98. W przypadku TA100 nie obserwowano działania mutagennego w obecności frakcji S9, natomiast odnotowano działanie mutagenne bez aktywacji metabolicznej. Sam MIT nie działał mutagenie w żadnym z badań na ww. szczepach bakterii. Jednocześnie autorzy odnotowali, że Kathon był bardzo toksyczny dla bakterii w badaniach bez systemu metabolicznego, toksyczność zwiększała się znacznie wraz z dawką (0,099 ÷ 0,990 µg/płytkę), podczas gdy w przypadku aktywacji metabolicznej skutki toksyczne obserwowano przy większych stężeniach (*Scribner i in. 1983*). Analogiczne wyniki w przypadku badań produktu handlowego Kathon na *Salmonella Typhimurium* uzyskali *Monte i in. (1983)* oraz *Wright i in. (1983)*, natomiast w testach na *Escherichia coli* WP2uvrA(p) działanie mutagenne było widoczne jedynie po aktywacji metabolicznej (*Wright i in. 1983*).

W hodowlach komórek chłoniaka L5178Y myszy obserwowano mutacje punktowe zarówno bez aktywacji metabolicznej, jak i z aktywacją, przy

czym do indukcji tych mutacji w eksperymentach z aktywacją metaboliczną konieczne były ok. 10-krotnie większe stężenia niż w eksperymentach bez aktywacji (*Scribner i in. 1983*). Główny metabolit CIT/MIT kwas *N*-metylomalonowy (NMMA) nie powodował mutacji punktowych (*Rohm and Haas 2005*).

W badaniach recesywnych mutacji letalnych związanych z płcią na *Drosophila* uzyskano wyniki ujemne (*Scribner i in. 1983*).

Pozostałe wyniki badań na hodowlach komórkowych dały wyniki ujemne – zestawiono je w tabeli 5.

W badaniach in vivo po podaniu Kathonu dootrzewnowo szczurom i *per os* myszom nie obserwowano zwiększenia częstości aberracji chromosomowych w komórkach szpiku kostnego zwierząt (*Rohm and Haas 1981a; 1992a; Litton Bionetics 1973*). Nie odnotowano zwiększenia liczby mikrojąderek w komórkach szpiku kostnego myszy, którym wstrzyknięto dootrzewnowo CIT lub MIT w 2 kolejnych dniach (*Richardson i in. 1983*) lub podano CIT/MIT jednorazowo do żołądka (*Marshall 1997*). Nie obserwowano nieplanowej syntezy DNA u szczurów po jednorazowym podaniu CIT/MIT zgłębnikiem do żołądka (*Ward 1994*). Po podaniu na skórę szczurów jednorazowo 0,2-procentowego wodnego roztworu CIT/MIT znakowanego ¹⁴C nie obserwowano wiązania kowalencyjnego izotopu z DNA izolowanego z komórek jąder (*Rohm and Haas 1983a*).

Działanie rakotwórcze

Działanie na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono doniesień o rakotwórczym działaniu CIT/MIT na ludzi. Substancja nie jest zaklasyfikowana pod kątem działania rakotwórczego w Unii Europejskiej (rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008).

Działanie na zwierzęta

Rakotwórcze działanie CIT/MIT badano na myszach Charles River CD-1 po podaniu na skórę (Rohm and Haas 1983b) oraz na szczurach Charles River CRL:CD®BR po podaniu z wodą do picia (Rohm and Haas 1994). Wyniki badań wskazują, że CIT/MIT nie działał rakotwórczo.

Myszom samcom (40 zwierząt w grupie) nakładano po 25 µl 0,04-procentowego wodnego roztworu CIT/MIT na skórę grzbietu 3 razy/tydz. przez 30 miesięcy. Grupę kontrolną stanowiło 40 samców myszy, którym podawano w analogiczny sposób samą wodę. Dodatnią grupę kontrolną stanowiło 40 samców, którym nakładano 0,1-procentowy roztwór acetonowy 3-metylocholantrenu. Wszystkie myszy poddano sekcji. Mikroskopowo zbadano następujące tkanki i narządy: skórę, wątrobę, płuca, serce, nerki, śledzionę, żołądek, dwunastnicę, jelito cienkie, kątnicę, okrężnicę i odbytnicę oraz szpik kostny. Wszystkie myszy z kontroli dodatniej padły w ciągu 16 miesięcy. Po 24 miesiącach eksperymentu odsetek myszy, które przeżyły, był większy w grupie kontrolnej, której podawano wodę (27/40, tj. 67,5%), niż w grupie myszy narażanych na CIT/MIT (13/40, tj. 32,5%). Po 30 miesiącach przeżywalność w grupie kontrolnej była w dalszym ciągu większa, ale różnica nie była istotna statystycznie (10/40, tj. 25%, vs. 7/40, tj. 17,5%). W grupie badanej obserwowano 2 przypadki nowotworów w miejscu podania badanej substancji (naczyniak i naczyniakomięsak). U myszy, u której w miejscu aplikacji wystąpił naczyniakomięsak, stwierdzono również naczyniakomięsaka wątroby; poza tym przypadkiem w badanych narządach nie wystąpiły żadne inne nowotwory. Nowotworów tych nie uznano za skutek działania CIT/MIT, ponieważ analogiczne nowotwory naczyniowe obserwowano u 3 zwierząt z grupy kontrolnej (umiejscowione w śledzionie, wątrobie i na skórze ogona). W przypadku kontroli pozytywnej w ciągu 6 miesięcy doświadczenia

u wszystkich zwierząt wystąpiły przypadki raka płaskonabłonkowego. Autorzy badania stwierdzili, że CIT/MIT nie wykazywał rakotwórczego działania w warunkach badania (O'Hara i in. 1984; Rohm and Haas 1983b).

U szczurów Charles River CRL:CD®BR (po 80 samców i 90 samic w grupie), którym podawano CIT/MIT z wodą do picia o stężeniach: 0,003; 0,01 lub 0,03% przez 24 miesiące (dawki CIT/MIT wynosiły odpowiednio: 2,0; 6,6 lub 17,2 mg/kg mc./dzień u samców i 3,1; 9,8 lub 25,7 mg/kg mc./dzień u samic) nie stwierdzono zwiększenia liczby przypadków zmian nowotworowych w porównaniu z grupami kontrolnymi. W badaniu były 2 grupy kontrolne – jednej z nich podawano czystą wodę, drugiej wodę z solami magnezu (chlorek i azotan(V)), które są stosowane jako stabilizator w produkcie handlowym Kathon™ 886. Badanie wykonano zgodnie z GLP metodą OECD 453 (Rohm and Haas 1994). Pozostałe wyniki tego badania opisano szczegółowo w rozdziale dotyczącym toksyczności przewlekłej.

Działanie na rozrodczość

Działanie na ludzi

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono informacji o działaniu CIT/MIT na rozrodczość u ludzi.

Działanie na zwierzęta

Badania wpływu CIT/MIT na rozrodczość zwierząt prowadzono na szczurach i królikach po podaniu CIT/MIT z wodą do picia. W badaniach laboratorium Rohm and Haas źródłem substancji czynnej były produkty o nazwie handlowej Kathon, badania dla Thor GmbH przeprowadzono dla produktu Acticide 14. Wszystkie badane produkty zawierały ok. 14% CIT/MIT. Eksperti UE uznali, że CIT/MIT nie wykazuje szkodliwego działania ani na płodność, ani na rozwój płodu – CIT/MIT nie został zaklasyfikowany jako substancja działająca szkodliwie na rozrodczość.

Szczury

Dwupokoleniowe badanie wpływu CIT/MIT na rozrodczość przeprowadzono na szczurach CRL:CD®BR (po 26 samców i samic w grupie), którym podawano substancję z wodą do picia o stężeniach: 0,003; 0,01 lub 0,03%. Zwierzętom z 2 grup kontrolnych podawano do picia albo samą wodę,

albo wodę z solami magnezu. Dawki CIT/MIT w grupach badanych wynosiły odpowiednio: $2,8 \div 4,4$; $8,5 \div 11,8$ lub $22,7 \div 28,0$ mg/kg mc./dzień w pokoleniu P1 oraz $4,3 \div 5,5$; $13,4 \div 16,0$ lub $35,7 \div 39,1$ mg/kg mc./dzień w pokoleniu P2. Badanie przeprowadzono zgodnie z GLP metodą OECD 416. Nie odnotowano wpływu narażenia CIT/MIT na przeżywalność zwierząt i zapotrzebowanie na paszę ani klinicznych objawów narażenia. W obu pokoleniach u samic w okresie kojarzenia, ciąży i laktacji obserwowano zależne od dawki, istotnie zmniejszone spożycie wody. W obu pokoleniach P1 i P2 u zwierząt z grup, które dostawały wodę z 0,01-procentowym lub 0,03-procentowym CIT/MIT, obserwowano zależne od dawki zmiany histopatologiczne w błonie śluzowej żołądka – nadżerki, obrzęk, stany zapalne, rozrost i hiperkeratozę błony śluzowej. W pokoleniach P1 i P2 cykl rujowy u samic narażanych był porównywalny z kontrolą, podobnie jak u samców ruchliwość plemników, ich morfologia, liczba plemników w jądrach i rezerwa plemników w ogonie najądrza. Wskaźnik ciąż, czas trwania ciąży, liczba młodych w miocie oraz zmiany makroskopowe u młodych F1 lub F2 były podobne jak w grupie kontrolnej. Przy żadnej dawce CIT/MIT nie obserwowano szkodliwego działania CIT/MIT ani na płodność, ani na rozwój płodu. Na podstawie wyników tego badania eksperci SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety) przyjęli wartości NOAEL dla toksyczności w pokoleniach rodziców: P1 $2,8 \div 4,4$ mg/kg mc./dzień; P2 $4,3 \div 5,5$ mg/kg mc./dzień (Rohm and Haas 1998).

W innym badaniu dwupokoleniowym, cytowanym przez ekspertów SCCS, wartości NOAEL dla szczurów, którym podawano CIT/MIT zgłębnikiem, wynosiły ≥ 10 mg/kg mc./dzień zarówno dla rodziców, jak i w przypadku toksyczności rozwojowej, nie podano jednak żadnych szczegółów tego badania (Covance Laboratories 1998b).

Szczurom COBS CD (po 10 samców i samic w grupie) podawano CIT/MIT z wodą do picia w dawkach: 0 (kontrola), $2 \div 3$, $6,6 \div 10,8$ lub $16,3 \div 24,7$ mg/kg mc./dzień przez 105 dni. Bezpośrednio po zakończeniu narażenia zwierzęta kojarzono. Nie obserwowano wpływu narażenia na płodność zwierząt ani na przeżywalność płodów (Rohm and Haas 1982a).

Ciężarnym samicom szczura Sprague-Dawley CR (po 25 zwierząt w grupie) podawano CIT/MIT

w roztworze wodnym zgłębnikiem w dawkach: 1,4; 4,2 lub 14 mg/kg mc./dzień od 6. do 15. dnia ciąży. Zwierzętom kontrolnym podawano samą wodę. Nie obserwowano skutków narażenia ani u matek (masa ciała, liczba ciąż, implantacji, resorpcji), ani u płodów (anomalie narządowe lub szkieletowe), (Rohm and Haas 1980).

W badaniu przeprowadzonym dla Thor GmbH wyznaczono wartość NOAEL dla toksyczności matczynej na poziomie $\leq 3,95$ mg/kg mc., a dla działania teratogenego i embriotoksycznego $\geq 19,6$ mg/kg mc. Raport z tego badania lub bardziej szczegółowy opis są niedostępne, jednak podane wartości potwierdzają, że CIT/MIT nie wykazuje działania embriotoksycznego ani teratogenego u szczurów (Hazleton Deutschland GmbH 1994).

Króliki

W badaniu na królikach obserwowano skutki mogące świadczyć o embriotoksycznym działaniu CIT/MIT, ale występowały one przy dawkach toksycznych dla matek. Nawet przy dużych dawkach CIT/MIT nie obserwowano działania teratogenego. Ciężarnym samicom królika (po 15 zwierząt w grupie) podawano CIT/MIT w wodzie do picia w dawkach: 1,5; 4,4 lub 13,3 mg/kg mc./dzień od 6. do 18. dnia ciąży. W eksperymencie były 2 grupy kontrolne – jednej podawano tylko wodę, drugiej wodę z dodatkiem azotanu(V) i chlorku magnezu. Ponad 80% samic z grup otrzymujących 2 większe dawki CIT/MIT padło do 20. dnia eksperymentu, przy najmniejszej dawce śmiertelność wynosiła ok. 30%. U matek obserwowano: zmniejszoną aktywność ruchową, ataksję, nadmierne ślinienie i biegunkę. W większości przypadków autopsją wykazała uszkodzenie błony śluzowej żołądka i związany z nią krwotok. W grupie otrzymującej najmniejszą dawkę CIT/MIT odnotowano zwiększenie liczby strat postimplantacyjnych i nieznaczne zwiększenie śmiertelności płodów. Liczba implantacji i ciałek żółtych nie uległa zmianie w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, podobnie jak masy płodów i stosunek płci. U płodów, które przeżyły, nie obserwowano wad rozwojowych lub innych anomalii (Rohm and Haas 1977b).

Toksyczność matczyną CIT/MIT po podaniu drogą pokarmową królikom potwierdzają wyniki 2 innych raportów cytowanych przez SCCS (2009). W badaniu Rohm and Haas (1992b) wartość

NOEL dla toksyczności matczynej określono na 2 mg/kg mc./dzień, podczas gdy w badaniu przeprowadzonym przez Jai Research Foundation (2002) dla Thor GmbH wartość NOAEL ze względu na toksyczność dla matek i dla płodów wyznaczono na poziomie 1,41 mg/kg mc./dzień.

W przypadku toksyczności rozwojowej wyznaczone wartości wynosiły odpowiednio 8 mg/kg mc./dzień (NOEL) oraz >5,49 mg/kg mc./dzień (NOAEL). W SCCS (2009) nie podano żadnych bliższych informacji o warunkach badania ani o obserwowanych skutkach.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Wchłanianie i rozmieszczenie CIT/MIT znakowanego ^{14}C badano u samców szczurów Sprague-Dawley po podaniu na skórę lub dożylnie (*deBethizy* i in. 1986).

W eksperymencie dermalnym szczury (łącznie 76 zwierząt) podzielono losowo na grupy – każdej grupie podawano na skórę 0,2 ml roztworu wodnego CIT/MIT. Różnice pomiędzy grupami dotyczyły miejsca znakowania CIT/MIT, stężenia roztworu oraz schematu podawania. CIT/MIT znakowany ^{14}C w grupie karbonylowej CIT podawano jednorazowo przez 24 h w stężeniach: 0,05; 0,1; 0,2 lub 0,4%, w przypadku kolejnych 2 grup 24-godzinne aplikacje roztworów o stężeniu 0,05 lub 0,1% powtarzano 4-krotnie, ostatniej grupie podano jednorazowo 0,2-procentowy roztwór CIT/MIT znakowanego w grupie karbonylowej MIT. W przypadku znakowanego izotopowo CIT wchłanianie wynosiło ok. 94% i nie było zależne od dawki ani od liczby podań. Mniejsze wchłanianie, ok. 82%, obserwowano w przypadku zastosowania CIT/MIT znakowanego w cząsteczce MIT. Niezależnie od dawki i schematu dawkowania po 24 h od aplikacji największą radioaktywność mierzono w skórze w miejscu podania. Względna ilość radioaktywnego izotopu w skórze (odsetek w stosunku do podanej dawki) zmniejszała się ze zwiększaniem dawki oraz przy powtarzanej aplikacji (z 62,1 do 25,5%), jednocześnie zwiększała się względna ilość izotopu w wydalinach (od 5,8 do 31,4%), co wskazuje na zwiększone wchłanianie ogólnoustrojowe przy większych stężeniach i przy powtarzanej aplikacji. W zależności od dawki i schematu podawania po 24 h od aplikacji we krwi stwierdzano 0,14 ÷ 3,15% podanej dawki, w wątrobie 0,04 ÷ 0,2%, w nerkach 0,03 ÷ 0,1%, a w jądrach 0,005 ÷ 0,014% (*deBethizy* i in. 1986).

Po podaniu dożylnym CIT/MIT znakowanego ^{14}C w cząsteczce CIT w dawce 0,8 mg/kg mc. (60 $\mu\text{Ci/kg}$ mc.) stężenie ^{14}C we krwi początkowo szybko się zmniejszyło, a następnie przez 24 ÷ 96 h utrzymywało się na prawie stałym poziomie wynoszącym ok. 3 $\mu\text{g/g}$ krwi (co odpowiada 28,6±1,2% dawki). Z osocza ^{14}C był eliminowany znacznie szybciej – po 96 h stosunek radioaktywności we krwi i osoczu wynosił 70: 1, co wskazuje na to, że CIT znakowany ^{14}C i/lub jego metabolity były absorbowane przez frakcję komórkową krwi. Substancja była szybko rozmieszczana w badanych narządach: po 6, 24, 48, 72 i 96 h od podania największe stężenie obserwowano w nerkach (ok. 1 $\mu\text{g/g}$ po 6 h od podania, następnie ok. 0,5 $\mu\text{g/g}$), nieznacznie mniejsze w wątrobie, natomiast w jądrach było ok. 10 razy mniejsze niż w wątrobie (ok. 0,05 $\mu\text{g/g}$ po 6 h od podania, następnie ok. 0,03 $\mu\text{g/g}$), (*deBethizy* i in. 1986).

Wchłanianie i rozmieszczenie CIT/MIT po podaniu zgłębnikiem do żołądka badano na szczurach Wistar (2 samice i 2 samców). Wodny roztwór CIT/MIT podawano przez 7 kolejnych dni – jednej parze zwierząt podawano 2,1 mg/szczura/dzień CIT/MIT, w którym znacznik ^{14}C znajdował się w cząsteczce CIT, drugiej parze 0,64 mg/szczura/dobę CIT/MIT z ^{14}C w cząsteczce MIT. Analiza 25 narządów i tkanek wykazała, że ^{14}C był rozmieszczany dość równomiernie, przy czym największe zawartości CIT/MIT (kilka $\mu\text{g/g}$) były w narządach układu trawienno i wydalniczego, a najmniejsze w mózgu, rdzeniu kręgowym i gonadach (0,12 ÷ 0,5 $\mu\text{g/g}$), (Rohm and Haas 1984b).

W kolejnym badaniu porównano wchłanianie CIT/MIT u szczurów Sprague-Dawley po podaniu dożylnym, dożołądkowym i dermalnym. W przypadku CIT/MIT znakowanego izotopowo w cząsteczce CIT wchłanianie drogą pokarmową wyniosło 62%, a po podaniu na skórę przez 6 h

w zależności od stężenia roztworu CIT/MIT wyniosło 38% (przy stężeniu CIT/MIT 0,00025%) oraz 27% (stężenie CIT/MIT 0,0025%). Przy bardziej stężonych roztworach (0,025 lub 0,25%) wchłanianie ponownie się zwiększało i wyniosło odpowiednio 29 i 50%). W przypadku CIT/MIT znakowanego w cząsteczce MIT wchłanianie drogą pokarmową wyniosło 90%, a po podaniu na skórę 43% (roztwór 0,00025%) i 26% (roztwór 0,0025%), (Rohm and Haas 1987).

Eksperti oceniający składniki czynne biocydów uznali, że CIT/MIT nie ma potencjału do kumulacji w organizmie człowieka (Evaluation of active substances... 2015).

Metabolizm i wydalanie

Głównymi metabolitami CIT/MIT są pochodne kwasu malonowego, m.in. kwas *N*-metylomalonowy (NMMA, kwas 3-metyloamino-3-oksopropanowy), kwas malonowy i kwas malonamowy. Początkowo metabolity te oznaczono w moczu zwierząt, ale w 2017 r. opublikowano wyniki badania na ochotnikach potwierdzające, że NMMA jest także głównym metabolitem u ludzi. Metabolizm CIT/MIT obejmuje reakcje takie jak otwarcie pierścienia, desulfuryzację, utlenianie grupy alkilowej. W badaniach na zwierzętach w wydalinach obserwowano około 29 metabolitów, w moczu zidentyfikowano łącznie około 16 pochodnych kwasu malonowego. Głównym metabolitem w moczu był NMMA (15,35 ÷ 18,19%), natomiast w kale konjugat 3-sulfinylo-*N*-metylopropionamidu z kwasem 3-merkapturowym (32,54%), (Evaluation of active substances... 2015).

Ochotnikom (4 osoby w wieku 22 ÷ 44 lat) podawano doustnie 2 mg CIT/MIT rozpuszczonego

w 0,2 ml etanolu i 250 ml wody. Te same osoby brały udział w 2 eksperymentach przeprowadzonych w odstępie co najmniej 2 tygodni – w jednym z nich podano im jednorazowo 2 mg CIT/MIT znakowanego ¹³C w cząsteczce MIT (¹³C-MIT), a w drugim taką samą dawkę CIT/MIT znakowanego deuterem w cząsteczce CIT (D-CIT). W przeliczeniu na masę ciała pojedyncze dawki CIT/MIT mieściły się w przedziale 0,020 ÷ 0,0267 mg/kg mc. Mocz zbierano przez 48 h, w kolejnych przedziałach czasu oznaczano w nim zawartość znakowanego NMMA. Maksimum stężenia NMMA odnotowano pomiędzy 2 a 4 h od podania, NMMA stanowił 23,7% wydalonej z moczem dawki ¹³C-MIT oraz 13,3% dawki D-CIT. W ciągu 24 h ponad 90% znakowanego NMMA w moczu zostało wydalone (Schettgen, Kraus 2017).

W przypadku podania CIT/MIT na skórę szczurów główną drogą wydalania był mocz – po 96 h z moczem wydalilo się 17% (w przypadku substancji znakowanej izotopowo w cząsteczce CIT) i 10% dawki (w przypadku CIT/MIT znakowanego izotopowo w cząsteczce MIT). Z kałem wydalalo się ok. 3% dawki. Eliminacja znacznika ¹⁴C z badanych tkanek (nerki, wątroba, jądra) była dwufazowa, z końcowym okresem półtrwania dłuższym niż 4 dni. Po 96 h od podania dożylnego CIT/MIT szczurom wydaleni z kałem, moczem oraz wydychanym powietrzem uległo odpowiednio 35, 31 i 4% dawki (deBethizy i in. 1986).

Po podaniu dożylnym ok. 87 ÷ 93% dawki zostało wydalone z moczem lub kałem. Okres półtrwania ¹⁴C jest poniżej 1 dnia. W wydalinach nie wykryto związku macierzystego, co wskazuje na intensywny metabolizm CIT/MIT (Rohm and Haas 1987).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono danych dotyczących mechanizmu działania toksycznego CIT/MIT na ludzi i zwierzęta.

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono danych dotyczących działania łącznego CIT/MIT z innymi substancjami poza informacjami dotyczącymi możliwości uczuleń krzyżowych

z innymi izotiazolinami, np. z samym MIT, oraz z pochodnymi benzyłowymi i oktylowymi (Isaksson i in. 2014).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Zależności skutku toksycznego od wielkości narażenia podprzewlekłego i przewlekłego zwierząt doświadczalnych zestawiono w tabeli 4.

Ponadto w badaniach działania szkodliwego na rozrodczość wyznaczono wartości NOAEL dla pokolenia rodziców. Na podstawie wyników dwupokoleniowego badania na szczurach, którym podawano CIT/MIT z wodą do picia, eksperci SCCS uznali, że wartości NOAEL dla toksyczności w pokoleniach rodziców wynoszą: P1 2,8 ÷ 4,4 mg/kg mc./dzień; P2 4,3 ÷ 5,5 mg/kg mc./dzień. W badaniu embriotoksyczności i teratogenności

na królikach (podanie dożołądkowe) wartość NOAEL dla matek wynosiła 1,41 mg/kg mc./dzień.

W tabeli 6 zestawiono dostępne wartości DNEL (Derived No Effect Level – poziom pochodny niepowodujący zmian) CIT/MIT (ECHA 2021).

Tabela 6. Wartości DNEL CIT/MIT ustalone dla pracowników i konsumentów (ECHA 2021)

Table 6. CIT/MIT DNEL values established for workers and consumers (ECHA 2021)

Populacja	Narażenie	Wartość DNEL
Pracownicy	inhalacyjne, długoterminowe	0,2 mg/m ³
	inhalacyjne, krótkoterminowe	0,4 mg/m ³
Konsumenty	inhalacyjne, długoterminowe	0,2 mg/m ³
	inhalacyjne, krótkoterminowe	0,4 mg/m ³
	droga pokarmowa, długoterminowe	0,09 mg/kg mc./dzień
	droga pokarmowa, krótkoterminowe	0,11 mg/kg mc./dzień

NAJWYŻSZE DOPUSZCZALNE STĘŻENIE (NDS) W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY ORAZ DOPUSZCZALNE STĘŻENIE W MATERIALE BIOLOGICZNYM (DSB)

Istniejące wartości NDS i DSB

Normatywy higieniczne frakcji wdychalnej CIT/MIT ustalono jedynie w Niemczech, Szwajcarii i Austrii (DFG 2020; GESTIS 2021; SUVA 2021). W Polsce dotychczas nie ustalono wartości NDS/NDSch tej substancji (rozporządzenie Ministra

Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy). Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń zestawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń CIT/MIT w środowisku pracy w poszczególnych państwach (DFG 2020; GESTIS 2021; SUVA 2021)**Table 7.** The values of the maximum permissible concentrations of CIT/MIT in working environment in individual countries (DFG 2020; GESTIS 2021; SUVA 2021)

Państwo	Wartość NDS	Wartość NDSch
	mg/m ³	
Austria	0,05	–
Niemcy	0,2*	0,4
Szwajcaria	0,2*	0,4

Objaśnienie:

* frakcja wdychalna.

Podstawą wartości ustalonej w Niemczech było działanie drażniące CIT/MIT na błony śluzowe nosa oraz wartość NOAEC równa 0,34 mg/m³ dla tego działania wyznaczona w 13-tygodniowym eksperymencie inhalacyjnym na szczurach (MAK Value Documentation 2007). CIT/MIT został oznakowany przez ekspertów niemieckich jako Sh (substancja uczulająca) oraz Pregnancy group C (uszkodzenie zarodka lub płodu jest mało prawdopodobne, gdy dotrzymana jest wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia MAK lub dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym BAT), (DFG 2020). W Szwajcarii obowiązują analogiczne wartości dopuszczalnych stężeń i oznakowanie jak w Niemczech, dodatkowo wskazano narządy krytyczne – górne drogi oddechowe, skóra i oczy (SUVA 2021).

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

Skutkiem krytycznym CIT/MIT jest działanie drażniące na błony śluzowe nosa. Podstawą do obliczenia proponowanej wartości NDS był 13-tygodniowy eksperyment inhalacyjny na szczurach, w którym wyznaczono wartość NOAEC na poziomie 0,34 mg/m³ (Rohm and Haas 1984a). Wartość NDS obliczono po zastosowaniu współczynników niepewności:

$$\begin{aligned} \text{NDS} &= \frac{\text{NOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E} = \\ &= \frac{0,34 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}}{2 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 1} = \frac{0,34 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}}{2} = \\ &= 0,17 \text{ mg/m}^3 \approx 0,2 \text{ mg/m}^3, \end{aligned}$$

gdzie:

$A = 2$, współczynnik związany z różnicami wrażliwości osobniczej u ludzi,

$B = 1$, różnice międzygatunkowe i droga podania (eksperyment inhalacyjny na szczurach, przyjęto $B = 1$ ze względu

na to, że szczury są bardziej od człowieka wrażliwe na działanie drażniące nosa),

$C = 1$, przejście z narażenia krótkoterminowego do przewlekłego (badanie 13-tygodniowe),

$D = 1$, zastosowano wartość NOAEC,

$E = 1$, współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych).

Zaproponowano przyjęcie wartości NDS dla CIT/MIT na poziomie 0,2 mg/m³. Należy podkreślić, że jest to wartość na poziomie wartości DNEL ustalonej w przypadku długoterminowego narażenia inhalacyjnego, zarówno dla pracowników, jak i dla populacji generalnej. Proponowana wartość NDS mieści się w zakresie 0,01 ÷ 0,1 RD₅₀, tj. 0,094 ÷ 0,94 mg/m³. Ze względu na działanie drażniące proponuje się przyjęcie wartości chwilowej, NDSch wynoszącej 0,4 mg/m³. Dostępne dane są niewystarczające do ustalenia wartości DSB.

Ze względu na działanie żrące i uczulające substancji oraz wchłanianie przez skórę proponuje się oznakowanie:

A – substancja uczulająca,

C – substancja żrąca,

Skóra – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne jak przy narażeniu drogą oddechową.

PIŚMIENNICTWO

- 6 Final Report on the safety assessment of methylisothiazolinone and methylchloroisothiazolinone (1992). *J. Am. Coll. Toxicol.* 11(1), 75–128.
- Alinaghi F., Bennike N.H., Egeberg A.* i in. (2019). Prevalence of contact allergy in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Contact Dermatitis* 80, 77–85.
- Cardin C.W., Weaver J.E., Bailey P.T.* (1986). Dose-response assessments of Kathon biocide. (II). Threshold prophetic patch testing. *Contact Dermatitis* 15, 10–16.
- Centralny Rejestr Chorób Zawodowych (2021). IMP, Łódź [dane niepublikowane].
- Chan P.K., DeCrescente M.E., Baldwin R.C.* (1982). Kathon™ 886: a study of the concentration dependent delayed contact hypersensitivity in guinea pigs. Rohm and Haas Company. Rohm and Haas Report No. 81R-66.
- ChemIDPlus Advanced (2021). Baza danych on-line [https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/55965-84-9, dostęp: 10.09.2021].
- Cheon C.K., Jin H.S., Kang E.K.* i in. (2008). Epidemic acute interstitial pneumonia in children occurred during the early 2000s. *Korean J. Pediatr.* 51, 383–390.
- Cho H.J., Park D.U., Yoon J.* i in. (2017). Effects of a mixture of chloromethylisothiazolinone and methylisothiazolinone on peripheral airway dysfunction in children. *PLoS One* 12(4), e0176083.
- Choi J.E., Hong S.B., Do K.H.* i in. (2016). Humidifier disinfectant lung injury, how do we approach the issues? *Environ. Health Toxicol.* 31, e2016019.
- CLH Report (2015). Proposal for harmonised classification and labelling. Substance name: reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazolin-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1); C(M)IT/MIT, version No. 2 [https://echa.europa.eu/documents/10162/423f98b0-6482-4a54-b390-93d7e1ea9206, dostęp: 10.09.2021].
- Covance Laboratories Ltd. (1998a). Acticide 14: 13 week oral (dietary administration) toxicity study in the dog (sponsor: Thor Chemie GmbH). Study No. 1154/58 [cyt. za: SCCS 2009].
- Covance Laboratories GmbH (1998b). Two generation oral (gavage) reproduction toxicity study in the rat (one litter per generation), (sponsor: Thor Chemie GmbH). Study No. 1154-067, Report No. 1413-1154-067 [cyt. za: SCCS 2009].
- Craig L.P.* (1993a). Kathon™ 886 all-magnesium formulation: acute dermal toxicity study in male rabbits. Rohm and Haas Report 76R-056A [cyt. za: CLH Report 2015].
- Craig L.P.* (1993b). Kathon™ 886 all-magnesium formulation: acute oral toxicity study in male rats. Rohm and Haas Report 77R-038A [cyt. za: CLH Report 2015].
- deBethizy J.D., Longacre S.L., Steigerwalt R.B.* i in. (1986). Absorption and disposition of ¹⁴C-labelled Kathon® biocide, a mixture of 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one, following intravenous or dermal administration to male Sprague-Dawley rats. *Food Chem. Toxicol.* 24(1), 43–49.
- DFG (Deutsche Forschungsgemeinschaft), (2020). List of MAK and BAT Values. Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Report No. 56 [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/9783527826889, dostęp: 10.09.2021].
- Do V.Q., Seo Y.S., Park J.M.* i in. (2021). A mixture of chloromethylisothiazolinone and methylisothiazolinone impairs rat vascular smooth muscle by depleting thiols and thereby elevating cytosolic Zn²⁺ and generating reactive oxygen species. *Arch. Toxicol.* 95, 541–556.
- ECHA (2021). Dokumentacja rejestracyjna CIT/MIT [https://echa.europa.eu/pl/registration-dossier/-/registered-dossier/23870, dostęp: 10.09.2021].
- Evaluation of active substances. Assessment report (2015). C(M)IT/MIT. Product-type 2 (biocide for use as disinfectants and algacides not intended for direct application to humans or animals). France, April 2015 [https://echa.europa.eu/documents/10162/876cd394-8bf9-ad59-ba68-d1cf3f04033d, dostęp: 10.09.2021].
- Fewings J., Menné T.* (1999). An update of the risk assessment for methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone (MCI/MI) with focus on rinse-off products. *Contact Dermatitis* 41, 1–13.
- GESTIS (2021). International Limit Values for chemical agents [https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-internationale-grenzwerte-fuer-chemische-substanzen-limit-values-for-chemical-agents/index-2.jsp, dostęp: 10.09.2021].
- GESTIS Substance Database (2021). Baza danych on-line [https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index-2.jsp, dostęp: 10.09.2021].
- Hazleton Deutschland GmbH (1994). Acticide 14 – oral (gavage) teratogenicity study in the rat (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). Report No. 1178-1154-003 [cyt. za: SCCS 2009].
- Hazleton Europe (1994a). Acticide 14: 90 day dermal sub-chronic toxicity study to the rat (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). Report No. 1127-1154-002 [cyt. za: SCCS 2009].
- Hazleton Europe (1994b). Study to determine the ability of Acticide 14 to induce mutations at the thymidine kinase (tk) locus in mouse lymphoma L5178Y cells using a fluctuation assay (sponsor: Thor Chemicals (UK) Ltd). Study No. 1154/15 [cyt. za: SCCS 2009].

- Hill Top Research Inc. (1978). Kathon® 886. Summaries: human skin-irritation study. Report 78-554-70 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- House R.V. (2000a). Murine local lymph node assay with Chloromethylisothiazolinone and Methylisothiazolinone. Covance Laboratories Study ID: 6228-145, Rohm and Haas Report No. 00RC-148A.
- House R.V. (2000b). Murine local lymph node assay to evaluate Chloromethylisothiazolinone/Methylisothiazolinone. Covance Laboratories Study ID: 6228-146, Rohm and Haas Report No. 00RC-148B.
- International Research and Development Corp. (1978). Kathon® 886. Summaries: acute toxicity, 4hr aerosol inhalation [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- International Research and Development Corp. (1981). Kathon® 886. Summaries: acute toxicity, 4hr vapor inhalation [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- Isaksson M., Gruvberger B., Bruze M. (2014). Patch testing with serial dilutions of various isothiazolinones in patients hypersensitive to methylchloroisothiazolinone/ methylisothiazolinone. *Contact Dermatitis* 70, 270–275.
- Jackson G.C. (1997). Acticide 14: acute inhalation toxicity in rats. 4-Hour exposure. Huntingdon Life Sciences Ltd. Study No. THR 48/971458 [cyt. za: CLH Report 2015].
- Jai Research Foundation (2002). Prenatal development toxicity study of ACTICIDE 14 in rabbits (sponsor: Thor GmbH), Study No. 3494, Valvada - 396 108, Dist. Valsad, Gujarat, India [cyt. za: SCCS 2009].
- Kim M.K., Kim K.B., Lee J.Y. i in. (2019). Risk assessment of 5-chloro-2-methylisothiazol-3(2H)-one/2-methylisothiazol-3(2H)-one (CMIT/MIT) used as a preservative in cosmetics. *Toxicol. Res.* 35(2), 103–117.
- Lee E., Seo J.H., Kim H.Y. i in. (2013). Toxic inhalational injury-associated interstitial lung disease in children. *J. Korean Med. Sci.* 28(6), 915–923.
- Lee S.Y., Park D.U., Do K.H. i in. (2019). The pathological findings of chloromethylisothiazolinone and methylisothiazolinone-associated lung injury. *J. Korean Med. Sci.* 34(14), e102.
- Litton Bionetics (1973). Cytogenetics studies compound RH 886 T. Rohm and Haas Report No. 73RC-1006 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993; SCCS 2009].
- Maibach H.I. (1985). Diagnostic patch test concentration for Kathon CG. *Contact Dermatitis* 13, 242–245.
- MAK Value Documentation (1993). 5-Chloro-2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one and 2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/3527600418.mb2617255kmxe0005, dostę: 10.09.2021].
- MAK Value Documentation (2007). 5-Chloro-2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one and 2-methyl-2,3-dihydroisothiazol-3-one [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/3527600418.mb2617255kmxe0023, dostę: 10.09.2021].
- Marshall R. (1997). Acticide 14: induction of micronuclei in the bone marrow of treated mice (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). Covance Laboratories Limited, Study No. 1154/63, Report No. 1154/63-1052 [cyt. za: SCCS 2009].
- Mercier O. (1994a). Test to evaluate the acute toxicity following a single oral administration (LD50) in the rat of Acticide 14 (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). *Pharmakon Europe Report* No. 53293 [cyt. za: SCCS 2009; CLH Report 2015].
- Mercier O. (1994b). Test to evaluate the acute toxicity following a single cutaneous application (Limit Test) in the rat of Acticide 14 (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). *Pharmakon Europe Report* No. 53193 [cyt. za: SCCS 2009; CLH Report 2015].
- Mercier O. (1994c). Test to evaluate acute primary cutaneous irritation and corrosivity in the rabbit of Acticide 14 (sponsor: Thor Chemicals (UK) Limited). *Pharmakon Europe Report* No. 53093 [cyt. za: SCCS 2009; CLH Report 2015].
- Monte W.C., Ashoor S.H., Lewis B.J. (1983). Mutagenicity of two non-formaldehyde-forming antimicrobial agents. *Food Chem. Toxicol.* 21(5), 695–696.
- Morrisson R.D. (1985). Kathon™ 886 1,5% Biocide: skin irritation study in rabbits. Rohm and Haas Report No. 84R-244A, B, C, D [cyt. za: CLH Report 2015].
- Mose A.P., Lundov M.D., Zachariae C. i in. (2012). Occupational contact dermatitis in painters: an analysis of patch test data from the Danish Contact Dermatitis Group. *Contact Dermatitis* 67, 293–297.
- O'Hara C.P., Matlack J.R., Moss I.N. i in. (1984). A dermal carcinogenesis study in male mice with Kathon-CC. *Toxicologist* 4(37) (Abstract No. 145).
- PFG Biopharm (1998). Acute oral toxicity of Acticide 14 (L) in the rat (sponsor: Thor Chemie GmbH). Study No. 009 Tox 97 [cyt. za: SCCS 2009].
- PubChem (2021). Baza danych on-line [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/33344, dostę: 10.09.2021].
- RAC (Committee for Risk Assessment) (2016). Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of reaction mass of 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), 5-chloro-2-methyl-4-isothiazol-3-one [EC no. 247-500-7] and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EC no. 220-239-6] (3:1), adopted 10 March 2016 [https://echa.europa.eu/documents/10162/0b88764c-cd9f-7b3d-b336-caa40b3588ed, dostę: 10.09.2021].
- Richardson C.R., Styles J.A., Burlinson B. (1983). Evaluation of some formaldehyde-release compounds and other biocides in the mouse micronucleus test. *Mutat. Res.* 124(3–4), 241–246.

- Rohm and Haas (1973). Cytogenetics studies compound RH 886 T. Report No. 73RC-1006 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1975a). The evaluation of experiment algaecide RH 886T as an irritant to the rabbit eye. Report No. 74RC-1005 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1975b). RH-886T, RH-35,375 and RH-00,345 three month subchronic oral safety evaluation study in Beagle dogs. Report No. 75RC-1002 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1976). Kathon® 886. Summaries: acute toxicity – dermal, rabbits [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- Rohm and Haas (1977a). Kathon® 886. Summaries: acute toxicity – oral, rats. TD Report 77-45 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- Rohm and Haas (1977b). Kathon® 886. Teratology study in rabbits. Report prepared by International Research and Development Corp. [cyt. za: MAK Value Documentation 1993; SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1980). Teratogenicity study in rats, Kathon® 886. Report No. 80RC-81 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993; SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1981a). Kathon® 886. Summaries: mutagenicity study [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- Rohm and Haas (1981b). Kathon™ 886 NAR: mouse lymphoma forward mutation assay. Report No. 81RC-153 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1982a). Kathon 886 NAR: three-month rat drinking water study and one generation reproduction study. Report No. 81R-162 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1982b). In vitro chromosomal aberration with Kathon™ CG. Report No. 82RN-1008 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1982c). Kathon™ 886 NAR cytogenetic study in mice. Report No. 81R-181 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1983a). ¹⁴C-Kathon® 886 biocide. DNA binding study. Report No. 82R-243 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993].
- Rohm and Haas (1983b). Kathon CG: 30-month dermal carcinogenesis study in male mice. Report No. 81R-288 [cyt. za: MAK Value Documentation 1993; SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1984a). Kathon 886 MMPA process: thirteen-week inhalation toxicity study in rats. Report No. 82R-245 [cyt. za: SCCS 2009; MAK Value Documentation 2007].
- Rohm and Haas (1984b). Evaluation of the toxicity of Kathon biocide [cyt. za: 6 Final Report... 1999].
- Rohm and Haas (1987). Kathon biocide: dermal/oral absorption study in male rats. Report No. 86R-041 [cyt. za: 6 Final Report... 1999].
- Rohm and Haas (1990). Test for chemical induction of unscheduled DNA synthesis in rat primary hepatocyte cultures by autoradiography. Report No. 90RC-168 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1991). Kathon WT 1.5%: acute oral toxicity study in male and female rats. Report No. 91R-019 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1992a). Kathon™ 886 MW acute test for chemical induction of chromosome aberration in mouse bone marrow cells in vivo. Report No. 92RC-0054 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1992b). Kathon biocide: oral (gavage) developmental toxicity study in rabbits. Report No. 91R-074 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1993). Kathon® 886F biocide evaluation of the upper airway irritation potential (RD50). Report No. 91RC-047 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1994). Kathon™ biocide: 24-month drinking water chronic/oncogenic study in rats. Report No. 90R-149 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1998). Kathon™ 886F biocide: two-generation reproductive toxicity study in rats. Report No. 96R-189 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1999a). Kathon® CG biocide acute oral toxicity study in rats and acute dermal toxicity study in rabbits. Report No. 80R-196A [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1999b). Kathon 886 MW 1.5% biocide: skin irritation study in rabbits. Report No. 84R-188A [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (1999c). Kathon® CG 1.5% preservative acute toxicity / irritation studies in rats and rabbits. Report No. 77R-060A [cyt. za: SCCS 2009].
- Rohm and Haas (2005). n-Methyl malonamic acid: bacterial reverse mutation (Ames) assay. Report No. 05RC-045 [cyt. za: SCCS 2009].
- Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. Dz.U. 2018 poz. 1286 z późn. zm.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych. Dz. Urz. UE L 342 z 22.12.2009, str. 59-209 z późn. zm.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008, str. 1-1355 z późn. zm.

- Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywy Komisji 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE. Dz. Urz. UE L 396 z 30.12.2006, str. 1-794 z późn. zm.
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), (2009). Opinion on the mixture of 5-chloro-2-methylisothiazolin-3(2H)-one and 2-methylisothiazolin-3(2H)-one. Colipa No. P56. Report No. SCCS/1238/09. European Commission, 2009 [https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_009.pdf, dostęp: 14.09.2021].
- Schettgen T., Kraus T. (2017). Urinary excretion kinetics of the metabolite *N*-methylmalonamic acid (NMMA) after oral dosage of chloromethylisothiazolinone and methylisothiazolinone in human volunteers. Arch. Toxicol. 91(12), 3835–3841.
- Schwensen J.F., Menné T., Andersen K.E. i in. (2014). Occupations at risk of developing contact allergy to isothiazolinones in Danish contact dermatitis patients: results from a Danish multicentre study (2009–2012). Contact Dermatitis 71(5), 295–302.
- Scribner H.E., McCarthy K.L., Moss J.N. i in. (1983). The genetic toxicology of Kathon biocide, a mixture of 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one. Mutat. Res. 118(3), 129–152.
- Stahl J. (2000). Acute skin sensitization study of test item Acticide 14 in guinea pigs by Magnusson Kligman method. TRC Ltd., Study No. 99/430-104T.
- SUVA (2021). Grenzwerte am Arbeitsplatz [https://www.suva.ch/de-CH/material/Richtlinien-Gesetzestexte/grenzw-erte-am-arbeitsplatz-aktuelle-werte#sch-from-search#mark=MAK&gnw-location=%2F, dostęp: 10.09.2021].
- Yang H.J., Kim H.J., Yu J. i in. (2013). Inhalation toxicity of humidifier disinfectants as a risk factor of children's interstitial lung disease in Korea: a case-control study. PLoS One 8(6), e64430.
- Wanner F.J., Hagan J.V. (1991). Kathon® 886F biocide acute inhalation toxicity study in rats. Rohm and Haas Report No. 91R-018 [cyt. za: SCCS 2009; CLH Report 2015].
- Ward P.J. (1994). Study to evaluate the potential of ACTICIDE 14 to induce unscheduled DNA synthesis in rat liver using an in vivo/in vitro procedure (sponsor: Thor Chemicals (UK) Ltd). Hazleton Europe, Study No. 1154/24 [cyt. za: SCCS 2009].
- Wiemann C., Hellwig J. (2001). Chloromethylisothiazolinone/Methylisothiazolinone 3:1 – open epicutaneous test in guinea pigs. BASF Laboratories Project ID N 31H0367/002132, Rohm and Haas Report No. 01RC-1030.
- Wright C., Gingold E., Venitt S. i in. (1983). Mutagenic activity of Kathon, an industrial biocide and cosmetics preservative containing 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-methyl-4-isothiazolin-3-one. Mutat. Res. 119(1), 35–43.

Adres do korespondencji/Contact details:

mgr inż. Katarzyna Konieczko
e-mail: Katarzyna.Konieczko@imp.lodz.pl
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8
POLAND

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE,
PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA
W NARAŻENIU NA 5-CHLORO-2-METYLO-2*H*-IZOTIAZOL-3-ON
I 2-METYLO-2*H*-IZOTIAZOL-3-ON (MASA REAKCYJNA 3: 1)

dr n. med. Marcin Rybacki
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na spojówkę i skórę.

sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na spojówkę i skórę.
Częstotliwość badań okresowych: co 2 – 4 lata.

Uwaga

Lekarz przeprowadzający badanie profilaktyczne może poszerzyć jego zakres o dodatkowe specjalistyczne badania lekarskie oraz badania pomocnicze, a także wyznaczyć krótszy termin następnego badania, jeżeli stwierdzi, że jest to niezbędne do prawidłowej oceny stanu zdrowia osoby przyjmowanej do pracy lub pracownika.

Narządy (układy) krytyczne

Brak narządów krytycznych podczas pracy w narażeniu na 5-chloro-2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on i 2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on (masa reakcyjna 3: 1).

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na 5-chloro-2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on i 2-metylo-2*H*-izotiazol-3-on (masa reakcyjna 3: 1) są zmiany skórne wywołane działaniem drażniącym lub uczulającym.

Uwaga

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy. O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz