

1992:

16. **Gunnevi Sundelin:**  
Electromyography of shoulder muscles – the effects of pauses, drafts and repetitive work cycles.
17. **Mats Hagberg and Åsa Kilbom (Eds):**  
International Scientific Conference on Prevention of Work-related Musculoskeletal Disorders. PREMUS, Sweden, May 12–14, 1992. Book of abstracts.
18. **Bengt-Olov Wikström:**  
Effekter av vridna kroppsställningar och helkroppsvibrationer. En fältundersökning med yrkesförare.
19. **Anders Iregren, Maria Tesarz och Ewa Wigaeus-Hjelm:**  
Exponering för metylisobutylketon. Psykofysiologiska effekter.
20. **Birgit Pingel och Hans Robertsson:**  
Arbetsorganisation inom sjukvården ur ett socialpsykologiskt perspektiv. En översikt över forskning och utvecklingsarbete inom landstingen.
21. **Gunnar Johanson och Elisabeth Lagerlöf (Eds):**  
Aktuell forskning om lösningsmedel i arbetsmiljön. Sammanfattning av några aktuella huvudområden.
22. **Elisabeth Åberg och Gunnela Westlander:**  
Kontorsarbetsplatser. Metodik för uppföljning av arbetsmiljön. Tre verklighetsanpassade modeller.
23. **May Hultengren, Ingemar Axelsson, Stina Johnsson och Gunnar Rosén:**  
Yrkeshygieniska risker vid ytbehandling i träindustrin. Exponering för formaldehyd och lösningsmedel vid industriell ytbehandling med syrahärdande färger och lacker.
24. **Nils F Petersson:**  
Stådarbete 1970–1990. Arbetsbelastning – risker och åtgärder.
25. **Gunnar Rosén, Ing-Marie Andersson, Leif Juringe och Lars Rask:**  
PIMEX. En metod för arbetsmiljöförbättringar.
26. **Gunnar Nordberg:**  
Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. 101. Kadmium.
27. **Per Lundberg:**  
NEG and DECOS Basis for an Occupational Standard. Methyl Chloride.
28. **Mats Hagberg, Jan Fridén, Ulf Järvholm, Ulf Lindblom, Steven J Linton och Berndt Stenlund:**  
Värk i nacke och skuldra – belastningsskador eller?
29. **Åsa Kilbom (Ed):**  
Early retirement and social security systems. – The situation of elderly workers in Denmark, Finland, Norway and Sweden.
30. **Björn Arvidson:**  
NEG and NIOSH Basis for an Occupational Health Standard. Ethyl ether.
31. **Björn Hellman:**  
NIOSH and NIOSH Basis for an Occupational Standard. Chlorobenzene.
32. **Désirée Gavhed och Ingvar Holmér:**  
Arbete i kyla. Beklädnad, värmebalans och fysiologisk påverkan.
33. **Petter Kristensen:**  
Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. 102. Uorganiska syreareosoler.
34. **Rolf Lindman:**  
Chronic trapezius myalgia – a morphological study.
35. **Per Garberg och Johan Högberg:**  
Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. 103. Selen.
36. **Gunnar Johanson och Pierre-Olivier Droz (Eds):**  
Pharmacokinetic modelling in occupational health. Proceedings from an international workshop held in Leysin, Switzerland, March 4-8, 1990.
37. **Anders Kjellberg, Ulf Landström, Maria Tesarz, Lena Söderberg och Elisabeth Åkerlund:**  
Betydelsen av icke-fysikaliska faktorer för bullerstörning i arbetet.
38. **Lars Järup:**  
Dose-response Relations for Occupational Exposure to Arsenic and Cadmium.
39. **Berndt Stenlund:**  
Osteoarthritis of the acromioclavicular joint and shoulder tendinitis and their relation to occupational factors and sports.
40. **Ralph Nisell och Eva Vingård:**  
Arbetsrelaterade sjukdomstillstånd i rörelseorganen.
41. **Per Malmberg, Hans Hedenström och Britt-Marie Sundblad:**  
Prospektiv undersökning av lungfunktion och kvartsexponering hos stenkrossare.
42. **Ulf Landström, Anders Kjellberg, Maria Tesarz och Elisabeth Åkerlund:**  
Samband mellan exponeringsnivå och störningsgrad för buller i arbetslivet.
43. **Staffan Skerfving:**  
Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. 104. Oorganiskt bly.
44. **Sture Holmberg:**  
Luftutbyte och ventilationskvalitet i rum.
45. **Bengt Sjögren och Carl-Gustaf Elinder:**  
Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. 105. Aluminium.
46. **Per Lundberg (Ed):**  
Vetenskapligt Underlag för Hygieniska Gränsvärden 13.

## Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation

# 108. Etylenbisditiokarbamat och etylentiourinämne

Kai Savolainen

## ARBETE OCH HÄLSA

Redaktör: Anders Kjellberg  
Redaktionskommitté: Åsa Kilbom, Elisabeth Lagerlöf, Anders Colmsjö och Nils Stjernberg.  
Grafisk produktion: Eva Nilsson  
© Arbetsmiljöinstitutet och författarna.

# 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 återopas 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.

Värderingen av det insamlade materialet och sammanställningen av detta dokument har utförts av professor Kai Savolainen, docent K.S., MKD Folkhälsoinstitutet, PO Box 95, SF-70701 Kuopio, Finland.

Dokumentförslaget har vid expertgruppens möte den 26-27 april 1993 antagits som dess dokument.

Brita Beije  
Sekreterare

Per Lundberg  
Ordförande

*Vid Arbetsmiljöinstitutet arbetar drygt 300 forskare med arbetslivets miljö. Forskningen leds av 30 professorer. Institutet bedriver i stor utsträckning tillämpad forskning, men vissa problemområden kräver också riktad grundforskning.*

*Institutets vetenskapliga kompetens finns inom sex olika ämnesområden: fysiologi, kemi, medicin, psykologi, teknik och toxicologi. Denna breda kompetens gör att olika problem kan angripas tvärvetenskapligt.*

*Institutet svarar för utbildning av företagsläkare, företagssköterskor, skyddsingenjörer, företagssjukgymnaster och beteendevetare inom företagshälsovården.*

*Information om arbetsmiljöforskning är en annan viktig uppgift för institutet.*

© Arbetsmiljöinstitutet och författarna 1993

ISBN 91-7045-229-6

ISSN 0346-7821

# Innehållsförteckning

1. Fysikaliska och kemiska data	1
2. Användning och förekomst	3
2.1. Användning	3
2.2. Yrkesexponering och exponering via föda	4
2.3 Bestämning av EBDC och ETU i arbetsmiljö och biologiska prover	6
3. Tokikokinetik	7
3.1 Upptag	7
3.1.1 Upptag via inhalation	7
3.1.2 Upptag genom hud	9
3.1.3 Upptag från mag-tarmkanalen	10
3.2 Distribution	10
3.3 Biotransformation	11
3.4. Utsöndring	12
3.4.1 Utsöndring via njurarna	12
3.4.2 Utsöndring via mag-tarmkanalen	14
3.5 Faktorer som påverkar den metaboliska modellen	15
3.6 Biologisk monitorering	15
4. Allmän toxicologi	16
4.1 Toxicologiska mekanismer	16
4.2. Akuttoxicitet	17
5. Organeffekter	17
5.1. Effekter på hud, slemhinnor och ögon	17
5.2. Effekter på lungor	18
5.3 Effekter på magtarmkanalen	18
5.4. Effekter på levern	18
5.5. Effekter på njurar	18
5.6 Effekter på blod och blodbildande organ	19
5.7. Effekter på centrala nervsystemet	19
5.8. Effekter på perifera nervsystemet	20
5.9. Effekter på tyreoidea och hypofysfunktioner	20
6. Immunotoxicologi och allergi	23
7. Genotoxiska effekter	24
8. Carcinogenicitet	25

9. Reproduktion och teratogenicitet	27
10. Förhållandet mellan exponering, effekt och respons	28
11. Behov av ytterligare forskning	30
12. Diskussion och utvärdering	32
13. Sammanfattning	34
14. Summary	35
15. Referenser	36

### Förkortningar:

Dietylamin = DEA  
 Elektronfångstetektor = ECD  
 Etylenbisdiisocyanatsulfid = EBIS  
 Etylenbisditiokarbamatfungicider = EBDC  
 Etylentiourinämne = ETU  
 Etylenurinämne = EU  
 Flamfotometrisk detektor = FPD  
 Gas(vätske)kromatografi = GLC  
 Högtrycksvätskekromatografi = HPLC

## Bakgrund

Etylenbisditiokarbamat (EBDC) hör till en grupp av organiska fungicider med vid användning. EBDC omfattar fem bredspektrum-fungicider; mancozeb, maneb, metiram, nabam och zineb (2). De används för att förhindra skördeskador och för att motverka en försämrad skörd orsakad av svampsjukdomar på bl a gurka, tomat, potatis och prydnadsväxter (130, 155). EBDC används även vid plantskolor för att skydda barrträdsplanter mot svampangrepp. Nabam och metiram har emellertid ingen större användning i Norden.

Flera översiktsartiklar har publicerats avseende användning, metabolism och effekter på däggdjur av etylentiourinämne (ETU) (130, 144). ETU används i gummiindustrin där arbetare kan exponeras avsevärt (130, 144). ETU är även den huvudsakliga metaboliten av alla EBDC och därför kan arbetare sägas bli exponerade för ETU då de exponeras för EBDC (81, 85, 130, 138). Exponering för EBDC och ETU kan även ske via föda som innehåller rester av EBDC och ETU. Dessutom transformeras EBDC i födan delvis till ETU vid tillagning. I Finland är medexponeringen av EBDC via födan beräknad till 10 mg årligen per person, dvs 0,4 µg/kg kroppsvikt dagligen för en person på 70 kg (85). Denna dos är mycket låg jämfört med rekommenderat tillåtet dagligt intag av EBDC från föda (81, 85).

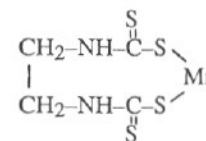
EBDC och ETU ger struma hos gnagare efter enstaka eller kronisk administration och ETU är dessutom en stark tyreoidea-carcinogen i gnagare efter långtidsexponering (18, 34, 41, 47, 130). Färsk data antyder att mancozeb också kan ge cancer i tyreoidea (sköldkörtel) (39). Exponering för EBDC och ETU har därför vällat oro och en toxicitetsbedömning måste anses viktig. I de nordiska länderna används mest EBDC-fungiciderna maneb, mancozeb och zineb. Metirams och nabams toxicitet diskuteras ej i detta dokument. Däremot görs en värdering av ETU eftersom arbetare kan exponeras dels direkt i gummiindustri, dels indirekt i jord- och skogsbruk.

## 1. Fysikaliska och kemiska data

### Maneb

Kemiskt namn	Mangan-1,2-etandiylobis(ditiokarbamat)
CAS nummer	12427-38-2
Synonym	Maneb; 1,2-Etandiylobis(karbamoditioat)-(2)-mangan
Formel	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> · Mn

Strukturformel



Molvikt	265,3
Smältpunkt	Sönderfaller innan det smälter



Ångtryck	<10 <sup>-8</sup> kPa
Täthet	1,92
Allmän beskrivning	Gult till brunt kristallint pulver eller ljust färgade kristaller; måttligt vattenlöslig, löslig i kloroform och pyridin, olöslig i de flesta organiska lösningsmedel; stabilt under normala förvaringsförhållanden men sönderfaller ganska snabbt vid kontakt med fuktighet eller syror; vattensuspensioner sönderfaller snabbt; måste förvaras i slutna originalbehållare i mörka och välventilerade utrymmen; innehåller små mängder etylentiourinämne som förorening.

#### Mancozeb

Kemiskt namn	Etylenbis(ditio-, mangan-zink-komplex)karbamat
CAS nummer	8018-01-7
Synonym	Mancozeb
Formel	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> Mn N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> · Zn

Strukturformel	[S · S · C · NH · CH <sub>2</sub> · CH <sub>2</sub> · NH · C · S · S · Mn] <sub>x</sub> [Zn] <sub>y</sub>
----------------	---

Molvikt	541,03
Smältpunkt	Sönderfaller innan det smälter
Ångtryck	Data saknas
Täthet	Varierar
Allmän beskrivning	Gult till grönt kristallint pulver; stabilt vid rumstemperatur (20-25 <sup>o</sup> C) men sönderfaller vid högre temperatur vid kontakt med fukt och syror; svårslösligt i vatten, lösligt i kloroform och pyridin, olösligt i de flesta organiska lösningsmedel; innehåller små mängder etylentiourinämne som förorening.

#### Zineb

Kemiskt namn	Zink-1, 2-etandiylobis(ditiokarbamat)
CAS nummer	12122-76-7
synonym	Zineb
Formel	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S <sub>4</sub> Zn

Strukturformel	$  \begin{array}{c}  \text{S} \\  \parallel \\  \text{CH}_2\text{-NH-C-S} \\    \qquad \qquad \qquad \diagdown \\  \text{CH}_2\text{-NH-C-S} \qquad \qquad \text{Zn} \\  \parallel \\  \text{S}  \end{array}  $
----------------	---

Molvikt	275,8
Smältpunkt	Sönderfaller innan det smälter
Ångtryck	<10 <sup>8</sup> kPa vid 20 <sup>o</sup> C
Täthet	Data saknas

Allmän beskrivning	Vitt kristallint pulver, stabilt vid rumstemperatur men sönderfaller vid högre temperatur eller vid kontakt med fukt och syror. Löslighet i vatten 10 mg/l, löslig i koldisulfid, pyridin och kloroform, olöslig i andra organiska lösningsmedel; innehåller små mängder etylentiourinämne som förorening.
--------------------	--

#### Etylentiourinämne

Kemiskt namn	N,N'-Etylentiourinämne
CAS nummer	96-46-8
Synonym	2-Imidazolidintion
Formel	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> S

Strukturformel	$  \begin{array}{c}  \text{CH}_2\text{-NH} \\    \qquad \qquad \qquad \diagdown \\  \text{C}=\text{S} \\    \qquad \qquad \qquad \diagup \\  \text{CH}_2\text{-NH}  \end{array}  $
----------------	--

Molvikt	102,2
Smältpunkt	192-195 <sup>o</sup> C, sönderfaller vid 200-203 <sup>o</sup> C
Ångtryck	Mycket lågt
Täthet	Data saknas
Allmän beskrivning	Vitt kristallint pulver, stabil i rumstemperatur vid pH 5,0-9,0, sönderfaller vid temperaturer över 43 <sup>o</sup> C eller vid kontakt med fukt eller syra; vattenlösligt 20-30 g/l, svårslösligt i etanol, olösligt i aceton, eter, kloroform och bensen, svårslösligt i ättiksyra vid rumstemperatur.

## 2. Användning och förekomst

### 2.1. Användning

Maneb, mancozeb och zineb används i de flesta nordiska länderna som fungicid i jord- och skogsbruk (81, 85). De utgör en viktig grupp av pesticider för utsäde under hela växtsäsongen. De används i de nordiska länderna för att förhindra mjöldagg på potatis och svampsjukdomar på barrträdsplanter.

I många länder sprutas EBDC på grödor som broccoli, brysselkål, kål, blomkål, äggplanta, vindruvor, sallad, champinjoner, lök, päron, paprika, selleri, gurka och tomat (6, 130, 158). Mancozeb används även som insekticid mot kvalster vilka angriper päron- och äppelträd. Trots omfattande användning finns i de flesta länder inga precisa siffror på använda mängder av EBDC. I Canada uppgick 1976 försäljningen av EBDC till mer än 300 ton, dvs mer än 35% av alla fungicider (130). I Finland var försäljningen av maneb och mancozeb 145 ton under 1989. Försäljningen ökade med 30 ton från 1988 till 1989. Under 1990 sjönk försäljningen med 6 ton till 139 ton (46).

Vanligen varierar förbrukningen av fungicider från ett år till ett annat beroende på väderförhållanden. Fuktighet ökar behovet av fungicider. Ett bra exempel på

det är Norge där den årliga förbrukningen mellan 1967 och 1990 varierat mellan 20 och 80 ton (aktiv substans) beroende på vädret (Kristensen, 1992, personligt meddelande). Å andra sidan har en långsam minskning i användning av EBDC skett i Danmark under de senaste åren. Förbrukningen sjönk från 1460 kg till 710 kg 1992 (Fries, 1992, personligt meddelande). På Island är den årliga förbrukningen av EBDC, (huvudsakligen mancozeb) ca 1000 kg (Gudbergsson, 1993, personligt meddelande). Förutom inom jordbruk används i hela Norden maneb och mancozeb i skogsbruk, i synnerhet i plantskolor, för att hindra svampsjukdomar på barrträd (81, 85, 138).

Exponering för ETU sker främst i gummiindustrin, där ämnet används för vulkanisering. Eftersom EBDC innehåller små mängder ETU som förorening kan exponering för ETU förekomma i jord- och skogsbruk. Dessutom biotransformerar EBDC delvis till ETU i däggdjur. Flera bakterietyper och reducerade ämnen som glutation och askorbinsyra kan orsaka nedbrytning av EBDC till ETU (161). Kokning av föda som spenat, potatis och morötter orsakar också delvis en nedbrytning av EBDC till ETU. Koncentrationen av ETU i föda har initialt varierat från 0,07 till 2,5 mg/kg, men efter tillagning har ETU-koncentrationen ökat ca 10 ggr (158). Under vissa speciella omständigheter är således exponering för både EBDC och ETU via föda möjlig. I öl har man till exempel påvisat 370 µg ETU/kg (97).

## 2.2. Yrkesexponering och exponering via föda

Endast få data finns tillgängliga avseende yrkesexponering för EBDC-fungicider eller ETU. I produktionsdelen av en kemiska fabrik, där även säckning och packning skedde, har luftkoncentrationer på mellan 2,2 och 2,5 mg mancozeb/m<sup>3</sup> uppmätts (130). Vidare har Voytenko et al (164) rapporterat en kortvarig luftkoncentration på 2,2-4,5 mg maneb/m<sup>3</sup> vid preparation av spraylösningar. Vid sprayning av potatis exponerades dock en sprayare för 0,25-0,55 mg maneb/m<sup>3</sup> (164). En andningshastighet på 14,4 m<sup>3</sup> luft (30 l)/min skulle hos en 70 kg man med lätt produktionsarbete under 8 timmar resultera i ett medelintag via andning på upp till 0,5 mg maneb/kg/dag, under förutsättning att EBDC i luft består av inhalerbara partiklar och att allt inandad material effektivt absorberas i lungorna (130). Upptaget är emellertid troligen inte fullständigt (81, 130) eftersom endast respirabla partiklar (0,2-5 µm i diameter) når alveolerna och kan absorberas. Relativt stora partiklar, som är typiskt för spraydimmor, deponeras i näsa och svalg och sväljs. Beräkningen överdriver därför troligen exponering via lungorna. Om en 70 kg sprayare inandas 30 l luft/min under en 8 timmars arbetsdag skulle han inandas 0,05-0,11 mg maneb/kg/dag om lufthalten var 0,55 mg/m<sup>3</sup> (164).

Kangas och medarbetare (61, 62) rapporterade en medellufthalt på 0,1-1,3 mg maneb/m<sup>3</sup> vid 8 timmars arbetsdag i skogsplantskola. Maneb-halten vid blandning var 6,7 mg/m<sup>3</sup> och vid vägning 12 mg/m<sup>3</sup>. Maini och Boni (95) rapporterade att nivån i arbetsplatsluft för mancozeb var 0,04-1,8 mg/m<sup>3</sup> och för zineb var 0,003-3,5 mg/m<sup>3</sup>. I medeltal var mancozebnivån ca 1 mg/m<sup>3</sup> och zinebnivån ca 1,5 mg/m<sup>3</sup>. Nilsson och Nygren (113) rapporterade att medelxponeringen för maneb vid preparation och fyllning av spraylösningen kunde vara så hög som 0,22 mg/m<sup>3</sup>. Under hela spraysäsongen var den högsta individuella exponeringen 0,05 mg/m<sup>3</sup>. För en 70 kg man, som andas 30 l/min och som exponeras under en 8

timmars arbetsdag för 1 mg maneb/m<sup>3</sup> och 1,5 mg zineb/m<sup>3</sup>, skulle den beräknade inandade mängden vara 0,21 resp 0,32 mg/kg/dag. Om man antar att 10% av den inhalerade dosen absorberas skulle den biologiskt signifikanta dosen vara 0,02 resp 0,03 mg/kg/dag. Även om endast 10% av den inhalerade dosen absorberas i lungorna kan en avsevärd andel av inandad EBDC överföras genom "clearance" till mag-tarmkanalen, där upptag kan ske. Det finns inga humandata om upptag av EBDC eller ETU via mag-tarmkanalen. Djurdata antyder dock att absorptionen kan vara avsevärd (11, 12) och bidra till upptag av EBDC och ETU i arbetsmiljön.

Savolainen et al (138) fann, med en ny masspektrometri-HPLC-metod (84, 86), att halten maneb i andningszonen var <0,02, 0,03 resp 0,77 mg/m<sup>3</sup> hos traktorförare, vid vägning resp blandning i skogsplantskola. Nivån ETU i andningszonen var 0,14 och 0,60 µg/m<sup>3</sup> och vid vägning 0,87 och 1,81 µg/m<sup>3</sup> hos potatisodlare resp skogsplantskolearbetare (138). I andra studier var ETU-nivåerna i andningszonen 0,01-0,80 µg/m<sup>3</sup> hos potatissprayare, samt sprayare och ogrärensare vid skogsplantskolor. Omgivningsluften innehöll 21 µg/m<sup>3</sup> vid användning av manebinnehållande fungicid medan ETU-halten var 843 ng/m<sup>3</sup> (81, 85). Denna exponering skulle resultera i en totalt inandad mängd på 302 µg EBDC och 12 µg ETU dagligen under 8 timmars arbetsdag för en 70 kg man som andas 30 l/min. Detta motsvarar en dos på 4,3 resp 0,17 µg/kg/dag. Acceptabelt dagligt intag för konsumenter är för ETU 2 µg/kg/dag och för EBDC 500 µg/kg/dag. Den beräknade yrkesmässiga exponeringen motsvarar 8,5 % resp 0,96% av det acceptabla dagliga intaget av ETU resp EBDC (85). Om man antar att 10% av inhalerad mängd absorberas skulle den dagliga dosen bli 0,4 µg EBDC/kg och 0,02 µg ETU per kg. Biologiskt signifikant inhalationsexponering av EBDC skulle således vara 0,4-30 µg/kg/dag och av ETU 0,002 µg/kg/dag.

I arbetsmiljö kan hudexponering för EBDC och ETU vara betydande. En sprayare som applicerar 2,25 kg EBDC/hektar torde få 22,5 µg/cm<sup>2</sup> på huden. Om en 70 kg man har en hudyta på 5040 cm<sup>2</sup> skulle dosen för hudexponering vara 0,11 g/applikation. Om fungiciden absorberades fullständigt skulle det motsvara 1,6 mg/kg kroppsvikt. Feldman och Maibach (28, 29) har dock visat att endast 0,88 % resp 0,3 % av administrerad dos av tiourinämne resp diquat penetrerar huden. Hudabsorption av mera fettlösliga ämnen kan vara flerfaldigt mer effektiv (28, 29, 102). Hudabsorption av EBDC torde vara mindre än av ETU beroende på lägre vattenlöslighet. Om man antar en hudpenetration på 1 % för EBDC, skulle en huddeposition av 0,11 g under en 8 timmars dag resultera i en systematisk dos på 16 µg/kg (28, 29). Om 5-10 % av EBDC är biotransformerad till ETU skulle ETU-dosen vara 0,08-0,16 µg/kg kroppsvikt (130). Beräkningarna för absorption av EBDC via andningsväg skulle bli 0,25-180 % av dermal absorption. Motsvarande för ETU skulle bli ca 0,6-1,2 % (81, 85, 138). Trots den stora osäkerheten talar nyare data för att det dermala upptaget har större betydelse än upptag via inandning både när det gäller EBDC och ETU (81, 85).

EBDC innehåller 0,02-1,3 % ETU som förorening. Efter en förvaringsperiod på 39 dagar ökar mängden ETU upp till 14,5 % av EBDC-mängden (8, 9). Detta är av betydelse eftersom de flesta pesticider ofta förvaras i långa tider. Hudpenetration av tiourinämne, en strukturanalog till ETU har hos människa visats vara endast 0,8 % av den applicerade dosen (28).

Trots den barriär huden utgör talar data för att dermalt upptag utgör den viktigaste exponeringsvägen för EBDC i arbetsmiljö (28, 29, 81, 85, 130, 138). En betydelsefull observation är att skyddskläder effektivt minskar hudupptaget. Kurttio et al (85) fann att den mängd ETU som nådde huden var 90-98 % lägre än den på skyddskläderna. Situationen är troligen densamma hos personer som exponerats för EBDC. Dessa fynd visar vikten av skyddskläder för att minska hudupptag av EBDC-fungicider.

#### Exponering för EBDC via födan

Arbetare kan även bli exponerade för EBDC via en rad födoämnen. Det finns flera olika metoder för att mäta EBDC i födoämnen (112). Maximal tillåten resthalt varierar från 0,1 mg/kg till 10 mg/kg beroende på födoämnesslag (130). Den vanligaste metoden att mäta EBDC-rester i föda inbegriper spektrofotometrisk bestämning av CS<sub>2</sub> som frigörs vid behandling med varm syra (120, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 149). Även HPLC-metoder har använts (37, 38, 126). Exponering för EBDC via födan överskrider normalt inte tillåtna gränsvärden (162) men för arbetare adderas den till yrkesexponeringen.

#### Exponering för ETU via födan

Arbetare kan även exponeras för ETU via födoämnen. Därför är det viktigt att mäta ETU i födan när man mäter arbetares totala exponering för EBDC och ETU. Ett flertal analysmetoder finns tillgängliga, t ex pappers- tunnsockers-, gaskromatografi och HPLC (40, 112, 116, 119, 120). Restmängder av ETU har undersökts i ett flertal födoämnen (6, 8, 9, 21, 107, 108, 115). Detektionsgränsen i gaskromatografiska metoder har angetts till 0,01 mg/kg (20, 40, 42, 72, 96, 117, 127, 128, 129, 131, 132, 143). Även med HPLC kan man detektera 0,01 mg ETU/kg i födoämnen. Exponering för ETU via födan överskrider normalt inte tillåtna gränsvärden (162) men för arbetare adderas den till yrkesexponeringen.

### 2.3 Bestämning av EBDC och ETU i arbetsmiljö och biologiska prover

Exponering för EBDC och ETU i arbetsmiljö kan ske via luftvägar och hud. Det är därför viktigt att kunna mäta dessa ämnen i arbetsplatsluft och i prover som reflekterar hudexponering. För biologisk monitorering måste man kunna mäta viktiga metaboliter i kroppsvätskor, speciellt i urin (85).

#### Analys av EBDC i luft

Nivåer av EBDC i arbetsplatsluft har mätts. Prover med maneb har samlats från andningszonen på arbetare som sprayat maneb i skogsplantkola. För provtagningen användes en personburen pump med membranfilter. Proven kokas i utspädd saltsyra och CS<sub>2</sub> som frigörs analyseras gaskromatografiskt med flamfotometrisk detektor (FPD) (61). Maini och Boni (91) samlade maneb och mancozeb med en portabel pump och membranfilter. Maneb analyserades efter upphettning i 30%-ig HCl och genom att mäta frigjord CS<sub>2</sub> gaskromatografiskt med ECD (95).

Nilsson och Nygren (113) samlade prover från andningszonen hos potatisodlare som exponerades för maneb. De använde membranfilter och en bärbar luftpump. Filtren våtföraskades genom upphettning i 2 ml salpetersyra: saltsyra: vatten;

2:1:1. Proven evaporerades till torrhet och löstes i vatten. Mangan i proven analyserades med atomabsorptionsspektrofotometer vid 279,5 nm. Savolainen et al (138) samlade prov av maneb på motsvarande sätt från andningszonen hos skogsplantskolearbetare. Maneb från kläder och hud samlades på lappar som satt på kläder och hud. Proven löstes i stark salpetersyra och mangan analyserades med atomabsorptionsspektrofotometer (113, 138). I luft kunde 0,03 mg/m<sup>3</sup> analyseras. Ett provisoriskt gränsvärde för zineb har varit 5 mg/m<sup>3</sup> och detta värde har endast i undantagsfall överskridits (62, 95, 138).

#### Analys av ETU i luft, på huden och i urin

Eftersom EBDC är olösliga i vatten, de flesta organiska lösningsmedel och i lipider, är det knappast troligt att de kan förekomma i biologiska vätskor. Biologisk monitorering av EBDC är därför praktiskt omöjligt genom att mäta EBDC per se. I stället är EBDC-metaboliter i urin eller blod de bästa kandidaterna för biologisk monitorering av EBDC.

Biologisk monitorering av EBDC eller ETU har inte varit möjlig förrän nyligen då känsliga mätmetoder inte funnits tillgängliga tidigare. Användning av dietylamin (DEA) i urin som indikator på EBDC exponering var inte lämplig då detektionsgränsen för DEA var för hög (62). Kurttio et al (84) har introducerat en ny HPLC metod med en detektionsgräns på 0,1 ng/l för bestämning av ETU i biologiska prover. Föreningarna identifieras slutligen med termosprayvätskekromatografi-masspektrometri (86). Metoden har använts för biologisk monitorering av EBDC genom mätning av ETU i andningszonluft, på huden och i urin (81, 85, 138).

## 3. Toxikokinetik

### 3.1 Upptag

#### 3.1.1 Upptag via inhalation

Lösligheten av EBDC i vatten och fett är låg. Detta minskar troligen absorptionen i lungalveolerna av inandad EBDC. I arbetsmiljön förekommer alla EBDC-fungicider som en lösningsmedel-partikel-luft-suspension eller en vattensuspension. Det finns inga data om partikelstorleksdistributionen i suspensionerna och en bedömning av proportionen inhaledbara partiklar är därför inte möjlig. Med hänsyn till den låga lösligheten kan man förmoda att upptag via luftvägarna är 10 ggr större än hudupptag. Feldman och Maibach (28, 29) har visat att hudpenetrationen av tiourinämne är ca 1 % och troligen kan samma siffra även användas för ETU och med viss reservation för EBDC. Detta skulle innebära att ca 10 % av inandad mängd skulle absorberas via lungorna. Denna bedömning tar dock inte med i beräkningen den mängd EBDC och ETU som förs från lungorna via "clearance" till mag-tarm-kanalen och som där kan ha betydelse för totalupptaget. Siffrorna för upptag via hud och inandning har dock använts i dokumentet vid bedömning av reellt upptag av EBDC och ETU via hud och inandning.

Det finns inga djurdata avseende upptag via inandning av mancozeb, maneb, zineb eller ETU.



**Maneb.** Maini och Boni (95) har rapporterat att nivåerna av ditiokarbamater, speciellt thiram, i fabriksrum är under det provisoriska gränsvärdet (ACGIH, 1984-1985) på 5 mg/m<sup>3</sup>. Med deras metod återfanns 86,5 ± 21,6 % av maneb-innehållande formuleringar. I andra studier har medalexponeringen för maneb under en arbetsdag varit från 0,03 mg/m<sup>3</sup> (138) till 1,3 mg/m<sup>3</sup> (62). För en 70 kg man med en minutventilation på 30 l skulle detta resultera i en inandad dos, varierande mellan 8 och 270 µg/kg/dag. Med 10 % absorption motsvarar det en biologiskt signifikant dos på 0,8-27 µg/kg/dag. Nilsson och Nygren (113) fann att det tidsvägda medelvärdet under 8 timmars arbetsdag, vid exponering för maneb, var 0,05 mg/m<sup>3</sup>. Hos en 70 kg man skulle detta motsvara en daglig dos på 13,2 µg/kg och en biologiskt signifikant dos på 1,3 µg/kg/dag. Exponering för en luftkoncentration på 0,03 mg maneb/m<sup>3</sup> skulle på motsvarande sätt ge en biologiskt signifikant dos på 0,8 µg/kg. Under samma tid var ETU-koncentrationen i urin 0,9-1,5 µg/l, vilket tyder på att bara en liten del av ETU i urin kan förklaras av upptag av maneb och dess biotransformation till ETU (138). Kurttio et al (85) beräknade luftkoncentrationen av maneb till 21 µg/m<sup>3</sup>. På motsvarande sätt som ovan motsvarar det en biologiskt effektiv dos på 0,4 µg/kg, vilket bara kan förklara en liten del av ETU-koncentrationen i urin (85).

Tillgängliga data talar för att exponering för maneb spelar en mindre roll då urinutsöndringen av ETU börjar 3 timmar efter exponering (81, 85). En förklaring till försenad absorption av maneb och dess långsamma eliminering som ETU kan vara den långsamma transporten genom "clearance" till mag-tarmkanalen.

**Mancozeb.** Maini och Boni (95) har rapporterat mancozebkoncentrationer på mellan 0,042 och 1,78 mg/m<sup>3</sup>. För en 70 kg man med 30 l minutventilation skulle det för en 8 timmars dag innebära en biologiskt aktiv dos på mellan 0,8 och 37 µg mancozeb/kg kroppsvikt. Kurttio och Savolainen (81) och Kurttio et al (85) har mätt utsöndringen av ETU i urin hos potatisodlare exponerade för en 56%-ig mancozeb och en 80 %-ig maneb formulering. Även om det inte är möjligt att exakt uppskatta mängden inandad maneb och mancozeb för bildning och utsöndring av ETU, har den en mindre betydelse för ETU-utsöndringen i urin. Hudexponering spelar troligen en större roll eftersom tiden till utsöndring av ETU efter avslutad exponering var 3 timmar eller mer hos de undersökta odlarna. Nilsson och Nygren (113) uppmätte ett tidsvägt medelvärde av mancozeb i andningszonen till 0,05 mg/m<sup>3</sup> med en högsta koncentration på 0,22 mg/m<sup>3</sup>. Resultaten är i överensstämmelse med tidigare studiers vad avser mancozebexponering (81, 85, 95).

**Zineb.** Maini och Boni (95) har rapporterat zinebkoncentrationer på mellan 0,042 och 3,48 mg/m<sup>3</sup>. Enligt samma modell som ovan skulle det för en 70 kg man innebära en biologiskt signifikant dos på mellan 0,8 och 72 µg/kg dagligen. Den höga zinebkoncentrationen överbetonar troligen mängden zineb i luft eftersom topparna vanligen är korta.

**Etylentiourinämne.** Inhalation av 0,14 resp 0,6 µg ETU/m<sup>3</sup> har uppmätts i andningszonen hos arbetare vid skogsplantaskola resp potatisfält. Vid vägning och blandning av manebformuleringar var ETU-halten 0,87 resp 1,81 µg/m<sup>3</sup> (138). Då urinutsöndringen av ETU var 1523 ng hos potatisfältarbetare, och 866 ng för skogsplantaskolearbetare, inom 3 timmar efter avslutad exponering, kan mängden inhaled ETU bara förklara en mindre del av den utsöndrade. I en annan studie på potatisodlare exponerade för maneb, med ETU som förorening, var

exponeringen för ETU under en 4-timmars period 0,07 µg/kg med en beräknad biologiskt aktiv dos på 0,007 µg/kg. Eliminering av ETU började 3 timmar efter exponeringens slut. Denna lilla mängd inhaled ETU bidrar till liten del till den utsöndrade mängden ETU (85). Kurttio och Savolainen (81) fann att exponeringen för ETU hos potatisfältsprayare, samt sprayare och ogräsbekämpare i skogsplantaskolor var 0,14-0,8, 0,6 resp 0,01 µg/m<sup>3</sup>. Vid vägning av EBDC varierade ETU-halten mellan 0,9 och 1,8 µg/m<sup>3</sup>. Den inhaled biologiskt signifikanta ETU-dosen bidrog troligen mycket litet till mängden ETU i urin, vilken varierade mellan 498 och 3746 ng/24 timmar.

### 3.1.2 Upptag genom hud

Mycket litet är känt om hudabsorption av EBDC eller ETU. Feldman och Maibach (28, 29) har dock visat att 0,88 % av en applicerad dos tiourinämne absorberas genom hud. Man kan nog använda siffran för att bedöma hudpenetration av ETU och, med större osäkerhet, av EBDC.

**Maneb.** Det finns inga direkta humandata över upptag av maneb via hud. Savolainen et al (138) har mätt lufthalt av maneb och ETU och utsöndringen av ETU hos skogsplantaskolearbetare. Av resultaten att döma kan inte inhaled dos maneb eller ETU förklara mängden ETU i urin, dvs mängden i urin är större än vad som kan erhållas vid fullständig absorption av inhaled maneb eller ETU. Det finns således indicier på att hudupptag till stor del kan svara för den mängd maneb som kommer in i kroppen. Dessa data stöds av senare studier där exponering för maneb hos potatisodlare och skogsplantaskolearbetare undersöktes (81, 85).

**Mancozeb.** Det finns inga direkta bevis på hudupptag av mancozeb hos människa eller försöksdjur. Exponeringen för maneb eller mancozeb var 21 µg/m<sup>3</sup> under en 4 timmars period hos potatisodlare och skogsplantaskolearbetare. Under förutsättning av 100 % absorption i lungorna skulle den dagliga dosen hos en 70 kg man med 30 l minutventilation var 151 µg, eller 2,2 µg/kg (85). Under en 22-dagars period var den dagliga ETU-utsöndringen i urin hos dessa arbetare mellan 0,05 och 0,5 µg/mmol kreatinin. Detta tyder på att huden är den huvudsakliga upptagsvägen för mancozeb. Liknande resultat har också erhållits i en annan studie (81).

**Zineb.** Det finns inga data avseende hudupptag av zineb hos människa eller försöksdjur.

**Etylentiourinämne.** Det finns inga experimentella data på upptag av ETU via hud. Feldman och Maibach (28, 29) har visat att 0,8 % av en dos tiourinämne penetrerar human hud. Man torde kunna använda samma siffra för beräkning av hudupptag av ETU hos yrkesverksamma. Kurttio et al (85) analyserade i detalj hudexponering för ETU hos 29 potatisodlare. Exponeringen bedömdes med provlappar på kläder och hud. På kläderna var ETU-koncentrationen mellan 5 och 45 ng/cm<sup>2</sup> på armar, lår, mage och rygg. På motsvarande platser på huden var koncentrationen mellan 0,05 och 5 ng/cm<sup>2</sup>. Kontamineringshastigheten på kläderna på rygg, mage, skuldror och underarmar var 5, 2, 9 resp 14 ng/cm<sup>2</sup> per timme. Motsvarande siffror för huden var 0,07, 0,19, 0,39 resp 0,17 ng/cm<sup>2</sup> per timme. Således når endast 1,2-10 % av mängden ETU på kläderna fram till huden vid dessa omständigheter.

### 3.1.3 Upptag från mag-tarmkanalen

Elimination av ETU via urin som följd av exponering för EBDC-fungicider och ETU tyder på att ETU i luft också kan komma in i kroppen via mag-tarmkanalen även om det saknas direkta data på gastrointestinal absorption av EBDC eller ETU (81, 85, 138). Trots att det inte finns direkta bevis kan EBDC och ETU nå mag-tarmkanalen från lungorna via "clearance" och sväljning. Alternativt kan ämnena överföras till munnen från arbetarnas kontaminerade händer och därigenom bidra till absorption via mag-tarmkanalen.

**Maneb.** Det finns inga humandata på upptag av maneb via mag-tarmkanalen. Brouwer och Schlatter (11) har visat att oralt administrerad [<sup>14</sup>C]-maneb snabbt bryts ned i råttors tarm och att exkretionen av radioaktivitet är nästan fullständig inom 3 dagar. Mängden [<sup>14</sup>C] utsöndrad i urin var mellan 33 och 57 % och i feces mellan 40 och 63 %. I utandningsluften utsöndrades 0,24-0,60% av den radioaktiva dosen. Resultaten tyder på att en avsevärd del av den maneb som når mag-tarmkanalen absorberas och utsöndras i urin. Studier av Brouwer och Schlatter (11) med [<sup>54</sup>Mn]-maneb visade att mangan bildar komplex med katjoner i tarmen. Komplexbildningen som sker vid samtidig administration av t ex Fe (III), Zn (II), Hg (II) eller Cu (II) salter minskade signifikant mängden utsöndrad [<sup>14</sup>C] i urin och utandningsluft. Katjoner i födan kan således minska absorptionen av maneb i mag-tarmkanalen. Kurtzio et al (82) har visat att nabam, en vattenlöslig strukturanalog till maneb, snabbt och effektivt absorberas i mag-tarmkanalen. När nabam gavs i dricksvatten utsöndrades 14-24 % av dosen i urin som ETU under en 28 dagars administrationsperiod. Nabams vattenlöslighet ökar troligen absorptionen.

**Mancozeb och Zineb.** Det saknas data på absorption av mancozeb och zineb från mag-tarmkanalen hos människa och försöksdjur.

**Etylentiourinämne.** Det finns inga humandata på absorption av ETU från mag-tarmkanalen. Däremot finns det försöksdjursdata. Två rhesusapor, honor, och fyra Sprague Dawley råttor erhöll [<sup>14</sup>C]-ETU genom intubation i magen och utsöndringen följdes i 48 timmar. Hos aporna utsöndrades 47-64 % av radioaktiviteten i urin och endast 1,5 % i feces under observationsperioden. Hos råttor utsöndrades under samma tid 82 % av radioaktiviteten i urin och bara 1,3 % i feces (1). Detta indikerar att ETU, givet i magsäcken, snabbt absorberas från mag-tarmkanalen hos apa och råtta. Rudich et al (133) gav en enstaka oral dos [<sup>14</sup>C]-ETU till gravida råttor. Inom 24 timmar hade 72,8 % av radioaktiviteten utsöndrats i urin, med en topp inom 2 timmar. Detta tyder också på att absorptionen är snabb och nästan fullständig. I denna studie visades även att en mycket liten del av administrerad ETU hade biotransformerats. Kurtzio et al (82) gav ETU i dricksvattnet till han-Wistar råttor under 28 dagar. Dosisnivåerna var 100, 200 resp 300 mg/l (10,6, 17,6 resp 23,4 mg/kg/dag). Andelen utsöndrad ETU ökade proportionellt mot den dagliga dosen och var 25 %, 36 % resp 49 % av den dagliga dosen i genomsnitt.

### 3.2 Distribution

**Maneb.** Det finns inga data över maneb's distribution i människa. Hos råtta var de huvudsakliga metaboliterna av maneb i urin ETU, DEA och

etylenbistiisocyanatsulfid (EBIS) (11, 12). När vattenlösliga metaboliter av maneb väl bildats är de troligen jämnt distribuerade i kroppsvätskorna och utsöndras i urin.

**Mancozeb.** Det finns inga data över distribution av mancozeb i människa eller försöksdjur.

**Zineb.** Det finns inga humandata över distribution av zineb. Hos försöksdjur biotransformerar zineb snabbt till vattenlösliga produkter (10, 59, 94, 103, 159). Dessa är troligen jämnt distribuerade i kroppen. Dock utsöndras en avsevärd del av oralt administrerad zineb i feces (11, 59).

**Etylentiourinämne.** Det finns inga humandata över distributionen av ETU. Sex timmar efter en oral administrering av [<sup>14</sup>C]-ETU till gravida råttor, fanns 25 % av radioaktiviteten i njurar, 25 % i blod, 23 % i lever och 12 % i fostren (133). När [<sup>14</sup>C]-ETU gavs oralt till rhesusapa återfanns efter 48 timmar 47-64 % av radioaktiviteten i urin, 0,4-0,6 % i feces, 8,15 % i muskler, 2-4 % i blod, 1,5-3 % i hud och 0,9-1,2 % i lever. Hos råttor var radioaktiviteten jämnt distribuerad i vattenfasen och snabbt eliminerad i urin (1). Kato et al (63) har i detalj studerat distributionen av ETU hos gravida råttor. De fann att ETU som en funktion av tid ackumulerades i sköldkörteln, men för övrigt var jämnt distribuerad.

### 3.3 Biotransformation

**Maneb.** Det finns endast få humandata. Studier på arbetare antyder att absorberad maneb biotransformerar till ETU och utsöndras som ETU i urin (81, 85, 86, 138). Autio och Pyysalo (4) fann att, när [<sup>14</sup>C]-maneb administrerades oralt till hanmöss, 10 % av radioaktiviteten återfanns i urin under en 22-timmars period. Jordan och Neal (59) gav [<sup>14</sup>C]-maneb, löst i olivolja, oralt till hanmöss (ND/4(S)BR). Cirka 16 % av radioaktiviteten i urin förekom som [<sup>14</sup>C]-ETU. Huvuddelen av radioaktiviteten i urin bestod av okända polära ämnen. I mindre grad biotransformerar maneb även till EBIS och DEA. Men 91 % av dosen återfanns som oförändrad maneb i feces. Mängden i urin var 1,3 % av den oralt administrerade dosen av [<sup>14</sup>C]-maneb (59). Engst och Schnaak (23) har rapporterat om bildning av etylentiurammonosulfid från maneb hos råttor. De visade också (24, 25) att ETU, EBIS, etylentiurammonosulfid och DEA kan bildas från maneb in vitro. Engst et al (26) har visat att flera av maneb's biotransformationsprodukter, t ex etylenbistiurammonosulfid och -disulfid, inhiberar peroxidaser och ureaser hos råttor och mus på ett dosberoende sätt.

**Mancozeb.** Data från yrkesexponerade indikerar att mancozeb åtminstone delvis biotransformerar till ETU och utsöndras i urin (81, 85). Det finns inte några djurdata över mancozeb's biotransformation. Analogt med maneb är det troligt att mancozeb också biotransformerar till olika vattenlösliga produkter.

**Zineb.** Det saknas humandata över zineb's biotransformation. Jordan och Neal (59) visade att när hanmöss erhöll [<sup>14</sup>C]-zineb oralt återfanns 90,4 % av radioaktiviteten som zineb i feces och 9,6 % som vattenlösliga produkter i urin. Av dessa utgjorde 15,2 % ETU, 1 % EU, 81 % oidentifierade polära produkter och 2,7 % andra oidentifierade produkter. Engst och Schnaak (23) fann i råtturin ETU, EBIS och etylenbistiurammonosulfid, vilket konfirmerats av in vitro studier (24, 25). I överensstämmelse med fynden av Engst et al (26) föreslog Lowy et al (94) att zineb effektivt inhiberar "mixed function" oxidas i råttlever. Zineb och

strukturanalogen nabam, orsakade vid dosen 1 mmol/kg kroppsvikt, en minskning av aminopyrins och anilins biotransformation i råttmikrosomer. Båda fungiciderna reducerade P-450 nivån och inducerade bildning av inaktivt P-450 (104). Villa et al (1599) visade att zineb i kanin inhiberade aktiviteten av gammaglutamyltransferas och alkaliskt fosfatas i lever. Borin et al (10) visade, liksom Miladi et al (104), att zineb inhiberade biotransformationen av aminopyrin och anilin samt orsakade en denaturering av P-450 till P-420. En liknande enzymaktivitetsinhibition orsakades av EBIS medan ETU inte hade någon effekt. Meneguz och Michalek (103) har visat att zineb inhiberar mikrosomal "mixed function" oxidasaktivitet i rätt- och muslever. ETU hade inte denna effekt.

Maneb, mancozeb och zineb tycks inhibera sin egen biotransformation. Meknismen är oklar men data indikerar att dessa ämnen kan inhibera "mixed function" oxidassystemet, en huvudväg vid biotransformationen av dem. Detta tycks ske genom att denaturera aktivt P-450 till inaktivt P-420 (10, 103, 104).

**Etylentiourinämne.** Det finns inte några humandata över ETUs biotransformation. Savolainen och Pyysalo (139) har visat att nedbrytningen av ETU innefattar oxidation av svavelatomen med 2-imidazolin-2-ylsulfat som huvudprodukt. Iverson et al (56) fann att efter exponering av katt och råtta för [<sup>14</sup>C]-ETU var huvudprodukterna i 24-timmarsurin imidazolin, etylenurinämne, 4-imidazolin-2-on och oförändrad ETU. Man fann även S-metyl-ETU. Biotransformationen var mer omfattande hos katt vilket kan förklara bristen på teratogena effekter (56). Kobayashi et al (74) har senare identifierat 1-metyltiourinämne i urin från råtta som exponerats oralt för 200 mg ETU/kg kroppsvikt. I gravida råttor absorberades [<sup>14</sup>C]-ETU snabbt och radioaktiviteten utsöndrades i urin. I denna studie (63) identifierades emellertid inte biotransformationsprodukterna. ETU tycks inte påverka "mixed function" oxidasaktiviteten i rätt-, mus- eller kaninlever (103, 159).

### 3.4. Utsöndring

#### 3.4.1 Utsöndring via njurarna

**Maneb.** Utsöndring av ETU i urin har rapporterats hos arbetare som exponerats för maneb innehållande EBDC (138). När manebhalten i luft varit 0,03-0,77 mg/m<sup>3</sup> var utsöndringen av ETU i urin 866 ng/l/timme vid 3 timmar och 395 ng/l/timme vid 40 timmar efter exponeringens upphörande. Eftersom lufthalten av ETU var 0,6-1,8 µg/m<sup>3</sup> var utsöndringen troligen orsakad av exponering för maneb via luftvägar och hud (138). Kurttio et al (85) fann att den troligaste absorptionsvägen hos yrkesexponerade är via hud. Halveringstiden för utsöndring via njurarna var omkring 100 timmar. Värdet är dock något missvisande eftersom studien inte tillät en bedömning av de tidigare faserna vid elimination av ETU (85). En mera detaljerad analys av ETU-utsöndring efter exponering för maneb eller mancozeb visade på en halveringstid för urinutsöndring av ETU på 32-37 timmar. Resultatet är i överensstämmelse med antagandet att hud är den viktigaste absorptionsvägen (81).

Brocher och Schlatter (12) fann att utsöndringen i urin av [<sup>14</sup>C] hos råtta följde första ordningens kinetik, dvs påverkades inte av storleken av en enstaka oral dos [<sup>14</sup>C]-maneb mellan 23 µg och 1,4 mg per kg. Andelen utsöndrad radioaktivitet

var då stabil, 48,8±12,6 %. De föreslog även (11) att absorptionen av maneb i mag-tarmkanalen var proportionell lägre vid låga doser p g a inhibering av katjoner. I en annan studie utsöndrades mer än 90 % av radioaktivt [<sup>54</sup>Mn] inom 35 timmar i feces efter oral administration av [<sup>54</sup>Mn]-maneb till råtta. Däremot utsöndrades 33-57 % av en oralt given dos [<sup>14</sup>C]-maneb inom 72 timmar i urin. Mellan 43 och 66 % av radioaktiviteten utsöndrades i feces och 0,24-0,6 % i utandningsluften (11). Dessa data pekar på att maneb bryts ner i tarmen och till en del absorberas och utsöndras i urin. Den Mn-innehållande delen absorberas inte lika lätt i tarmen. När [<sup>14</sup>C]-maneb gavs oralt till möss utsöndrades 91 % av radioaktiviteten i feces och enbart 9 % i urin inom 48 timmar (59). Omkring 15 % av radioaktiviteten i urin var ETU och resten oidentifierade polära föreningar. Även Antio och Pysalo (4) har visat att den huvudsakliga urinutsöndringsprodukten efter exponering för maneb är ETU. Absorption och eliminering av maneb tycks påverkas av nedbrytning i tarmen, den givna dosen och djurarten. Data indikerar att huvudmetaboliten från absorberad maneb är ETU.

**Mancozeb.** Kurttio och Savolainen (81) och Kurttio et al (85) har visat att arbetare som exponeras för mancozeb-innehållande EBDC utsöndrar ETU i urin med en halveringstid på 32-37 timmar efter en 4 timmars exponering. Data indikerar att den viktigaste upptagsvägen är via hud p g a att den lilla inhalationsexponeringen inte kan förklara mängden utsöndrad ETU. Det finns inte några djurexperimentella data över utsöndring av mancozeb.

**Zineb.** Det finns inte några humandata över utsöndring av zineb. Jordan och Neal (59) har visat att inom 48 timmar efter en oralt given dos [<sup>14</sup>C]-zineb till råtta utsöndras 90,4 % i feces och 9,6 % i urin. Av metaboliterna i urin bestod 15 % av ETU, 1 % av EU och resten av polära och andra oidentifierade produkter. Camoni et al (16) mätte ETU i urin hos råttor som oralt erhållit 50 mg zineb/kg. Utsöndringen av ETU hade en topp vid 24 timmar efter administration, varvid 52 % av total mängd ETU hade utsöndrats. Av dosen utsöndrades 5,2 % som ETU, varav 86 % i urin och 14 % i feces. Kurttio et al (82) har visat att under en 28 dagars administrering av nabam, en vattenlös analog till zineb, utsöndrades 14-21 % av dosen som ETU. Andelen ETU i urin av den givna dosen minskade när nabamdosen ökade, möjligen beroende på att nabam inhiberar sin egen biotransformation. Fynden överensstämmer med andra resultat som visat att EBDC inhiberar sin egen metabolism i lever (10).

**Etylentiourinämne.** Hos trädplantaskole- och potatisarbetare har en 4-timmars exponering för maneb beräknats ge en inhalationsdos på 100 µg maneb och 2 µg ETU (138). Hudexponeringen var mer uttalad under dessa arbetsförhållanden med flera hundra µg maneb och flera µg ETU. Elimineringen kunde följas som ETU i urin och visade en fördröjd eliminering med en halveringstid på 32-37 timmar (81). För kinetiska detaljer, se ovan under utsöndring av maneb och mancozeb.

Newsome (110) visade att efter oral administration av en dos [<sup>14</sup>C]-ETU till råtta utsöndrades 65 % inom 24 timmar. Hos marsvin var motsvarande siffra 45 %. Hos möss återfanns 53 % av radioaktiviteten i feces och 47 % i urin efter 48 timmar. Av radioaktiviteten i urin var 52,3 % ETU, 12,1 % EU och 37,2 % andra oidentifierade polära produkter (59). Brocker och Schlatter (11) noterade att när råttor erhållit en oral dos [<sup>14</sup>C]-ETU var utsöndringen av radioaktivitet i feces fullbordad inom 10-15 timmar och i urin inom 15-20 timmar. Detta tyder på god



absorption av ETU i mag-tarmkanalen och halveringstiden beräknades till 4-7 timmar i båda fallen. När ETU gavs i dricksvatten till råttor under 28 dagar ökade urinexkretionen av ETU från 25 till 49 % av dosen när den dagliga dosen ökades från 10,6 till 23,4 mg/kg. Detta motsäger fynden att ETU inte påverkar sin egen biotransformation i levern (103, 159). När [<sup>14</sup>C]-ETU gavs till gravida råttor var eliminationen från blodet (mödrarnas) fullbordad inom 48 timmar. Av dosen utsöndrades 85 % i urin tydande på en halveringstid i blod på 8 timmar och för utsöndring på 8-9 timmar (63, 133). Liknande resultat för råttor redovisas av Brocher och Schlatter (11). Hos rhesusapa tycks den primära exkretionsvägen vara via njurarna eftersom 46-64 % av en oral dos av [<sup>14</sup>C]-ETU utsöndrades i urin. Hos råttor utsöndrades inom 48 timmar i medeltal 82 % av en given dos ETU. Utsöndringshastigheten hos rhesusapa var 0,24-0,41 % av dosen per ml. För råttor har någon utsöndringshastighet inte beräknats (1). Kobayashi et al (74) identifierade 1-metyltiourinämne som metabolit av ETU i urin. Savolainen och Pyysalo (139) föreslog att 2-imidazolin-2-ylsulfat var den huvudsakliga metaboliten hos möss. Detta har inte konfirmerats av andra, vars resultat visar att ETU huvudsakligen utsöndras i urin som sådant (1, 59, 83, 82). Iverson et al (56) identifierade imidazolin, EU och oförändrad ETU som produkter vid utsöndring i urin.

#### 3.4.2 Utsöndring via mag-tarmkanalen

**Maneb.** Det saknas humandata över utsöndring av maneb via mag-tarmkanalen. Brocher och Schlatter (11) har visat att maneb som givits oralt till råttor snabbt bryts ner i tarmarna och utsöndringen är nästan total inom 3 dagar. När honråttor erhållit 4-10 mg [<sup>54</sup>Mn]-maneb utsöndrades ca 40 % av radioaktiviteten i feces. Inom 24 timmar var absorptionen nästan fullständig (>95 %). Författarna (11) drog slutsatsen att absorptionsgraden inte korrelerade till dosens storlek då naturligt förekommande katjoner kan minska maneb-absorptionen i tarmarna. Jordan och Neal (59) fann att när möss gavs en oral dos på 0,05-0,25 mmol [<sup>54</sup>Mn]-maneb/kg utsöndrade 91-93 % i feces inom 48 timmar. Antio och Pyysalo (4) noterade att då möss givits [<sup>54</sup>Mn]-maneb oralt utsöndrade 50 % inom 22 timmar och 18 % av radioaktiviteten återfanns i feces.

**Mancozeb.** Det finns inga data på utsöndring av mancozeb från mag-tarmkanalen hos människa eller försöksdjur.

**Zineb.** Det finns inga humandata över utsöndring av zineb via mag-tarmkanalen. Jordan och Neal (59) visade att då möss erhöill 0,25 mmol zineb/kg kroppsvikt oralt, utsöndrades ca 90 % i feces inom 48 timmar.

**Etylentiourinämne.** Det finns inte några humandata avseende utsöndring av ETU via mag-tarmkanalen. När 40 mg [<sup>14</sup>C]-ETU/kg gavs genom intubering i magen till Sprague Dawley-råttor och rhesusapor återfanns endast 1,5 % av radioaktiviteten i feces inom 48 timmar. Då gravida Wistar-råttor erhållit 100 mg [<sup>14</sup>C]-ETU/kg oralt, utsöndrades 0,5 % via mag-tarmkanalen (63). Ruddick et al (133) fann att när gravida råttor erhållit [<sup>14</sup>C]-ETU som en enstaka oral dos på 240 mg/kg, mindre än 10 % av radioaktiviteten utsöndrades i feces. Iverson et al (56) visade att mindre än 20 % utsöndrades i feces hos råttor och katt efter en dos [<sup>14</sup>C]-ETU. Newsome (110) fann att när 20 mg ETU/kg givits oralt till råttor och marsvin, utsöndrades endast 1,06 % i feces hos råttor och 0,78 % marsvin. Jordan

och Neal (59) noterade att andra sidan att 51,8-53,3 % av ETU-dosen utsöndrades i feces hos möss inom 48 timmar när den orala dosen var 0,05-0,25 mmol/kg.

Det går inte att fastställa mekanismerna för utsöndring av EBDC och ETU via mag-tarmkanalen eftersom det helt saknas studier över exkretion via galla. Denna utsöndringsväg är betydelsefull för många föreningar. Detta skulle kunna studeras genom att man studerar utsöndring via mag-tarmkanalen efter administrering både oralt och intravenöst.

#### 3.5 Faktorer som påverkar den metaboliska modellen

Brocher och Schlatter (11) har visat att katjoner, t ex i födan, kraftigt kan minska absorptionen av maneb. Analogt torde samma förhållande gälla för mancozeb och zineb, då båda kan komplexbinda katjoner. De visade även (12) att utsöndringen av maneb i urin följer första ordningens kinetik efter en enstaka dos, dvs utsöndringen är inte beroende av dosen vid doser mellan 23 µg/kg och 1,4 g/kg. Kurttio et al (86) fann däremot att en förlängd oral administration av nabam minskar utsöndring som ETU vid höga doser troligen p g a inhibering av den egna biotransformationen i lever. Detsamma gäller andra EBDC-fungicider (10, 26, 104) och tiuramer (35, 36, 135). Både nabam och zineb inhiberar flera leverenzym liksom biotransformationen av anilin och aminopyrin (10, 104). Meneguz och Michalek (103) visade att zineb inhiberar "mixed function" oxidas-systemet i rått- och muslever. Kurttio et al (86) fann att ETU inte påverkar sin egen utsöndring i urin. Detta är i överensstämmelse med Menegu och Michaleks (103) fynd att en enstaka dos på mellan 50 och 600 mg/kg orsakar en dosberoende ökning i levermikrosomernas anilinhydroxylasaktivitet utan att påverka aminopyrin-N-demetylasaktiviteten eller den totala mängden mikrosomalt P-450. Det är dessutom visat in vitro att alla identifierade zineb-metaboliter, främst ETU, EBIS, etylenbistiuramdisulfid och etylenbistiurammonosulfid, inhiberar på ett dosberoende sätt peroxidaser och ureaser. Vilken betydelse dessa fynd kan ha för biotransformationen av EBDC och ETU återstår att klarlägga.

#### 3.6 Biologisk monitorering

Biologisk monitorering är här mätning av en pesticid eller dess metaboliter i kroppsvätskor hos yrkesmässigt exponerade personer, samt bestämning av absorberad dos genom att använda information om pesticidernas farmakokinetik i såväl människa som försöksdjur. Jämfört med hygieniska mätningar i arbetsplatsluft (58, 81, 85, 138) har biologisk monitorering fördelen att ge en integrerad bedömning av absorberad dos från alla exponeringsvägar, som hud, mag-tarmkanal och luftvägar (137). Eftersom faktorer som variationer i luftkoncentrationen, fysisk ansträngning och lungventilation är av betydelse för absorptionen (136) är biologisk monitorering på exponerade arbetare i de flesta fall att föredra framför hygieniska mätningar (137). När det gäller EBDC-fungicider måste biologisk exponeringsmonitorering ske genom att mäta metaboliter, företrädesvis i urin, eftersom EBDC är olösliga i fysiologiska vätskor och de flesta lösningsmedel (se kap 1; 137).

Att sätta hygieniska gränsvärden för EBDC-fungicider kan vara irrelevant för exponeringsbedömningen. Orsaken är att upptaget snarare sker via huden än

genom inandning av luftburna aerosol. Eftersom hudupptag dominerar och förhållandet mellan hudexponering, absorption och biologisk dos är okänd torde ett hygieniskt gränsvärde ha ett begränsat värde. Exponeringsbedömningen för dessa ämnen bör baseras på biologisk monitorering, helst ETU i urin. Fokus bör vara riktat mot provinsamlingens tidsmässiga förhållande till upphörd exponering och mot accepterad ETU-nivå i urin vid accepterad tidpunkt (137).

**Maneb.** Mätningar av maneb i arbetsplatsluft beskrivs i kapitel 2. Maneb kan p g a sin olöslighet inte mätas i biologiska vätskor. Det bryts dessutom ner snabbt i mag-tarmkanalen (11). Vid försök att mäta DEA i humanurin har nivåerna legat under detektionsgränsen (62). Kurtio et al (84, 86) har använt en känslig GC och GC-MS metod för att mäta ETU i biologiska vätskor som urin. Metoden (känslighet 0,1 µg/l) har med framgång använts för att mäta ETU i urin från maneb-exponerade arbetare (81, 85, 138).

**Mancozeb.** Tillgängliga data talar för att ETU är huvudmetaboliten från mancozeb (81, 85). Mätning av ETU i urin kan därför användas för biologisk monitorering av mancozeb exponerade arbetare (81, 85).

**Zineb.** Hos gnagare är ETU huvudmetaboliten från zineb (16, 23, 24, 25, 59). Även om zinebs biotransformation inte studerats på människa torde ETU vara den lämpligaste metaboliten för biologisk monitorering av exponerade arbetare (84, 86).

## 4. Allmän toxikologi

### 4.1 Toxikologiska mekanismer

De toxikologiska mekanismerna hos EBDC-fungiciderna maneb, mancozeb och zineb och deras metabolit, ETU, är dåligt kända. Detsamma gäller också för EBDCs strukturella analoger, nämligen tiuramer (135). Gemensamt för toxiciteten hos EBDC, ETU och tiuramer är det stora antalet målorgan med olika toxiska mekanismer. Huvudmålet för de toxiska effekterna hos EBDC-fungicider och ETU är funktionen hos hypofys-tyreoideaaxeln, tyreoidea självt, utvecklingstoxicitet, framförallt teratogenicitet samt hudsensibilisering.

Laisi et al (87) visade, i råttor, att en enda dos av EBDC-fungiciderna maneb och zineb, samt ETU, stör tyreoideakörtelns humoral aktivitet. De drog slutsatsen att maneb (20-200 mg/kg i.p.) och zineb (70-500 mg/kg i.p.) hämmar TSH sekretionen i råttor via en effekt på endogent TRH på hypotalamus- eller hypofysnivån. I denna studie hade inte ETU (100-500 mg/kg i.p.) någon effekt på serum TSH-halter. Ingen av föreningarna hade någon effekt på serumhalterna T<sub>3</sub> eller T<sub>4</sub>. Den föreslagna mekanismen för effekten var hämningen av dopamin-beta-hydroxylas, vilket leder till en ackumulering av dopamin (DA) och minskning av adrenalin i hjärnan. Ökad halt av DA i hjärnan liksom av av dopamin-beta-hydroxylashämmarna, disulfiram och dietylditiokarbamat, minskar TSH-sekretionen från hypofysen efter en enda hög dos (154). Å andra sidan fann Kurtio et al (83) att nabam och ETU minskade serumhalten av T<sub>4</sub>, samt ökade på motsvarande sätt serumhalterna av TSH efter administration av föreningarna i dricksvattnet under 28 dagar. Båda inducerade ultrastrukturella förändringar i tyreoideamorfologi. Författarna drog slutsatsen att de ultrastrukturella

förändringarna skulle kunna vara knutna till, och äga rum genom, morfologiska förändringar i tyreoidea efter långtidsbehandling med EBDC-fungicider eller ETU. Målet för dessa effekter är sköldkörteln, i vilken hämningen av jodackumuleringen orsakar överdriven stimulering av TSH från hypofysen. Dessa observationer stämmer överens med fynd som indikerar att en kontinuerlig tillförsel av maneb eller zineb orsakar stimuleringen av tyreoidea genom TSH, kombinerat med en minskad förmåga hos tyreoidea att koncentrera jod leder till tyreoidea hyperplasi (53) och cancer (18, 34, 39).

ETU är välkänt för dess teratogena aktiviteter hos gnagare (71) men mekanismerna för denna effekt är inte kända. Emellertid kan man inte utesluta förändringar i funktionen är det primära målet för ETUs teratogena effekt. Detsamma gäller för EBDC-fungicider genom metaboliten ETU. Vissa författare har också funnit att zinkinnehållande EBDC är mindre benägna att inducera teratogenicitet hos gnagare än de som saknar zink i molekylen (122). Andra (89) har föreslagit att en bindning av zink (en viktig kofaktor i många enzymer) till EBDC som saknar zink i molekylen skulle kunna ligga bakom de teratogena effekterna av EBDC.

### 4.2. Akuttoxicitet

Akuttoxiciteten hos EBDC-fungicider och ETU har studerats systematiskt. I de flesta fall är emellertid data gamla och renheten hos föreningarna kan ha påverkat de toxiska resultaten. I tabell 1 visas LD<sub>50</sub>-värden för EBDC-fungiciderna maneb, mancozeb, zineb och ETU i gnagare. Tillgängliga data indikerar att den akuta oraltoxiciteten hos alla EBDC-fungicider och ETU är låg (86).

Substans	Djurart	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Referens
Maneb	Råtta	4500 - 4800	26, 90
	Mus	>8000	90
Mancozeb	Råtta	12500 - 14000	52
Zineb	Råtta	5200 - 9400	52
	Mus	6500 - 9200	52
Etylentiourinämne	Råtta	1830	33

## 5. Organeffekter

### 5.1. Effekter på hud, slemhinnor och ögon

Det finns bara en fall-rapport om maneb i vilken maneb-inducerad pellegraliknande allergisk kontaktdermatit associerades med utbredda vitiligo-fläckar i ansiktet, på halsidorna, bälgen, armarnas framsida och genitalia (93). För övrigt har endast sensibiliserande effekter hos EBDC-fungicider och ETU beskrivits (13, 109).



## 5.2. Effekter på lungor

Det finns inga humana eller experimentella djurdata på effekterna av maneb, mancozeb, zineb eller ETU på lungor. En metabolit av ETU, nämligen tiourinämne (TU), ökade emellertid signifikant permeabiliteten i lungans blodkärl för färgämnet Evans Blue när det gavs intraperitonealt. Dessutom var den TU-inducerade ökningen av kärlpermeabiliteten som svar på TU hos könsmogna råttor associerad med en motsvarande ökning av histaminnivåer i lunga och plasma (32).

## 5.3 Effekter på magtarmkanalen

Det finns inga humandata på effekter av maneb, mancozeb, zineb eller ETU på magtarmkanalen. För att undersöka effekter av EBDC-fungicider och ETU på det autonoma nervsystemets kontroll av magtarmkanalen, fick hanråttor av Wistar-stam 4 dagliga intraperitoneala doser (200 mg/kg) av maneb, zineb eller ETU. Både maneb, zineb och ETU minskade acetylkolinesteras (AChE) och non-spezifisk kolinesteras (nsChE) aktiviteten i tarmkanalens väggar hos exponerade råttor. Dessa förändringar indikerar att EBDC har en effekt på autonoma inervationen i tarmarna och detta kan påverka tarmperistaltiken hos exponerade råttor. Periquet och Derache (121) fann att intragastrisk dosering av nabam orsakade allvarlig inflammation i tarmarna hos råttor efter 28 dagar.

## 5.4. Effekter på levern

Det finns inga humandata på effekterna av EBDC eller ETU på leverns funktion eller morfologi. Borin et al (10) har visat, i överensstämmelse med Miladi et al (104), att zineb hämmar metabolismen av aminopyrin och anilin, samt denaturerar P-450 till P-420. EBDC och ETU har inte orsakat morfologiska förändringar i levern hos experimentdjur.

## 5.5. Effekter på njurar

Det finns en fall-rapport över manebinducerad njursvikt efter yrkesmässig exponering. En 62-årig man hade spridit maneb över ca 200 m<sup>2</sup> trädgård och togs senare in på akutmottagning p g a oliguri, diarré och heshet. Klinisktkemiska data pekade på akut njursvikt; serumhalterna av BUN, kreatinin och kalium var 1,4 g/l, 0,14 g/l och 5,8 mEq/l vardera. Minskning av ST segment i V4-6, reciprok höjning av ST segment i V1-3 och inverterade T-vågor i V5 och V6 kunde avläsas på ECG. Både njursvikten och ECG abnormaliteterna försvann efter hemolys. Författarna drog slutsatsen att det var möjligt att maneb förorsakade den akuta njursvikten (77). Kurtio et al (86) fann inga förändringar i njurfunktioner eller morfologi när råttor exponerades för 50, 100 eller 200 mg nabam/l dricksvatten under 28 dagar. När råttor exponerades under samma tidsrymd för 100, 200 eller 300 mg ETU/l dricksvatten fann man istället ett ökat antal lysosomer och myelinfigurer liksom även vakuolisering och ödem i epitelcellernas cytoplasma i

de proximala tubuli (86). Dessutom fann Periquet och Derache (121) att höga doser nabam i födan (210 - 490 mg/kg/dag under 28 dagar) orsakar njurekroser och allvarliga skador i njurfunktionen hos råtta. Sammantaget antyder dessa resultat att njurar inte är särskilt känsliga målorgan för EBDC eller ETU toxicitet och fallrapporten med manebinducerad akut njursvikt hos människa skulle kunna vara en tillfällighet.

## 5.6 Effekter på blod och blodbildande organ

Det finns en fall-rapport med en bonde som hade exponerats för zineb under 4 timmar under en förmiddag (123). Fysisk examination visade på ett allvarligt tillstånd med en gul och gråblå hård hud samt mörkbrun urin. Det fanns ett ökat antal Heinzkroppar i erytrocyterna och normoblastisk hyperplasi (ökning av antalet röda blodkroppar med kärna) i benmärgen. Följande dag blev patienten semikomatos och cyanosen ökade. På fjärde dagen blev hans tillstånd kritiskt och hemoglobinet föll till 4,7 g/l, men tillståndet stabiliserades med blodtransfusion och cortison. Patienten skrevs ut 2 veckor efter intagning på sjukhuset. Under ett kontrollbesök 4 månader senare befanns han vara i god kondition. Signifikansen hos denna fallrapport återstår att verifiera. Senare studier visade att när helblod inkuberades med 5 mg/ml zineb ökade bildningen av Heinzkroppar. Författarna drog slutsatsen att exponering för zineb kan förorsaka en ökad bildning av Heinzkroppar samt akut hemolytisk anemi. Det finns inga andra humana eller experimentella djurdata över effekterna av EBDC-fungicider eller ETU på blod eller blodbildande organ. Det finns inga data över individuell känslighet mot hematopoetiska effekter av EBDC eller ETU hos människa.

## 5.7. Effekter på centrala nervsystemet

Akut förgiftning av en arbetare p g a exponering för maneb och zineb har beskrivits i en fallrapport (49, 50). En frisk 42-årig man sprayade EBDC-lösning, som innehöll både maneb och zineb, på en gurkplantering 2 ggr under 1 vecka. Beteendestörningar som bestod av medvetlöshet och konvulsioner uppenbarade sig efter det att han vandrat genom planteringen efter den första sprutningen. Hemipares (halvsidig lätt förlamning) på höger sida med diffus långsam rytm i elektroencefalogramet (EEG) förekom efter den andra exponeringen. Både beteendestörningarna och symptomen från centrala nervsystemet försvann inom ett par dagar. Ett EEG var normalt 2 veckor senare. På grund av att tillförlitlig exponeringsinformation saknas återstår att klargöra signifikansen av denna händelse varför den inte kan utvärderas på detta stadium. Det finns inga andra data över neurotoxiska effekter av EBDC-fungicider eller ETU hos människa.

Thuránzky et al (153) fann att disulfiram och tiuramer, såsom tetrametyl-tiuramdisulfid, orsakade en signifikant minskning av orienteringshypermotilitet och samtidigt en sänkning av den subkortikala EEG-aktiviteten. Författarna drog slutsatsen att hämning av dopamin-beta-hydroxylas var involverat i dessa effekter av tiuramer, vilka inte iakttagits hos råttor som exponerats för EBDC-fungiciderna maneb eller zineb. Komulainen och Savolainen (80) studerade huruvida cerebral

dopaminergisk D<sub>2</sub>-receptorbindning påverkas hos råttor som exponerades för maneb, nabam, zineb eller ETU. Ingen av dessa föreningar tycktes orsaka förändringar i cerebrala D<sub>2</sub>-receptorbindningen vid doser som var kraftigt toxiska (68).

Khera & Tryphonas (70) fann, i sin tur, att en enda dos på 15 eller 30 mg/kg ETU inducerade tidiga histologiska förändringar i CNS hos råttfoster när ETU gavs på dräktighetens trettonde dag. Histologisk studie påvisade förekomsten av karyorexis (cellkärnans sönderfall) i det germinala lagret av basala lamina i CNS som sträcker sig från thorax ryggmärg till telencephalon 12 timmar efter behandling med 30 mg/kg ETU. Hjärnventrikulär insida var fokalt blottad, neuroepitelceller var arrangerade i rosettform och proliferationen av nervceller var desorganiserad. Khera (68) undersökte neurotoxiciteten hos ETU med monocellager, som innehöll en blandning av neuronala och icke neuronala (primära glia) celler, vilka erhållits från växande celler som dissocierats från trypsinerade fosterhjärnor från dräktiga (19:de dagen) råttor. ETU orsakade nekros i monocellagren in vitro samt en påtaglig sänkning i bildningen av neuriter och fascikler utan någon noterbar förändring i de icke-neuronala cellerna. I en in vitro studie inducerade en oralt administrerad engångsdos på 30 eller 45 mg/kg ETU nekros i neuroblaster i foster CNS, 18 och 24 timmar efter dosering (68).

### 5.8. Effekter på perifera nervsystemet

Det finns inga humana eller experimentella djurdata på de neurotoxiska effekterna av maneb, mancozeb, zineb eller ETU.

### 5.9. Effekter på tyreoida och hypofysfunktioner

**Maneb, mancozeb och zineb.** Det finns inga data på effekterna av maneb, mancozeb eller zineb på tyreoida eller hypofysfunktioner hos människa. Emellertid fann Laisi et al (87) att maneb (20 - 200 mg/kg i.p.), hos råttor, signifikant reducerade den köldstimulerade TSH responsen medan den inte hade någon effekt på den TRH-stimulerade TSH sekretionen. Zineb (70-500 mg/kg i.p.), sänkte signifikant TSH explosionen, som inducerades av köldstimulering. Maneb eller zineb påverkade inte serum T<sub>3</sub> eller T<sub>4</sub> nivåerna. Det tycks som om maneb och zineb hämmar råttors TSH sekretion efter en hög engångsdos genom en verkan på endogent TRH på hypotalamus eller hypofys nivå. Författarna föreslår att mekanismen skulle kunna vara hämningen av dopamin-beta-hydroxylas i hjärnan (se 106). Kurtio et al (83) fann att nabam, en strukturell analog till maneb och zineb minskade serum T<sub>4</sub>-halter och ökade serum TSH-halter när det gavs i dricksvatten till råttor under 28 dagar, vid doser mellan 8,4-30,5 mg/dag. Korttidsexponering av nabam orsakade emellertid inga morfologiska förändringar i tyreoida.

Ivanova-Chemishanska et al (53) gav, under tre dagar, 0,1 LD<sub>50</sub>-dos av vardera maneb, mancozeb eller zineb till råttor. LD<sub>50</sub> för dessa föreningar framgick inte i papperet. EBDC orsakade en minskning av follikeldiametern från ungefär 50 µm hos kontrollråttor till 40 µm i de exponerade råttorna. Den histologiska bilden var liknande för alla kemikalier som studerades, men det var mest uppenbart hos manebbehandlade djur. Det mest anmärkningsvärda i elektronmikroskopiska

bilden var dilatationen av det granulära endoplasmiska nätverket i follikelcellerna hos de råttor som behandlats med maneb, mancozeb eller zineb. Den viktigaste slutsatsen i studien av Ivanova-Chemishanska (53) var att subakut behandling av råttor med maneb, mancozeb eller zineb ledde till en ökad funktionell aktivitet hos tyreoida. Den intrafollikulära hyperplasin och bildningen av mikrofolliklar ledde till markant ökad tyreoidaavikt hos maneb- och mancozebbehandlade råttor. Detta är troligen processer som händer senare, efter det att körtelns funktionella begränsning uppnåtts.

Zinebbehandlade råttor visade ingen tyreoidaahyperplasi, kanske på grund av en skyddande effekt hos zink, t.ex. vid enzymatisk oxidation av jod. Ivanova et al (51) gav råttor en enda peroral dos på 3,5 g/kg maneb eller 2,4 g/kg zineb. Maneb orsakade en 80 % och zineb en 90 %, reduktion i ackumuleringen av I<sup>131</sup> i tyreoida. Denna antityreoida effekt hos maneb och zineb kan mycket väl förklara deras effekter på utvecklingen av follikulära hyperplasier efter långtids-exponering. I en annan studie gav Ivanova-Chemishanska et al (54) zineb i peroral doser, ekvivalenta med 1 eller 10 % av LD<sub>50</sub>-dosen, till råttor under 4,5 månader. Den högre dosen av zineb orsakade tyreoidaahyperplasi i de exponerade råttorna. Förändringarna överensstämde med en långtidsstimulering av tyreoida av TRH (se också 83, 87). Fynden med en enda hög dos och långtidsadministration av maneb och zineb överensstämmer med antagandet att EBDC-fungiciderna maneb, mancozeb och zineb har en stark antityreoid effekt, kanske både på tyreoida och hypotalamushypofysnivån. Emellertid, fann man, i samma grupp, öknings på upp till 80 % i upptaget av I<sup>131</sup> av tyreoida 5 dagar efter doseringen med zineb till råttorna, vilket antyder att effekten av EBDC på tyreoidaaktiviteten är övergående. Szépvölgyi et al (150) gav Wistar hanråttor 0, 10, 50, 75, 113, 169, 253, eller 359 mg/kg mancozeb i födan under 12 veckor. Mancozeb inducerade dosberoende tyreoidaahyperplasi i de exponerade råttorna vilket var kopplat till ett minskat innehåll av jod i förhållande till tyreoidaavikten och proteinbundet jod. Studien visade klart att tyreoida är målorgan för mancozeb.

Ivanova-Chemishanska et al (55) har också studerat effekterna av 4,5 månaders administration av 1 % och 10 % av LD<sub>50</sub>-dosen av zineb på blodhalterna av gonadotropiska och tyrotropiska (TSH) hormoner. Zineb ökade på ett dosberoendesätt blodnivån av båda hormonerna. Dessa öknings associerades med morfologiska förändringar i hypofysen, dvs ökat antal av basofila celler i främre hypofysen som en indikation på en ökad hypofysaktivitet. Förändringarna i morfologin hos hypofys och ökade halter gonadotropiskt hormon var förknippat med en fullständig eller nära fullständig förlust av Leydig-celler i manliga gonader och ersättning av theaceller med fibrocyter i honganoder. Hos honor var de interstitiella cellerna känsligast för effekten av zineb och de var påverkade redan vid 0,002 LD<sub>50</sub>-dos av zineb. Författarna föreslår att hypofysförändringarna skulle kunna vara sekundära till de perifera effekterna av zineb. I ljuset av senare observationer (83, 87) är dessa slutsatser kanske inte helt korrekta. Därför har även effekten av zineb på gonaderna hos både hon- och hanråttor rapporterats i detta kapitel.

**Etylentiouria.** Amith (145) studerade effekterna av ETU på tyreoida-funktionerna hos arbetare under framställning av föreningen. Kliniska undersökningar och tyreoidaefunktionstester utfördes under en period av 3 år på 8 processarbetare, 5 blandare och matchade kontroller. Resultaten visade att de

exponerade blandarna, men inte de exponerade processarbetarna, hade påtagligt lägre halter av totatyroxin (T<sub>4</sub>) jämfört med kontrollerna. En blandare hade en avsevärt förhöjd halt av serum TSH. Detta är den enda rapporten över effekter av ETU på tyreoidaefunktioner hos människa.

Laisi et al (87) kunde inte demonstrera effekter av ETU på hypofystyreoidaxelns humoral aktivitet efter en enstaka dos till råttor, medan Kurtzio et al (83) fann att peroral administration av ETU i dricksvattnet under 28 dagar märkbart minskade halten av serum T<sub>4</sub> och ökade halten av serum TSH. På liknande sätt fann O'Neil och Marshall (118) att ETU i dieten ökade serum TSH-halten och serum T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub>-förhållandet i 90 dagars studier med Sprague Dawley råttor, troligen på grund av en partiell hämning av tyreoidahormonsyntesen. Dessutom minskade också ETU signifikant serumhalten T<sub>4</sub>. Resultatet visade ett minskat upptag av (I<sup>131</sup>) av tyreoida både hos han- och honråttor. ETU hämmade till och med användningen av monoioderad tyrosilrest och reducerade signifikant den aktiva syntesen av T<sub>3</sub> och T<sub>4</sub> prohormoner. I denna subkroniska råttstudie fann man inga evidens för att ETU skulle hämma T<sub>4</sub> till T<sub>3</sub> monodejodinerings eller interferera med de normala feed-back-mekanismerna för tyreoidahormoner på TSH-sekretionen. ETU gavs till Sprague Dawley råttor under 90 dagar; 1 ppm (0,05 mg/kg/dag), 5 ppm (0,25 mg/kg/dag), 25 ppm (1,2 mg/kg/dag), 125 ppm (6,1 mg/kg/dag) eller 625 ppm (31,2 mg/kg/dag) i födan. De två högsta dosnivåerna av ETU orsakade en mycket markant sänkning av serum T<sub>3</sub> och T<sub>4</sub> halterna och i samma råttgrupper var serum TSH-halterna dosberoende förhöjda. Råttor som åt 625 ppm (32,2 mg/kg/dag) ETU i födan, uppvisade också en minskning i jodupptaget i tyreoida. Dessutom fann man tyreoidahyperplasi hos råttor som ätit 125 ppm (6,2 mg/kg/dag) eller 625 ppm (31,2 mg/kg/dag) ETU i dieten. Sålunda var "no-effect level" för ETU med avseende på funktionella och morfologiska förändringar i tyreoida 25 ppm (1,2 mg/kg/dag) (30).

Graham och Hansen (38) gav ETU till hanråttor av Osborne Mendel-stam i födan; 50 ppm (2,5 mg/kg/dag), 100 ppm (5 mg/kg/dag), 500 ppm (25 mg/kg/dag) eller 750 ppm (37,5 mg/kg/dag) i 30, 60, 90 och 120 dagar. Den akuta orala LD<sub>50</sub> dosen för ETU var 1380-2560 mg/kg, (medelvärde 1830 mg/kg). ETU orsakade en dosberoende minskning av djurens viktökning, ökade förhållandet mellan tyreoida och kroppsvikten, liksom även vikten av tyreoida i de exponerade råttorna. De tre högsta dosnivåerna av ETU hämmade (I<sup>131</sup>) jodupptaget i tyreoida och de två högsta dosnivåerna orsakade tyreoidahyperplasi. "No-effect levels" av ETU avseende funktionella eller morfologiska förändringar i tyreoida var 50 ppm (2,5 mg/kg/dag). Resultat från en annan studie (34) med han- och honråttor av Charles River-stam, med exponeringstider på 12 månader och ETU-doser mellan 5 ppm (0,25 mg/kg/dag) och 500 ppm (25 mg/kg/dag) konfirmerade i stort sett resultaten från den tidigare studien av Graham och Hansen (33) med Osborne-Mendel råttor. Kameda (60) rapporterade strumaeffekter hos hundar efter 6 månaders administrering av 1 g/l ETU i dricksvattnet. Under exponeringen ökade tyreoidavikten hos hundarna cirka 30 gånger och folliklarnas insida varvades med epithelium. Folliklarna var också i stort sett i avsaknad av kolloid redan 1 månad efter påbörjandet av ETU-administrationen. I en annan studie (3), fick grupper av han- och hon Sprague Dawley-råttor dieter som innehöll 75, 100 eller 150 ppm (3,7, 5, eller 7,5 mg/kg/dag) ETU under 7 veckor. Några råttor avlivades 2, 3, eller 4 veckor efter det att ETU-behandlingen upphört. Under

ETU-exponering observerades en dosberoende minskning av viktökningen, en ökning av tyreoidavikten och en minskning av serum T<sub>4</sub>-halten. Dessa förändringar försvann delvis efter det att ETU tagits bort från dieten, vilket indikerar en reversibilitet hos ETU-inducerade tyreoidaeffekter, åtminstone efter en kort tids exponering.

Newsome et al (112) gav, under 28 dagar, 25, 50 eller 100 ppm (1,2, 2,5, eller 5 mg/kg/dag) ETU till Sprague Dawley han-råttor. I denna studie hade ETU endast en svag effekt på tyreoidavikten, men den ökade tyreoida/kroppsviktsförhållandet. I denna studie gavs ETU emellertid tillsammans med NaBr (0-2000 ppm; 0-100 mg/kg) och föreningarnas sammanlagda toxicitet kan ha modifierat effekten av ETU på tyreoida. Inga tecken på förstärkning av ETU-inducerade tyreoidaeffekter av NaBr upptäcktes.

Tillgängliga bevis indikerar att tyreoida är det viktigaste målorganet för EBDC-fungicider och ETU. De ETU-inducerade funktionella och morfologiska förändringarna i tyreoida tycks vara åtminstone partiellt övergående. "No effect-level" för antityreoidaeffekterna av ETU var 1,2 mg/kg/dag för råttor.

## 6. Immunotoxikologi och allergi

Det finns inga data över immunotoxiska effekter av maneb, mancozeb, zineb eller ETU hos människa förutom hudsensibilisering. I en tre-veckors studie med Wistar-han-råttor, minskade zineb, vid en dosnivå på 2500 ppm (125 mg/kg/dag), den relativa thymusvikten (163). Det finns inte några andra data på immunotoxiciteten av EBDC-fungiciderna eller ETU.

Nater et al (109) rapporterade flera fall av allergisk sensibilisering på grund av maneb-exponering i arbetet. Lapptestning med manebliknande föreningar visade inget regelbundet mönster av korsensibilisering. Matsushita et al (100) utförde en epidemiologisk studie i ett jordbruksområde i Japan från 1968 till 1970 med 216 patienter med kontaktdermatit, och han fann en koppling mellan exponering av EBDC-fungicider och allergisk kontaktdermatit. Maneb, mancozeb och zineb inducerar sensibilisering med en hög incidens både bland kvinnliga (17 %) och manliga (23 %) jordbruksarbetare som exponerats för dessa EBDC-fungicider. Lisi och Caraffini (93) rapporterade en 68 år gammal jordbruksarbetare med en mycket allvarlig pellagroid dermatit efter exponering för manebinnehållande fungicider. Burry (14) rapporterade flera fall av kontaktdermatit bland jordbruksarbetare som exponerats för mancozebinnehållande lösningar i Australien. Fynden verifierades genom lapptestning. Kleibl och Rácková (73) rapporterade också flera allvarliga fall av kutan allergisk reaktion mot mancozeb och zineb bland jordbruksarbetare i Tjeckoslovakien. Patienterna lapptestades med 0,002 % lösning av mancozeb och zineb och reaktionerna bland de exponerade individerna var alla positiva medan inga positiva reaktioner återfanns bland kontrollerna. Matsushita et al (99) har, genom att använda marsvinsmaximeringstest, visat att maneb, mancozeb och zineb hade en stark allergisk potens. Korsensibilisering bland maneb, mancozeb och zineb var också stark. Sensibiliseringsegenskaperna hos maneb, mancozeb och zineb ansågs mycket större än tiuramer, t ex disulfiram, tiram, ferbam eller ziram, uppvisat i marsvinsmaximeringstestet (101).



Matsushita et al (99) fann att ETU också har sensibiliserande egenskaper i marsvinsmaximeringstest, men sensibiliseringsegenskaperna var mycket svagare än de hos maneb, mancozeb eller zineb. Dessutom förekommer det inte någon stark korsensibilisering mellan ETU och maneb, mancozeb eller zineb. Det finns även humandata på sensibiliseringsegenskaperna av ETU. Rudzki et al (134) visade att bland 200 individer som lapptestades, visade ETU endast mycket svaga eller inga sensibiliseringsegenskaper alls. Det finns emellertid en fallrapport av Bruze och Fregert (13) på ETU-inducerad kontaktdermatit som även visade korsensibilisering med maneb.

Baserat på experimentella djur- och humandata, anses maneb, mancozeb och zineb som potenta sensibiliserare medan ETU är en svag sensibiliserare. I arbetsmiljön, bör sensibiliseringsegenskaperna hos maneb, mancozeb och zineb särskilt beaktas.

## 7. Genotoxiska effekter

**Maneb.** Moriya et al (105) studerade mutageniciteten hos pesticider i ett bakteriereversionstestsystem med 5 *Salmonella typhimurium*-stammar (TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537 och TA 1538) och *Escherichia coli*-stammen WP2 hcr. Studierna utfördes med och utan metabolisk aktivering. Maneb visade sig vara negativ i alla dessa studier. Maneb var också negativ i en serie identiska studier som utfördes av Choi et al (19). Maneb visade ingen förmåga att inducera varken fullständiga eller partiella kromosomförluster i *Drosophila melanogaster*-hanar (160). Kawachi et al (64) fann att maneb inte inducerade mutationer när det testades med *Salmonella typhimurium* TA 100 and TA 98. Emellertid fanns en indikation på ökad mutagenicitet med metabolisk aktivering i *Bacillus subtilis* rectestet. Resultaten av manebmutagenicitet i alla andra använda testsystem var negativa, t.ex. kromosomaberration och systerkromatidutbyte (SCE) i hamsterlungfibroblastceller in vitro; humana embryofibroblastcelltester (kromosomaberrationer, SCE); råttbenmärgcelltest för kromosomaberrationer in vivo; och silkesmasktest. Klopman et al (798) visade att maneb inte hade någon effekt i *Salmonella typhimurium* histidine reversionstestet, *Escherichia coli*, eller *Bacillus subtilis*-testet. Däremot uppvisade maneb en viss aktivitet i *Saccharomyces cerevisiae*-testet. Studier av Hodgson och Lee (43) antydde att ferbam, tiram, maneb och zineb kan ha samma, eller liknande, subcellulära mål och troligen en gemensam mekanism för toxicitet i ovarieceller från kinesisk hamster.

**Mancozeb.** Georgian et al (31) mätte cytogenetiska effekter av mancozeb i humana lymfocyter in vitro och i råttbenmärgsceller in vivo. En dosbeorende ökning av kromosomala aberrationsfrekvenser erhöles vid koncentrationerna 1, 2, 4, 10, 20 och 40 µg/ml mancozeb när det tillsattes under de sista 24 timmarna i 72-timmars humana blodkulturer. De två lägsta koncentrationerna av mancozeb inducerade inga kromosomaberrationer medan den högsta koncentrationen uppvisade många kraftigt skadade celler, med despiraliserade, splittrade och separerade kromatider. Mancozeb gavs till Wistarråttor som en enda intraperitoneal dos på 2,5, 5 eller 10 mg/kg, och benmärgsceller samlades 24 timmar senare. Nästan alla råttor dog efter den högsta dosen, medan de två lägre

doserna inducerade dosrelaterade klastogena effekter, huvudsakligen av kromatidtyp. När råttorna gavs 200 ppm mancozeb i födan under 280 dagar med en genomsnittlig daglig dos på 1,7 mg/kg, ökade antalet benmärgsceller med kromosomskador signifikant. I en väldefinierad studie, analyserade Jablonická et al (57) kromosomaberrationer och SCE i korttidskulturer med perifera lymfocyter från 44 arbetare som exponerats för mancozeb i arbetet med framställningen av pesticiden. Resultaten antyder att exponering för mancozeb leder till en svag ökning (från 1,1 % hos kontrollerna till 2,07 % hos de exponerade arbetarna) av frekvensen av celler med strukturella kromosomaberrationer. Moriya et al (105) har använt reversionstestsystem med bakteriestammarna *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537 och TA 1538, men kunde inte finna några tecken på mutagenicitet orsakad av mancozeb i dessa testsystem. De resultat som erhöles av Choi et al (19) var identiska med dem som Moriya et al fick (105). Det finns emellertid data som antyder att mancozeb kan ha en viss genotoxisk potential både i experimentdjur och i människa.

**Zineb.** Moriya et al (105) kunde inte finna någon mutagen aktivitet när zineb studerades i reversionstestsystemet med bakteriestammarna *Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537 och TA 1538. Identiska resultat erhöles av Choi et al (19) i liknande testsystem. Klopman et al (79) analyserade mutageniciteten av zineb och observerade positiva effekter när han använde *Saccharomyces cerevisiae*-stammen, medan ingen mutagenicitet erhöles med *Salmonella typhimurium* histidine reversionstestet, *Bacillus subtilis* testet eller *Escherichia coli*-testet. Shiau et al (141) fann att zineb var starkt mutagen i *Bacillus subtilis*-stammen TKJ 6321, men inte i *Salmonella typhimurium*-stammar, med eller utan metabolisk aktivering. Dessa resultat ger evidens för att zineb kan ha en svag mutagen effekt. Hodgson och Lee (43) fann, genom att använda kinesisk hamster CHO-K1 celler, att zineb har en cytotoxisk potential i detta testsystem.

**Ethylentiourinämne.** Seiler (140) fann, att ETU, i *Salmonella typhimurium* stam his G-46, orsakade en svag dosrelaterad ökning av mutationsfrekvensen hos denna teststam. Teramoto et al (152) undersökte den mutagena potentialen hos ETU i dominant-letaltest i mus. Ingen ökning i postimplantationsförluster (dominanta letalmutationer) erhöles. När ETU gavs tillsammans NaNO<sub>2</sub>, erhöles en signifikant ökning av preimplantationsförlusterna. Dessa fynd antyder att mutagena förändringar också kan induceras i musens germinalceller genom en interaktion mellan NaNO<sub>2</sub> och ETU. Autio et al (5) fann att ETU inducerade mutagenicitet in vitro när *Salmonella typhimurium* TA 1950 användes. När samma *Salmonella typhimurium* stam användes i en "host-mediated assay", erhöles också en ökad mutagenicitet. Resultaten antyder att oxidationen av svavelatomen i ETU minskade den mutagena aktiviteten hos ETU - mutageniciteten hos 2-imidazolin-2-yl var mindre än mutageniciteten hos ETU. ETU visar en mutagen potential i vissa testsystem, men är inte något entydigt mutagen.

## 8. Carcinogenicitet

**Maneb, mancozeb, zineb.** Det finns inga adekvata data på den carcinogena effekten av maneb, mancozeb eller zineb hos människa eller hos experimentdjur (47, 65, 157). Börzsönyi et al (15) har sammanfattat genotoxiska korttidseffekter

av maneb och zineb; det finns data som antyder att båda föreningarna har en svag mutagen potential i olika testsystem. Djurcancerdata med båda föreningarna är inadekvata enligt den utvärdering som gjorts av International Agency for Research on Cancer (48). Det finns emellertid senare data, vilka visar att mancozeb ökar dosberoende incidensen av tyreoidafolliklar i en 24 månaders studie med Cr1:CD BR råttor vid en dosnivå på 750 ppm i födan (37 mg/kg/dag). En ökning av tyreoidacarcinom erhöles inte i Cr1:CD-1(1CR)BR VAF möss i en 18 månaders cancerstudie i vilken den höga dosen var 1000 ppm (100 mg/kg/dag) (39). Detta är ett viktigt fynd; på grund av analogin med övriga EBDC-föreningar är det nödvändigt med väl designade studier över carcinogeniciteten av maneb och zineb hos råttor och möss.

**Etylentiourinämne.** Det finns inga data över carcinogena effekter av ETU hos människa (144) men starka evidens för carcinogeniciteten av ETU hos experimentdjur finns (148). IARC (48) har klassificerat ETU som ett troligt carcinogen för människa (Group 2B) (se 15, 157). Till dags dato, finns det data som indikerar att arbetare kan exponeras för ETU på arbetsplatser framförallt i gummiindustrin (44, 147) och i jord- och skogsbruket (81, 85, 138).

Innes et al (47) fann en ökad incidens av hepatom hos möss när en peroral dos på 215 mg/kg/dag ETU gavs under 18 månader. Ulland et al (156) gav 175 eller 350 ppm (8,7 mg/kg/dag eller 17,5 mg/kg/dag) ETU i födan till Charles River CD honråttor under 18 månader. Därefter följdes råttorna under ytterligare sex månader. Det förekom en dosberoende ökning av både follikulär och papillärr tyreoidacancer, med lungmetastaser och relaterade skador, såsom tyreoida "solid cell adenomas" och hyperplastisk eller enkel struma. Den första tumören uppkom efter 68 veckor; de flesta cancrarna förekom efter 18-24 månader när studien avslutades.

Chabra et al (18) utförde en kronisk toxicitets- och carcinogenicitetsstudie på F344/N råttor och B6C3F1 möss av båda kön som fått ETU i dieten. Författarna var intresserade av huruvida känsligheten i långtidsstudier för identifiering av den carcinogena potentialen av kemikalier ökar om den konventionella exponeringen av vuxna djur under 2 år kompletteras med perinatal exponering. Studierna var designade för att fastställa 1) den toxiska carcinogena effekten av ETU på råttor och möss som får en perinatal exponering upp till 8 veckors ålder följt av kontrolldiet under 2 år, 2) effekten av ETU på råttor och möss som exponeras under 2 år med början vid 8 veckors ålder, och 3) effekterna av kombinerad perinatal/adult exponering. Under den perinatale perioden, exponerades råttor för ETU-koncentrationer i dieten på mellan 9 och 90 ppm (0,45-4,5 mg/kg/dag) och den adulta exponeringen för ETU-koncentrationer i dieten på mellan 33 och 330 ppm (1,65 och 16,5 mg/kg/dag). Hos mössen låg den perinatale exponeringen i dieten på koncentrationer mellan 33 och 330 ppm (3,3-33 mg/kg/dag), och hos de vuxna var koncentrationerna 100-1000 ppm (10-100 mg/kg/dag). Enbart perinatal exponering var inte carcinogen i råttor eller möss medan kombinationen perinatal/adult exponering för ETU var carcinogen både i råttor och i möss. De carcinogena effekterna av ETU var generellt lika vid adult och perinatal/adult exponering utom att incidensen av tyreoidatumörer var något högre hos råttor som fått den perinatale/adult-kombinationen av ETU. Tyreoidakörteln var det huvudsakliga målorganet för ETU-carcinogenicitet i både råttor och mus. Levern och hypofysen var andra viktiga sites för ETU-carcinogenitet i möss.

Exponeringen av ETU under 9 månader respektive 2 år minskade generellt serum T<sub>4</sub>-halter samt ökade serum TSH-halter både i råttor och mus. Dessa hormonella förändringar var korrelerade till morfologiska förändringar i tyreoidakörteln efter 9 månader eller 2 års ETU exponering, vilket antyder att ETU-carcinogenicitet skulle kunna bero på en obalans i tyreoida hypofyshomeostasen (41).

Baserat på de tillgängliga evidensen för tyreoidacancer, har USAs Naturvårdsverk (EPA) fastslagit att 1) tyreoida follikelcelltumörer kan uppkomma efter långtidsstörningar i feedbacksystemet för tyreoidahypofyshormon under förhållanden med reucerad nivå av cirkulerande tyreoidahormon och förhöjt tyreoideastimulerande hormon (TSH); 2) Stegen som leder till dessa tumörer antas uppvisa ett tröskelvärde, så att riskerna för tumörutveckling är minimal när tyreoidahypofyshomeostasen existerar; och 3) modeller som antar ett tröskelvärde får användas vid riskuppskattning för vissa tyreoida follikelär-celltumörer när det finns evidens för tyreoidahypofysobalans (2).

## 9. Reproduktion och teratogenicitet

**Maneb, mancozeb, zineb.** Det finns inga data över de reproduktiva eller teratogena effekterna av maneb, mancozeb eller zineb på människa. Chernoff et al (171) fann att en manebdos på 384 mg/kg/dag, som ges under organogenesen hos råttor, orsakar åtskilliga missbildningar, såsom hydrocefalus och klufen gom. En enda oral dos maneb hade givits till gravida råttor på 11:e eller 13:e dagen av organogenesen. Maneb inducerade kongenitala (medfödda) anomalier hos 12-100 % av fostren inom ett dosområde mellan 1-4 g/kg. Den maximala manebdosen vid vilken inga anomalier upptäcktes var 500 mg/kg hos råttor (122). Larsson et al (89) fann liknande teratogena effekter, också i råttor, med maneb och mancozeb inom dosområde 400-1320 mg/kg som gavs på den 11:e dräktighetsdagen. Manebs teratogenicitet var mer uttalad än mancozebs. Administrationen av zink visade en tydlig antiteratogen effekt. Bleyl (7) rapporterade att när maneb gavs till gravida råttor i kombination med etanol observerades en ökning av embryotoxiciteten liksom även retardation av skelettens och den postnatale tillväxten i F<sub>1</sub> generationen. En enda oral dos av zineb till gravida råttor på 11:e eller 13:e dagen av dräktigheten orsakade allvarliga missbildningar hos 12-100 % av fostren vid doser mellan 2 och 4 g/kg. Den maximala dosen vid vilken zineb ej uppvisade någon teratogen effekt var 1 mg/kg (122). Sing och Spencer (142) gav zineb i doserna 500, 1000, 1500, 2000 och 2500 ppm i dieten (dagliga doser 12, 21, 30, 38 och 55 mg/kg) till gravida Sprague Dawley råttor på dag 6 - 15 under dräktigheten. Zineb hade inte någon effekt på ovarievikten hos gravida råttor, men den minskade eller reducerade ovarieproteinhalten och ökade glykogenhalten på ett dosberoende sätt. Zineb minskade också fostervikten och moderns viktökning på ett dosberoende sätt.

**Etylentiourinämne.** Smith (144) fann inte någon ökad incidens av medfödda abnormaliteter hos barn till 699 kvinnliga arbetare som exponerades yrkesmässigt för ETU i gummiindustrin. Det finns emellertid data på ETU-inducerad teratogenicitet i djur. När ETU, 600 mg/kg/dag, gavs till gravida möss från den 7-14 dräktighetsdagen minskade det totala antalet gravida möss och antalet möss som överlevde genom hela dräktigheten. Denna ETU-dos minskade också antalet

gravida möss som födde ungar (124). Termato et al (151) gav en enda oral dos på 250 mg/kg respektive 200 mg/kg ETU till råttor och möss. ETU som gavs på den 14:e dräktighetsdagen var teratogen hos råttor. Fostervikten reducerades kraftigt utan att mortaliteten ökade. Alla foster hade externa synliga missbildningar såsom hjärnhinnebrock i kraniet, extremt liten underkäke, kluven gom, navelbrock, avsaknad av analöppning, och reducerat antal fingrar. Skelettmissbildningar upptäcktes i ländkotor, bröstben, revben, nyckelben och långa ben i extremiteterna. Förvånansvärt nog var ETU inte teratogen i möss vid hög dos. Chernoff (17) studerade ETU-inducerade missbildningar hos råttor, möss, marsvin och hamster. ETU-dos på 40 mg/kg, inducerade hydrocefalus och encefalocele (hjärnbrock) hos råttor. ETU inducerade däremot inte missbildningar i hamster vid en dos på 100 mg/kg/dag. Hos mössen observerades små skelettmissbildningar vid en dos på 200 mg/kg/dag. ETU-inducerade missbildningar observerades inte heller i marsvin vid en dos på 100 mg/kg/dag. Khera (67) fann emellertid att höga doser av ETU, som givits till Swiss-Webster möss inducerade missbildningar i baktass. Enstaka orala doser av ETU (1600, 2000 eller 2400 mg/kg) gavs till mödrarna på 12:e dräktighetsdagen. De mest signifikanta defekterna var övertaliga tår, hopvuxna tår, förlust av tår på bakbenen och kluven gom. Khera och Shah (69) rapporterade att zinkacetat inte reducerade ETU-inducerade abnormaliteter i råttor. Doseerna som gavs till honorna i dessa studier var 80, 120 eller 160 mg/kg. Det finns även data på utvecklingstoxicitet av ETU i CNS hos råttor (se kapitel 5.7; 70).

Khera (66) observerade en reduktion av ETU-inducerad teratogenicitet hos råttor som co-administrerades med natriumnitrit. Khera et al (71) fann ett ökat antal missbildningar hos ungar till hamsterhonor som givits en enda intragastrisk dos ETU, 600, 1200, 1800 eller 2400 mg/kg på 11:e dräktighetsdagen. Ingen av doserna inducerade toxicitet hos modern, men den högsta gav en påtaglig fostertoxisk effekt. Ventrikelsystemet i hjärnan och cerebellum var bland de mest sensitiva sites för missbildningar. Daston et al (22) har visat att ETU är teratogen i råttembryon in vitro vid koncentrationer mellan 40-200 µg/ml. Korhonen et al (78) har visat att ETU är teratogen i kycklingembryon. Lewerenz och Bleyl (92) har visat att ETU, som givits oralt till gravida råttor som en enda oral dos på 1-50 mg/kg på dag 17, 18, 19 eller 20 av dräktigheten, skadar överlevnaden hos fostren efter att modern behandlats med doser på 10 mg/kg ETU eller mer. Vid 6 månaders ålder hade 16 resp. 26 % av de överlevande ungarna från mammor som behandlats med 10 resp. 20 mg/kg ETU hydrocefalus.

Dessa data antyder att EBDC vid höga doser har en tydlig teratogen potential hos experimentdjur. ETU är emellertid ett mer potent teratogen än EBDC-fungiciderna, och råttor är särskilt känsliga för de teratogena effekterna av ETU.

## 10. Förhållandet mellan exponering, effekt och respons

Det är svårt att erhålla en exakt uppfattning om dos-effekt och dos-responsförhållandena hos människa för maneb, mancozeb, zineb och ETU eftersom humandata för de flesta föreningarna är sällsynta eller fullständigt frånvarande. Adekvata humandata är tillgängliga endast för sensibiliseringseffekterna av dessa föreningar, men i detta sammanhang är dos-effekt och dos-respons utvärderingen

problematiske. Vidare sker exponeringen för maneb, mancozeb, zineb eller ETU i arbetsmiljön huvudsakligen genom huden, men förutom kutana hypersensibiliseringsstudier finns nästan inga studier på människa eller experimentdjur i vilka en detaljerad analys av denna exponeringsväg har utförts.

De viktigaste effekterna på tyreoida, carcinogenicitet och hudsensibilisering av maneb, mancozeb och ETU har studerats. Nedan har dos-effekt och dos-respons för varje förening presenterats separat. Kritiska effekter presenteras i tabellerna 2 - 5.

De viktigaste effekterna med maneb gäller tyreoidakörteln, funktionell aktivitet hos tyreoida och tyreoidamorfologi. Maneb orsakade också en extremt stark hudsensibilisering, men dos-effekt eller dos-respons förhållandet är svårt att fastställa vid sensibiliseringseffekter. Den viktigaste effekten av mancozeb är tyreoidas funktion och morfologi.

Tabell 2. Sammanfattning av manebns effekter på experimentdjur.

Daglig exponering	Djurart	Admin. väg	Effekt	Referens
20 mg/kg (en dos)	Råttor	i.p.	Minskad köldinducerad TSH sekretion	87
384 mg/kg (organogenes under dräktighet)	Råttor	oralt	Missbildningar	17
2400 mg/kg (en dos)	Råttor	oralt	Inhibition av [ <sup>131</sup> I]-upptag av tyreoida	51
1200 mg/kg två ggr per vecka i 4,5 månader	Råttor	oralt	Inhibition of [ <sup>131</sup> I]-upptag, ökad tyreoidahyperplasi, ökad tyreoidavikt	54

Liksom maneb är också mancozeb en extremt stark hudsensibiliserare. Dessutom har mancozeb en svag mutagen potential liknande den hos dess strukturella analog maneb. De viktigaste och mest signifikanta effekterna av zineb gäller tyreoidas funktion och morfologi, serum T<sub>4</sub>-reduktionen och TSH-haltens ökning. Nyligen uppkomna rön antyder också att mancozeb är ett tyreoida carcinogen i råttor. Zineb är också en stark hudsensibiliserare och den har visat viss Tabell 2. Sammanfattning av manebns effekter på experimentdjur. mutagenicitet i jäst. Den mest påtagliga effekten av ETU var effekten på tyreoidakörteln; tyreoidahyperplasi, minskad halt av serum tyreoidahormon, ökad serum TSH, och efter långtidsexponering med ETU, är tyreoidafollikelcarcinom huvud-effekten. Dessutom är ETU en starkt teratogen förening som orsakar missbildningar i CNS vid låga doser.



Tabell 3. Sammanfattning av mancozebs effekter på experimentdjur.

Daglig exponering	Djurart	Admin. väg	Effekt	Referens
50 mg/kg 12 veckor	Råtta	Oralt	Minskad tyreoida [131], tyreoida hyperplasi	150
75 mg/kg 12 veckor	Råtta	Oralt	Ökad tyreoidavikt	150
37.5 mg/kg/d 24 månader	Råtta	Oralt	Ökad förekomst av tyreoida adenom och carcinom	45

Tabell 4. Sammanfattning av zinebs effekter på experimentdjur.

Daglig exponering	Djurart	Admin. väg	Effekt	Referens
70 mg/kg (en dos)	Råtta	i.p.	Inhibition av köld- stimulerad TSH- sekretion	87
900 mg/kg 3 dagliga doser	Råtta	Oralt	Follikelhyperplasi- sekretion	53
90-900 mg/kg 2 ggr/vecka i 4,5 månader	Råtta	Oralt	Tyreoida hyperplasi, ökad serum TSH, basofilia i adenohypo- fysen	55
2000 mg/kg på dag 11 eller 13 i dräktigheten	Råtta	Oralt	Missbildningar	119

## 11. Behov av ytterligare forskning

Det finns ett stort behov att utveckla tillförlitliga, känsliga och praktiska metoder för biologisk monitorering av exponering för maneb, mancozeb, zineb och andra EBDC-fungicider liksom även för ETU. Idag finns det metoder för biologisk monitorering för ETU i urin och andra biologiska vätskor (81, 84, 85, 86, 138), men de kräver ytterligare utveckling för att fungera för rutinanvändning vid biologisk monitorering av exponerade arbetare.

Förståelsen av mekanismerna för absorptionen är viktig för att kunna göra en tillförlitlig biologisk monitorering. Dermal penetration bör studeras i detalj för att man ska kunna reda ut förhållandet mellan mängden EBDC-fungicider och ETU som deponeras på huden och slutligen absorberas i blodströmmen. Data på

partikelstorleken hos EBDC-aerosoler är viktig för uppskattningen av den exakta betydelsen av inhalation vid exponering för EBDC och ETU. Detaljer för metaboliseringen av EBDC-fungicider och ETU kräver ytterligare klargöranden. Detta är viktigt eftersom information om toxikokinetiken av dessa föreningar är den enda fasta basen för biologisk monitorering.

Mekanismer för maneb, mancozeb, zineb och ETUs effekter på tyreoida skall studeras. Alla dessa föreningar ger upphov till struma vilket minskar serumhalten av tyreoidahormoner, höjer serumhalter av TSH och orsakar tyreoidahyperplasi. Vidare orsakar ETU, vid mycket låga doser, även follikelcarcinom i tyreoida. Förståelsen av effekten av dessa föreningar på tyreoida och hypofys - tyreoida gör det möjligt för oss att förstå förhållandet mellan strumaeffekten och den carcinogena effekten. Vidare kan förhållandet mellan strumaeffekter och effekter som är sekundära till denna effekt skisseras med hjälp av denna viktiga information. Särskilt ETU är ett starkt teratogen, vilket troligen beror på dess effekt på tyreoida. Denna koppling måste också klargöras.

Det finns övertygande data över tyreoidateratogeniciteten och ETU. Vidare antyder nyare data att även mancozeb kan visa en carcinogen potential i råttor. Om man tar hänsyn till att alla EBDC-fungicider är delvis biotransformerade till ETU och den strukturella och metaboliska analogin mellan alla EBDC, är det nödvändigt med väl designade cancerstudier med maneb, mancozeb och zineb.

Epidemiologiska humanstudier bör utföras för att förtydliga förhållandet mellan exponering för EBDC och ETU, samt deras effekter på tyreoida och reproduktionen, liksom även deras teratogena och carcinogena effekt hos arbetare.

Tabell 5. Sammanfattning av etylenitourinämnes (ETU) effekter på experimentdjur.

Daglig exponering	Djurart	Admin. väg	Effekt	Referens
1000 mg/kg (en dos)	Råtta	i.p.	Inhibition av köld- stimulerad TSH sekretion	87
10.6 mg/kg under 28 dagar	Råtta	Oralt	Minskad serum T <sub>4</sub> och ökade TSH halter	83
5 mg/kg for 90 dagar	Råtta	Oralt	Minskad serum T <sub>4</sub> , ökad TSH, och tyreoidahyperplasi	118
40 mg/kg under dräktighet	Råtta	Oralt	Hydrocephalus och encephalocele and andra cerebrala missbildningar	17
12.5 mg/kg under 2 år	Råtta	Oralt	Tyreoida-follikel- carcinom, tyreoidahyper- plasi, minskning av T <sub>4</sub> och ökning av TSH	18

## 12. Diskussion och utvärdering

EBDC är en viktig grupp av fungicidpesticider. De är också ett bra exempel på föreningar där den dermala absorptionen dominerar vid exposition, även om den relativa signifikansen av dermal respektive inhalationsexponering är okänd. Eftersom den dermala exponeringsvägen dominerar är gränsvärdet troligen av begränsat värde vid uppskattning av exponering och riskvärdering. Eftersom den viktigaste urinmetaboliten från dessa föreningar, ETU, är känd och kan mätas, kan den användas för skydd av arbetare som exponeras för EBDC eller ETU. ETU i urinen bör mätas och jämföras med referensvärdena vid en given tidpunkt efter upphörd exponering. Värdet av denna approach ligger i att det ger en integrerad bild av biologiskt relevant exponering för alla exponeringsgrupper. Andra sätt att skydda arbetare från exponering är att ge tydliga guide-lines för sprayutrustning och instruktioner med riktiga skyddskläder.

Etylenbisditiokarbamaterna maneb, mancozeb och zineb och deras nedbrytningsprodukter och huvudmetabolit ETU används som fungicider inom jordbruk och skogsbruk. Vidare används de som accelerators i gummiindustrin. I de flesta fall finns endast få rapporter över deras toxicitet hos människor. Huvudparten av informationen har erhållits från djur och in vitro experiment. Även om olika EBDC uppvisar något varierande toxiska effekter, är de gemensamma egenskaperna hos EBDC-fungicider snarare än olikheterna i toxicitet klart dominerande. Gemensamt för alla EBDC är deras metabolism, med ETU som huvudmetabolit. På denna analogi, bör ett fynd med en av föreningarna kunna appliceras i viss utsträckning även på de andra föreningarna i denna grupp. Mot denna bakgrund, ökar betydelsen av upptäkten att mancozeb ökar incidensen för tyreoidacarcinom i råttor och skall klargöras i detalj.

**Maneb.** Den akuta toxiciteten på maneb är låg och huvudsakligen riktad mot tyreoidkörteln. Efter enstaka eller upprepade doser orsakar maneb en minskning av serum T<sub>4</sub>-halten, en ökning av serum TSH-halter och ger också upphov till tyreoidhyperplasi. Maneb har potentialen att inducera mutationer i bakterietest, men data på carcinogeniciteten hos maneb är ofullständiga. Den inducerar missbildningar hos råttor i höga doser och den är en mycket stark hudsensibiliserare med korsreaktioner mellan mancozeb och zineb. Struma och hudsensibiliserings-egenskaper är de kritiska effekter för maneb.

**Mancozeb.** Den akuta toxiciteten av mancozeb är låg. Det viktigaste målorganet för mancozeb är tyreoida där mancozeb orsakar hyperplasi och förändrar tyreoidafunktionerna, t.ex. minskar serum T<sub>4</sub>-halter och ökar serum TSH-halter. Mancozeb har en låg potential med avseende på induktion av punktmutationer i bakterietester. Det finns data som antyder att mancozeb är carcinogen i experimentdjur. Mancozeb är en stark hudsensibiliserare som korsreagerar med andra EBDC-fungicider. Antityreoid och möjligtvis carcinogen effekt samt hudsensibiliserings-egenskaper är de kritiska effekterna för mancozeb.

**Zineb.** Den akuta toxiciteten av zineb är låg och huvudsakligen riktad mot tyreoidkörteln. Den orsakar tyreoidhyperplasi efter långtidsadministration, men redan en enda dos av zineb minskar serum T<sub>4</sub>-halten och ökar serum TSH-halten. Zineb är mutagen i jäst. Data på carcinogeniciteten är knapp. Zineb är en

stark hudsensibiliserare och korsreagerar med EBDC-fungicider. Anti-tyreoida och hudsensibiliserande egenskaper är de kritiska effekterna för zineb.

**Etylentiourinämne.** ETU har också tyreoida som sitt viktigaste målorgan. Låga doser av ETU minskar serumtyreoidhalter och serum TSH. Dessa funktionella förändringar är associerade med påtaglig tyreoida hyperplasi. Den viktigaste effekten av ETU är dess tyreoidacarcinogenicitet. Däremot har ETU inte någon påtaglig potential att producera mutationer i in vitro bakterietestsystem. ETU har en tydlig potential att orsaka teratogena effekter hos gnagare. Bland gnagare är råttan den känsliga stammen, medan mus, hamster och marsvin är mer resistent. Tyreoidacarcinogenicitet är den kritiska effekten för ETU.

De kritiska effekterna av EBDC och ETU, dvs tyreoidtoxicitet och carcinogenicitet, förmågan att orsaka allvarliga missbildningar samt den starka sensibiliserande potensen, föranleder ordentliga överväganden och stor försiktighet och omtänksamhet när det gäller skyddet av exponerade arbetare. Emellertid är exponeringen för dessa föreningar i arbetsmiljön vanligtvis försumbar. I de flesta fall, kan man finna en flera hundra till flera tusen gångers säkerhetsmarginal mellan de doser som arbetarna kan exponeras för på arbetsplatsen eller via födan och de doser vid vilka toxiska effekter har upptäckts hos experimentdjur. Sensibiliserande egenskaper hos dessa föreningar är faktiskt det enda undantaget till denna regel. Därför är i praktiken exponeringen för EBDC eller ETU sannolikt av mindre toxikologisk betydelse i de flesta arbetssituationer och detsamma gäller även för exponeringen av dessa föreningar via födan. De toxiska riskerna med EBDC-fungicider och ETU kan med största sannolikhet förhindras eller minimeras om ordentligt skydd används.



### 13. Sammanfattning

K. Savolainen. 92. Etylenbisditiokarbamat och etyleniourinämne. Nordiska Expertgruppen för Gränsvärdesdokumentation. Arbete och Hälsa 1993:24.

En kritisk genomgång av den relevanta litteraturen med avseende på diskussioner för gränsvärdesättning av etylenbisdikarbamatfungicider och etyleniourinämne ges.

**Maneb.** De kritiska effekterna är toxiska effekter av maneb på tyreoidkörteln och dess sensibilisering och korsensibiliseringsegenskaper.

**Mancozeb.** De kritiska effekterna av mancozeb är riktade mot tyreoidkörteln. De kritiska effekterna är också möjliga carcinogena effekter och hudsensibiliseringsegenskaper och dess korsreaktivitet med andra föreningar inom samma fungicidgrupp.

**Zineb.** Det kritiska målorganet för zineb är tyreoidkörteln. Kritiska effekter är också dess sensibiliserande egenskaper samt korsreaktivitet med maneb och mancozeb.

**Etyleniourinämne.** De kritiska effekterna av ETU är riktade mot tyreoidkörteln där ETU inducerar tyreoidhyperplasi och follikelcarcinom i låga doser.

Presentationen av gränsvärden för etylenbisditiokarbamat är baserad på deras sensibiliserande egenskaper, deras effekter på tyreoidkörteln och möjliga carcinogena effekter hos gnagare. Huvudemfasen för gränsvärdet för ETU är dess strumafremkallande och tyreoidacarcinogena egenskaper. Det finns ett behov att understryka signifikansen av biologisk monitorering och att reducera exponeringen för EBDC och ETU snarare än att utveckla mer detaljerade yrkesmässiga gränsvärden. Det är därför viktigt att beskriva dermal absorption och demetaboliska vägar för EBDC-fungicider och ETU för att kunna utveckla biologiska monitoreringsmetoder. Vidare är det viktigt att förstå förhållandet mellan effekten av EBDC-fungicider och effekten av ETU på tyreoida samt ETU-inducerad follikelcarcinom för en adekvat riskvärdering.

Nyckelord: Maneb, mancozeb, zineb, etyleniourinämne, gränsvärden, organ-effekter, effekter på tyreoidkörteln, tyreoidacarcinom, missbildningar, hudsensibilisering, korsensibilisering.

### 14. Summary

K. Savolainen. 92. Ethylenebisdithiocarbamates and ethylenethiourea. Nordic expert group for documentation of occupational exposure limits. Arbete och hälsa 1993: 24, pp. 45.

A critical survey of the literature relevant for the discussion of an occupational exposure limit for ethylenebisdithiocarbamate fungicides and ethylenethiourea is given.

**Maneb.** The critical targets of exposure to maneb are toxic effects of the compound on the thyroid gland, and its sensitizing and cross sensitizing properties.

**Mancozeb.** The critical effects of mancozeb are directed towards the thyroid gland. Critical effects are also possible carcinogenicity, and skin sensitizing properties of mancozeb and its cross reactivity with other compounds of the fungicides of the same group.

**Zineb.** The critical target organ of zineb is the thyroid gland. Critical effects of zineb are also its sensitizing properties, and cross reactivity with maneb and mancozeb.

**Ethylenethiourea.** The critical effects of ETU are directed towards the thyroid gland where ETU induces thyroid hyperplasia and follicular carcinomas at low doses.

The present occupational exposure limit values for ethylenebisdithiocarbamates are based on their sensitizing properties, on their effects on the thyroid gland, and possible carcinogenic effects in rodents. The main emphasis in the occupational exposure limit value for ETU is in its goitrogenic and thyroid carcinogenic properties. There is a need to emphasize the significance of biological monitoring, and to reduce the exposure to EBDC's and ETU rather than develop more detailed occupational exposure limits. It is important, therefore, to delineate dermal absorption, and the metabolic pathways of EBDC fungicides and ETU for the development of biological monitoring methods. Moreover, understanding of the association between the effects of EBDC fungicides and ETU on thyroid, and ETU-induced thyroid follicular carcinomas is crucial for adequate risk assessment.

**Key words:** Maneb, mancozeb, zineb, ethylenethiourea, occupational exposure limit value, organ effects, effects on thyroid gland, thyroid carcinoma, malformations, skin sensitization, cross sensitization.

## 14 Referenser

- Allen JR, Van Miller JP, Seymour JL. Absorption, tissue distribution and excretion of  $^{14}\text{C}$  ethylenethiourea by the rhesus monkey and rat. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 20 (1978) 109-115.
- Anonymous. Ethylene bisdithiocarbamate (EBDC). *IRPTC Bulletin* 6 (1983) 18-19.
- Arnold DL, Krewski DR, Junkins DB, McGuire PF, Moodie CA, Munro IC. Reversibility of ethylenethiourea-induced thyroid lesions. *Toxicol Appl Pharmacol* 67 (1983) 264-273.
- Autio K, Pyysalo H. Application of irradiation technique in the identification of some metabolites of maneb in mice. *J Agric Food Chem* 31 (1983) 568-571.
- Autio K, von Wright A, Pyysalo H. The effect of oxidation of the sulfur atom on the mutagenicity of ethylenethiourea. *Mutat Res* 106 (1982) 27-31.
- Blazquez CH. Residue determination of ethylenethiourea (2-imidazolidinethione) from tomato foliage, soil, and water. *J Agr Food Chem* 21 (1973) 330-332.
- Bleyl DWR. Beeinflussung der Maneb-Toxizität durch chronische Ethanolaufnahme -Pränataltoxikologische Untersuchungen zur Risikogruppenproblematik. *Die Nahrung* 28 (1984) 497-506.
- Bontoyan WR, Looker JB. Degradation of commercial ethylene bisdithiocarbamate formulations to ethylenethiourea under elevated temperature and humidity. *J Agr Food Chem* 21 (1973) 338-342.
- Bontoyan WR, Looker JB, Kaiser TE, Giang P, Olive BM. Survey of ethylenethiourea in commercial ethylenebisdithiocarbamate formulations. *J Assoc Official Anal Chem* 55 (1972) 923-925.
- Borin C, Periquet A, Mitjavila S. Studies on the mechanism of nabam- and zineb-induced inhibition of the hepatic microsomal monooxygenases of the male rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 81 (1985) 460-468.
- Brocker ER, Schlatter C. Influence of some cations on the intestinal absorption of maneb. *J Agric Food Chem* 27 (1979) 303-306.
- Brocker ER, Schlatter C. Dose dependence of the excretion of maneb metabolites in urine of rats. *Toxicol Lett* 6 (1980) 221-224.
- Bruze M, Fregert S. Allergic contact dermatitis from ethylene thiourea. *Contact Derm* 9 (1983) 208-212.
- Burry JN. Contact dermatitis from agricultural fungicide in south Australia. *Contact Derm* 2 (1976) 289.
- Börzsönyi M, Török G, Pintér A, Surján A. Agriculturally-related carcinogenic risk. *IARC Sci Publ* 56(1984) 465-486.
- Camoni I, Cicero AM, Di Muccio A, Dommarco R. Verifica della escrezione urinaria di etilentiourea (ETU) in ratti trattati con zineb. *Med Lav* 75 (1984) 207-214.
- Chernoff N, Kavlock RJ, Rogers EH, Carver BD, Murray S. Perinatal toxicity of maneb, ethylene thiourea, and ethylenebisithiocyanate sulfide in rodents. *J Toxicol Environ Health* 5 (1979) 821-834.
- Chhabra RS, Eustis S, Haseman JK, Kurtz PJ, Carlton BD. Comparative carcinogenicity of ethylenethiourea with or without perinatal exposure in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol* 18 (1992) 405-417.
- Choi EJ, Kim YK, Roh JK. Genetic toxicity of pesticides used in Korea on *Salmonella typhimurium* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Environ Mutagen Carcinogen* 5 (1985) 11-18.
- Chovanová J, Matisová E, Bátira V. Determination of ethylenethiourea in grapes and wine. *J Assoc Off Anal Chem* 68 (1985) 741-745.
- Cruickshank PA, Jarrow HC. Ethylenethiourea degradation. *J Agr Food Chem* 21 (1973) 333-335.
- Daston GP, Ebron MT, Carver B, Stefanadis JG. In vitro teratogenicity of ethylenethiourea in the rat. *Teratology* 35 (1987) 239-245.
- Engst R, Schnaak W. Untersuchungen zum Metabolismus der Fungiciden Äthylen-bis-dithiocarbamate Maneb und Zineb. I. Mitteilung. Identifizierung und fungitoxische Wirkung im Modellversuch erhaltener Metabolite. *Z Lebensmittel Untersuch Forsch* 134 (1967) 216-221.
- Engst R, Schnaak W. Untersuchungen zum Metabolismus der Fungiciden Äthylen-bis-dithiocarbamate Maneb und Zineb. III. Mitteilung. Zum Reaktionsverlauf des Abbaus. *Z Lebensmittel Untersuch Forsch* 143 (1970) 99-103.
- Engst R, Schnaak W. Untersuchungen zum Metabolismus der Fungiciden Äthylen-bis-dithiocarbamate Maneb und Zineb. IV. Mitteilung. Polagraphische Bestimmung von Äthylen-bis-thiurammonosulfid-Rückständen auf pflanzlichen Erntegütern. *Z Lebensmittel Untersuch Forsch* 144 (1970) 81-84.
- Engst R, Schnaak W, Lewerenz H-J. Untersuchungen zum Metabolismus der Fungiciden Äthylen-bis-dithiocarbamate Maneb, Zineb und Nabam. V. Mitteilung. Zur Toxikologie der Abbauprodukte. *Z Lebensmittel-Untersuch Forsch* 146 (1971) 91-97.
- Farrington DS, Hopkins RG. Determination of ethylenethiourea in ethylenebisdithiocarbamate fungicides: Comparison of high-performance liquid chromatography and gas-liquid chromatography. *Analyst* 104 (1979) 111-116.
- Feldman RJ, Maibach HI. Absorption of some organic compounds through the skin in man. *J Invest Dermatol* 54 (1972) 399 - 404.
- Feldman RJ, Maibach HI. Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man. *Toxicol Appl Pharmacol* 28 (1974) 126 - 132.
- Freudenthal RI, Kerchner G, Persing R, Baron RL. Dietary subacute toxicity of ethylene thiourea in the laboratory rat. *J Environ Pathol Toxicol* 1 (1977) 147-161.
- Georgian L, Moraru I, Draghicescu T, Dinu I, Ghizelea G. Cytogenetic effects of alachlor and mancozeb. *Mutat Res* 116 (1983) 341-348.
- Giri SN, Hollinger MA, Rice SA. Effect of thiourea on pulmonary vascular permeability and on lung and plasma histamine levels in rats. *Toxicol Lett* 57 (1991) 283-290.
- Graham SL, Hansen WH. Effects of short-term administration of ethylenethiourea upon thyroid function of the rat. *Bull Environ Contam Toxicol* 7 (1972) 19-25.
- Graham SL, Hansen WH, Davis KJ, Perry CH. Effects of one-year administration of ethylenethiourea upon the thyroid of the rat. *J Agr Food Chem* 21 (1973) 324-329.
- Grafström R, Greene FE. Differential effects of disulfiram and diethyldithiocarbamate on small intestinal and liver microsomal benzo(a)pyrene metabolism. *Biochem Pharmacol* 29 (1980) 1517-1523.
- Grafström R, Holmberg B. The effect of long-term treatment with disulfiram on content of cytochrome P-450 and on benzo(a)pyrene mono-oxygenase activity in microsomes isolated from the rat small intestinal mucosa. *Toxicol Lett* 7 (1980) 79-85.
- Gustafsson KH, Fahlgren CH. Determination of dithiocarbamate fungicides in vegetable foodstuffs by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 31 (1983) 461-463.
- Gustafsson KH, Thompson RA. High-pressure liquid chromatographic determination of fungicidal dithiocarbamates. *J Agric Food Chem* 29 (1981) 729-732.
- Haaranen T, Mankotsebi. Toksikologinen arvio sosiaali- ja terveystieteiden toksikologian asiantuntijaryhmälle (Mancozeb. Toxicological evaluation for the expert group of toxicologists of the ministry of social affair and health; in Finnish). Mikkeli, Finland, 1993, 27 p.
- Haines LD, Adler IL. Gas chromatographic determination of ethylene thiourea residues. *J Assoc Official Anal Chem* 56 (1973) 333-337.

41. Hill RN, Erdreich LS, Paynter OE, Roberts PA, Rosenthal SL, Wilkinson CF. Thyroid follicular cell carcinogenesis. *Fundam Appl Toxicol* 12 (1989) 629-697.
42. Hirvi T, Pyysalo H, Savolainen K. A glass capillary gas-liquid chromatography method for determining ethylenethiourea without derivatization. *J Agric Food Chem* 27 (1979) 194-195.
43. Hodgson JR, Lee C-C. Cytotoxicity studies on dithiocarbamate fungicides. *Toxicol Appl Pharmacol* 40 (1977) 19-22.
44. Holmberg B, Sjöström B. Toxicological aspects of chemical hazards in the rubber industry. *J Toxicol Environ Health* 6, 5-6 (1980), 1201-1209.
45. Hynninen E-L, Blomqvist H. Sales of pesticides in Finland in 1989. *Kemia-kemi* 17 (1990) 530-533.
46. Hynninen E-L, Blomqvist H. Sales of pesticides in Finland in 1990. *Kemia-kemi* 18 (1991) 506-509.
47. Innes JRM, Ulland BM, Valerio MG, Petrucelli L, Fishbein L, Hart ER, Pallotta AJ, Bates RR, Falk HL, Gart JJ, Klein M, Mitchell I, Peters J. Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: A preliminary note. *J Natl Cancer Inst* 42 (1969) 1101-1114.
48. International Agency for Research on Cancer. Overall evaluations on carcinogenicity: An updating of IARC monographs vol. 1-42. Suppl 7, World Health Organization, Lyon, 1987.
49. Israeli R, Sculsky M, Tiberin P. Acute central nervous system changes due to intoxication by manzidan (A combined dithiocarbamate of maneb and zineb). *Arch Toxicol Suppl* 6 (1983) 238-243.
50. Israeli R, Sculsky M, Tiberin P. Acute intoxication due to exposure to maneb and zineb. A case with behavioral and central nervous system changes. *Scand J Work Environ Health* 9 (1983) 47-51.
51. Ivanova L, Sheytanov M, Mosheva-Izmirova N. Changes in the functional state of the thyroid gland upon acute intoxication with certain dithiocarbamates - zineb and maneb. *C R Acad Bulgare Sci* 20 (1967) 1011-1013.
52. Ivanova-Chemishanska L. Experimental studies on the effect of some dithiocarbamates on the functional state of the thyroid gland. *Letopisi na HEI* 9 (1969) 46-52.
53. Ivanova-Chemishanska L, Markov DV, Dashev G. Light and electron microscopic observations on rat thyroid after administration of some dithiocarbamates. *Environ Res* 4 (1971) 201-212.
54. Ivanova-Chemishanska L, Markov DV, Milanov S, Strashimirov DD, Dashev GI, Chemishanski GA. Effect of subacute oral administration of zinc ethylenebis(dithiocarbamate) on the thyroid gland and adenohypophysis of the rat. *Fd Cosmet Toxicol* 13 (1975) 445-447.
55. Ivanova-Chemishanska L, Milanov St, Chemishanski G, Dashev G. Attempt of biological dosage of some hypophysal hormones in white rats after experimental oral administration of zineb. *Environ Res* 8 (1974) 160-165.
56. Iverson F, Khera KS, Hierlihy SL. In vivo and in vitro metabolism of ethylenethiourea in the rat and the cat. *Toxicol Appl Pharmacol* 52 (1980) 16-21.
57. Jablonická A, Poláková H, Karclová J, Vargová M. Analysis of chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the mancozeb-containing fungicide Novozir Mn80. *Mut Res* 224 (1989) 143-146.
58. Jauhainen A, Laitinen S, Kangas J, Savolainen K. Biological monitoring of workers exposed to mevinphos in greenhouses. *Bull Environm Contam Toxicol* 49 (1992) 37-43.
59. Jordan LW, Neal RA. Examination of the in vivo metabolism of maneb and zineb to ethylenethiourea (ETU) in mice. *Bull Environ Contam Toxicol* 22 (1979) 271-277.
60. Kameda Y. Dog thyroid glands after chronic administration of antithyroid drugs. *Am J Pathol* 117 (1984) 316-325.
61. Kangas J, Koskinen A. Exposure of Finnish nursery workers to manganese ethylene bisdithiocarbamate (Maneb). Conference on the safety techniques of chemi chemical processing in agriculture. Budapest, 25-28 April 1978.
62. Kangas J, Koskinen A, Husman K. Exposure of Finnish forestry nursery workers to quinterozone and maneb. Field worker exposure during pesticide application. Proceedings of the Fifth International Workshop of the Scientific Committee on Pesticides of the International Association on Occupational Health, The Hague, The Netherlands, October 9-11, 1979
63. Kato Y, Odanaka Y, Teramoto S, Matano O. Metabolic fate of ethylenethiourea in pregnant rats. *Bull Environ Contam & Toxicol* 16 (1976) 546-555.
64. Kawachi T, Komatsu T, Kada T, Ishidate M, Sasaki M, Sugiyama T, Tazima Y. Results of recent studies on the relevance of various short-term screening tests in Japan. *Applied Methods in Oncology* 3 (1980) 253-267.
65. Kay K. Occupational cancer risks for pesticide workers. *Environ Res* 7 (1974) 243-271.
66. Khera KS. Reduction of teratogenic effects of ethylenethiourea in rats by interaction with sodium nitrite in vivo. *Fd Chem Toxicol* 20 (1982) 273-278.
67. Khera KS. Ethylenethiourea-induced hindpaw deformities in mice and effects of metabolic modifiers on their occurrence. *J Toxicol Environ Health* 13 (1984) 747-756.
68. Khera KS. Neuronal degeneration caused by ethylenethiourea in neuronal monocell layers in vitro and in fetal rat brain in vivo. *Teratology* 36 (1987) 87-93.
69. Khera KS, Shah BG. Failure of zinc acetate to reduce ethylenethiourea-induced fetal anomalies in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 48 (1979) 229-235.
70. Khera KS, Tryphonas L. Nerve cell degeneration and progeny survival following ethylenethiourea treatment during pregnancy in rats. *Neurotoxicology* 6 (1985) 97-102.
71. Khera KS, Whalen C, Iverson F. Effects of pretreatment with SKF-525A, N-methyl-2-thioimidazole, sodium phenobarbital, or 3-methylcholanthrene on ethylenethiourea-induced teratogenicity in hamsters. *J Toxicol Environ Health* 11 (1983) 287-300.
72. King RR. Derivatization of ethylenethiourea with m-trifluoromethylbenzyl chloride for analysis by electron-capture gas chromatography. *J Agric Food Chem* 25 (1977) 73-75.
73. Kleibl K, Rackova M. Cutaneous allergic reactions to dithiocarbamates. *Contact Derm* 6 (1980) 348-349.
74. Kobayashi H, Kaneda M, Teramoto S. Identification of 1-methylthiourea as the metabolite of ethylenethiourea in rats by high-performance liquid chromatography. *Toxicol Lett* 12 (1982) 109-114.
75. Kobayashi H, Matano O, Goto S. Simultaneous quantitation of thioureas in rat plasma by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 207 (1981) 281-285.
76. Kobayashi H, Matano O, Goto S. An improved method for residue analysis of ethylenethiourea in vegetables by high-performance liquid chromatography. *J Pesticide Sci* 11 (1986) 81-84.
77. Koizumi A, Shiojima S, Omiya M, Nakano S, Sato N, Ikeda M. Acute renal failure and maneb (manganous ethylenebis[dithiocarbamate]) Exposure. *J Am Med Assoc* 242 (1979) 2583-2585.
78. Korhonen A, Hemminki K, Vainio H. Embryotoxicity of industrial chemicals on the chicken embryo: Thiourea derivatives. *Acta Pharmacol Toxicol* 51 (1982) 38-44.
79. Klopman G, Contreras R, Rosenkranz HS, Waters MD. Structure-genotoxic activity relationships of pesticides: comparison of the results from several short-term assays. *Mutat Res* 147 (1985) 343-356.
80. Komulainen H, Savolainen K. Effect of dithiocarbamate fungicides and thiram on <sup>3</sup>H-haloperidol binding in rat brain. *Arch Toxicol Suppl* 8 (1985) 77-79.
81. Kurtio P, Savolainen K. Ethylenethiourea in air and in urine as an indicator of exposure to ethylenebisdithiocarbamate fungicides. *Scand J Work Environ Health* 16 (1990) 203-7.

82. Kurtio P, Savolainen K, Naukkarinen A, Kosma V-M, Tuomisto L, Penttilä I, Jolkkonen J. Urinary excretion of ethylenethiourea and kidney morphology in rats after continuous oral exposure to nabam or ethylenethiourea. *Arch Toxicol* 65 (1991) 381-385.
83. Kurtio P, Savolainen K, Tuominen R, Kosma V-M, Naukkarinen A, Männistö P, Collan Y. Ethylenethiourea and nabam induced alterations of function and morphology of thyroid gland in rats. *Arch Toxicol Suppl.* 9 (1986) 339-344.
84. Kurtio P, Vartiainen T, Savolainen K. A high performance liquid chromatographic method for the determination of ethylenethiourea in urine and on filters. *Anal Chim Acta* 212 (1988) 297-301.
85. Kurtio P, Vartiainen T, Savolainen K. Environmental and biological monitoring of exposure to ethylenebisdithiocarbamate fungicides and ethylenethiourea. *Br J Ind Med* 47 (1990) 203-206.
86. Kurtio P, Vartiainen T, Savolainen K. Measurement of ethylenethiourea using thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. *J Anal Toxicol* 16 (1992) 85-87.
87. Laisi A, Tuominen R, Männistö P, Savolainen K, Mattila J. The effect of maneb, zineb, and ethylenethiourea on the humoral activity of the pituitary-thyroid axis in rat. *Arch Toxicol Suppl.* 8 (1985) 310-314.
88. Lawrence JF, Iverson F, Hanckamp HB, Frei RW. Liquid chromatography with UV absorbance and polarographic detection of ethylenethiourea and related sulfur compounds. Application to rat urine analysis. *J Chromatogr* 212 (1981) 245-250.
89. Larsson KS, Armander C, Cekanova E, Kjellberg M. Studies of teratogenic effects of the dithiocarbamates maneb, mancozeb, and propineb. *Teratology* 14 (1976) 171-184.
90. Lee C-C, Russell JQ, Minor JL. Oral toxicity of ferric dimethyldithiocarbamate (febram) and tetramethylthiuram disulfide (thiram) in rodents. *J Toxicol Environ Health* 4 (1978) 93-106.
91. Lehotay J, Brandsteterova E, Liska O, Garaj J. High-performance liquid chromatographic determination of ethylenethiourea in Perozin and Dithane M-45. *J Chromatogr* 287 (1984) 192-196.
92. Lewerenz HJ, Bleyl DWR. Postnatal effects of oral administration of ethylenethiourea to rats during late pregnancy. *Arch Toxicol Suppl* 4 (1980) 292-295.
93. Lisi P, Caraffini S. Pellagroid dermatitis from mancozeb with vitiligo. *Contact Derm* 13 (1985) 124-125.
94. Lowy R, Albrecht R, Péliissier MA, Manchon Ph. Determination of the "no-effect levels" of two pesticides, lindane and zineb, on the microsomal enzyme activities of rat liver. *Toxicol Appl Pharmacol* 42 (1977) 329-338.
95. Maini P, Boni R. Gas chromatographic determination of dithiocarbamate fungicides in workroom air. *Bull Environ Contam Toxicol* 37 (1986) 931-937.
96. Mandrou B, Brun S, Kingate A. Quantitative determination of thiourea in citrus fruits. *J Assoc Official Annual Chem* 60 (1977) 699-701.
97. Massey RC, Key PE, McWeeny DJ. Analysis of ethylenethiourea in beer by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 240 (1982) 254-256.
98. Matisová E, Chovancová J, Buzinkaiová. Capillary gas chromatography of ethylenethiourea, a degradation product of ethylenebis(dithiocarbamate)s. *J Chromatography* 286 (1984) 331-337.
99. Matsushita T, Arimatsu Y, Nomura S. Experimental study on contact dermatitis caused by dithiocarbamates maneb, mancozeb, zineb, and their related compounds. *Int Arch Occup Environ Health* 37 (1976) 169-178.
100. Matsushita T, Nomura S, Wakatsuki T. Epidemiology of contact dermatitis from pesticides in Japan. *Contact Derm* 6 (1980) 255-259.
101. Matsushita T, Yoshioka M, Arimatsu Y, Nomura S. Experimental study on cross-contact allergy due to dithiocarbamate fungicides. *Ind Health* 15 (1977) 87-94.
102. Menczel E, Maibach HI. In vitro human percutaneous penetration of benzyl alcohol and testosterone: Epidermal dermal retention. *J Invest Dermatol* 54 (1970) 386-394.
103. Meneguz A, Michalek H. Effect of zineb and its metabolite, ethylenethiourea, on hepatic microsomal systems in rats and mice. *Bull Environ Contam Toxicol* 38 (1987) 862-867.
104. Miladi N, Attéba, Dooh-Priso, Defontaines C, Albrecht R. Effect des fongicides, nabame et zinebe, sur l'activité de oxygénases et sur la teneur en thiolates dans les microsomes hépatiques du rat. *Fd Cosmet Toxicol* 19 (1981) 761-763.
105. Moriya M, Ohta T, Watanabe K, Miyazawa T, Kato K, Shirasu Y. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat Res* 116 (1983) 185-216.
106. Männistö P, Ranta T, Tuomisto J. Dual action of adrenergic system on the regulation of thyrotrophin secretion in the male rat. *Acta Endocrinol* 90 (1979) 249-258.
107. Nash RG. Improved Gas-liquid chromatographic method for determining ethylenethiourea in plants. *J Assoc Official Annual Chem* 57 (1974) 1015-1021.
108. Nash RG. Gas-Liquid Chromatographic method for determining ethylenethiourea in plants. *J Assoc Official Annual Chem* 58 (1975) 566-571.
109. Nater JP, Terpstra H, Bleumink E. Allergic contact sensitization to the fungicide maneb. *Contact Derm* 5 (1979) 24-26.
110. Newsome WH. The excretion of ethylenethiourea by rat and guinea pig. *Bull Environ Contam Toxicol* 11 (1974) 174-176.
111. Newsome WH. A Method for the determination of ethyleneurea in foods as the pentafluorobenzamide. *J Agric Food Chem* 26 (1978) 1325-1327.
112. Newsome WH. Ethylenebis(dithiocarbamate)s and their degradation products. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators 11 (1980) 197-226.
113. Nilsson C-A, Nygren O. Determination of mancozeb in air. Occupational exposure during its use in control of potato late blight. *Chemosphere* 16 (1987) 2423-2428.
114. Nitz S, Moza P, Korte F. A capillary gas-liquid chromatographic method for determination of ethylenethiourea and propylenethiourea in hops, beer, and grapes. *J Agric Food Chem* 30 (1982) 593-596.
115. Onley JH, Yip G. Determination of ethylene thiourea residues in foods, using thin layer and gas chromatography. *J Assoc Official Annual Chem* 54 (1971) 165-169.
116. Onley JH. Gas-liquid chromatographic method for determining ethylenethiourea in potatoes, spinach, apple sauce, and milk: collaborative study. *J Assoc Official Annual Chem* 60 (1977) 1111-1115.
117. Onley JH, Giuffrida L, Ives NF, Watts RR, Storherr RW. Gas-liquid chromatography and liquid chromatography of ethylenethiourea in fresh vegetable crops, fruits, milk, and cooked foods. *J Assoc Official Annual Chem* 60 (1977) 1105-1110.
118. O'Neil WM, Marshall WD. Goitrogenic effects of ethylenethiourea on rat thyroid. *Pesticide Biochem Physiol* 21 (1984) 92-101.
119. Otto S, Keller W, Drescher N. A new gas chromatographic determination of ethylenethiourea residues without derivatization. *J Environ Sci Health B12* (1977) 179-191.
120. Pease HL, Holt RF. Manganese ethylenebis(dithiocarbamate) (maneb)/ethylenethiourea (ETU) residue studies on five crops treated with ethylenebis(dithiocarbamate) (EBDC) fungicides. *J Agric Food Chem* 25 (1977) 561-567.
121. Periquet A, Derache R, Souquet MM-C, Canal MJ-L. Toxicité d'un pesticide, le nabame, en fonction du taux protéique alimentaire chez le rat. *Toxicol Eur Res* 1 (1978) 27-37.
122. Petrova-Vergieva T, Ivanova-Chemishanska L. Assessment of the teratogenic activity of dithiocarbamate fungicides. *Fd Cosmet Toxicol* 11 (1973) 239-244.
123. Pinkhas J, Djaldeti M, Joshua H, Resnick C, De Vries A. Sulfhemoglobinemia and acute hemolytic anemia with Heinz bodies following contact with a fungicide-zinc ethylene bisdithiocarbamate-in a subject with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and hypocalcemia. *Blood* 21 (1963) 484-493.



124. Plasterer MR, Bradshaw WS, Booth GM, Carter MW, Schuler RL, Hardin BD. Developmental toxicity of nine selected compounds following prenatal exposure in the mouse: naphthalene, p-nitrophenol, sodium selenite, dimethyl phthalate, ethylenethiourea, and four glycol ether derivatives. *J Toxicol Environ Health* 15 (1985) 25-38.
125. Prince JL. Analysis of ethylenethiourea in urine by high-performance liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 33 (1985) 93-94.
126. Rhodes RC. Studies with manganese [<sup>14</sup>C]ethylenebis(dithiocarbamate) [<sup>14</sup>C]maneb fungicide and [<sup>14</sup>C]ethylenethiourea [<sup>14</sup>C]ETU in plants, soil, and water. *J Agric Food Chem* 25 (1977) 528-533.
127. Ripley BD, Cox DF. Residues of ethylenebis(dithiocarbamate) and ethylenethiourea in treated tomatoes and commercial tomato products. *J Agric Food Chem* 26 (1978) 1137-1143.
128. Ripley BD, Cox DF, Wiebe J, Frank R. Residues of dikar and ethylenethiourea in treated grapes and commercial grape products. *J Agric Food Chem* 26 (1978) 134-136.
129. Ripley BD, Simpson CM. Residues of zineb and ethylene thiourea in orchard treated pears and commercial pear products. *Pestic Sci* 8 (1977) 487-491.
130. Rose D, Pearson CM, Zuker M, Roberts JR. Ethylenethiourea: Criteria for the assessment of its effects on man. National Research Council of Canada NRC Associate Committee on Scientific Criteria for Environmental Quality. Publication No. NRCC 18469 of the Environmental Secretariat 1980.
131. Rosenberg C, Siltanen H. Residues of mancozeb and ethylenethiourea in grain samples. *Bull Environ Contam Toxicol* 22 (1979) 475-478.
132. Ross RG, Wood FA, Stark R. Ethylenebis(dithiocarbamate) and ethylenethiourea residues in apples and apple products following sprays of mancozeb and metiram. *Can J Plant Sci* 58 (1978) 601-604.
133. Ruddick JA, Williams DT, Hierlihy L, Khera KS. [<sup>14</sup>C]Ethylenethiourea: Distribution, excretion, and metabolism in pregnant rats. *Teratology* 13 (1976) 35-39.
134. Rudzki E, Ostaszewski K, Grzywa Z, Kozłowska A. Sensitivity to some rubber additives. *Cont Derm* 2 (1976) 24-27.
135. Savolainen K. Tiuramer och dimetylditiokarbamat. Nordiska expertgruppen för gränsvärdesdokumentation 89. Arbete och Hälsa 26 (1990) 1-35 (in Swedish, English summary).
136. Savolainen K, Hervonen H. Dithiocarbamate fungicides decrease histochemical reactivity of cholinesterases in the gut wall of the rat. *Arch Toxicol* 8 (1985) 271-275.
137. Savolainen KM, Kangas J. Strategies for biological monitoring of workers exposed to pesticides. Proceedings of the 7th International Bioindicators Symposium on Environmental Health, September 28-October 3, 1992, in press.
138. Savolainen K, Kurtio P, Vartiainen T, Kangas J. Ethylenethiourea as an indicator of exposure to ethylenebis(dithiocarbamate) fungicides. *Arch Toxicol Suppl* 10, 1989, 120-123.
139. Savolainen K, Pyysalo H. Identification of the main metabolite of ethylenethiourea in mice. *J Agric Food Chem* 27 (1979) 1177-1181.
140. Seiler JP. Ethylenethiourea (ETU), a carcinogenic and mutagenic metabolite of ethylenebis-dithiocarbamate. *Mutat Res* 26 (1974) 189-191.
141. Shiau SY, Huff RA, Wells BC, Felkner IC. Mutagenicity and DNA-damaging activity for several pesticides tested with bacillus subtilis mutants. *Mutat Res* 71 (1980) 169-179.
142. Sing LT, Spencer F. A post-implantational study on the effects of zineb on reproduction using the decidualized pseudopregnant rat as a model. *Bull Environ Contam Toxicol* 27 (1981) 418-425.
143. Singh J, Cochrane WP, Scott J. Extractive acylation of ethylenethiourea from water. *Bull Environ Contam Toxicol* 23 (1979) 470-474.
144. Smith D. Ethylene Thiourea - A study of possible teratogenicity and thyroid carcinogenicity. *J Soc Occup Med* 26 (1976) 92-94.
145. Smith DM. Ethylene thiourea: thyroid function in two groups of exposed workers. *Br J Ind Med* 41 (1984) 362-366.
146. Smith RM, Madahar KC, Salt WG, Smart NA. Determination of trace levels of ethylenethiourea by HPLC following derivatisation with phenacyl halides. *Chromatographia* 19 (1984) 411-414.
147. Spiegelhalter B. Carcinogens in the workroom air in the rubber industry. *Scand J Work Environ Health* 9, Suppl 2 (1983) 15-26.
148. Stein HP, Bahlman LJ, Leidel NA, Parker JC, Thomas AW, Millar JD. Ethylene thiourea (ETU). *Am Ind Hyg Assoc J* 39 (1978) A34-A38.
149. Von Stryk FG, Jarvis WR. Residues of mancozeb, maneb and ethylenethiourea in fungicide-treated field and greenhouse tomatoes. *Can J Plant Sci* 58 (1978) 623-628.
150. Szépvölgyi J, Nagy K, Sajóné Vukán K, Regöly-Merei A, Soós K, Tóth K, Pintér A., Antal M. Subacute toxicological examination of dithane M-45. *Fd Chem Toxic* 27 (1989) 531-538.
151. Teramoto S, Kaneda M, Suzuki R, Aoyama H, Kobayashi H, Shirasu Y. Assessment of teratogenicity of ethylenethiourea. *Proc Int Congr Pestic Chem* 3 (1983) 479-484.
152. Teramoto S, Shingu A, Shirasu Y. Induction of dominant-lethal mutations after administration of ethylenethiourea in combination with nitrite or N-nitroso-ethylenethiourea in mice. *Mutat Res* 56 (1978) 335-340.
153. Thuránzsky K, Kiss I, Botos M, Szebeni A. Effect of dithiocarbamate-type chemicals on the nervous system of rats. *Arch Toxicol Suppl* 5 (1982) 125-128.
154. Tuomisto J, Ranta T, Männistö P, Saarinen A, Leppäluoto J. Neurotransmitter control of thyrotropin secretion in the rat. *Eur J Pharmacol* 30 (1975) 221-229.
155. Tweedy BG. Symposium on origin and fate of ethylenethiourea fungicides. *J Agr Food Chem* 21 (1973) 323.
156. Ulland Borge M., Weisburger John H., Weisburger Elizabeth K., Rice Jerry M., Cypher Robert. Thyroid cancer in rats from ethylene thiourea intake. *J Natl Cancer Inst.* 49 (1972) 583-584.
157. Vainio H, Hemminki K, Wilbourn J. Data on the carcinogenicity of chemicals in the IARC monographs programme. *Carcinogenesis* 6 (1985) 1653-1665.
158. Watts RR, Storherr RW, Onley JH. Effects of cooking on ethylenebis(dithiocarbamate) degradation to ethylene thiourea. *Bull Environ Contam Toxicol* 12 (1974) 224-226.
159. Villa P, Sciarra M, Pileri M, Ficarra MG, Orecchio F. Biological action of dithiocarbamates. Biochemical change in liver and plasma of rabbits treated with zinc ethylenebis(dithiocarbamate) (zineb) and ethylenethiourea (ETU). *Acta Med Rom* 22 (1984) 292-310.
160. Woodruff RC, Phillips JP, Irvin D. Pesticide-induced complete and partial chromosome loss in screens with repair-defective females of *Drosophila melanogaster*. *Environ Mutagen* 5 (1983) 835-846.
161. Vonk JW, Sijpesteijn AK. Formation of ethylenethiourea from 5,6-dihydro-3H-imidazo[2,1-c]-1,2,4-dithiazole-3-thione by microorganisms and reducing agents. *J Environ Sci Health - Pestic Food Contam Agric Wastes B11* (1976) 33-47.
162. World Health Organization. Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, and propylenethiourea: A general introduction. *Environmental Health Criteria* 78, World Health Organization, Geneva, 1988.
163. Vos JG, Krajnc EI, Beekhof PK, van Logten MJ. Methods for testing immune effects of toxic chemicals: Evaluation of the immunotoxicity of various pesticides in the rat. *Pestic Chem: Hum Welfare Environ, Proc Int Congr Pestic Chem*, 5th Pergamon, Oxford, UK, 1982, pp. 497-504.

164. Voytenko, G.A., Burkatskaya, E.N., Matyushina, V.I., Dyadicheva, T.V., Matokhnyuk, L.A., Medved, I.L., Pestova, A.G., Aleksandrova, L.G., Ivanova, Z.V., Stepanchenko, N.G. Occupational hygiene problems involved in handling carbamate pesticides. *Gig Tr Prof Zabol* 16 (1972) 4-8.
165. Zuccarello M, Anzil AP. A localized model of experimental neuropathy by topical application of disulfiram. *Exp Neurology* 64 (1979) 699-703.

Inlämnat för publicering 1993-10-15