

3,3'-Dimetylobenzydyna i jej sole – frakcja wdychalna

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

3,3'-Dimethylbenzidine and its salts – inhalable fraction

Documentation of proposed values of occupational
exposure limits (OELs)

dr hab. ELŻBIETA BRUCHAJZER
e-mail: elzbieta.bruchajzer@umed.lodz.pl
dr BARBARA FRYDRYCH
e-mail: barbara.frydrych@umed.lodz.pl
prof. dr hab. JADWIGA SZYMAŃSKA
e-mail: jadviga.szymanska@umed.lodz.pl
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
90-151 Łódź
ul. J. Muszyńskiego 1

NDS	0,03 mg/m ³
NDSch	nie ustalono
NDSP	nie ustalono
DSB	nie ustalono
Carc. 1B	substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1.B (wykazuje potencjalne działanie rakotwórcze na ludzi)
Skóra	wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 23.06.2016 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 16.11.2017 r.

Słowa kluczowe: dimetylobenzydyna, narażenie zawodowe, toksyczność, NDS.
Keywords: dimethylbenzidine, occupational exposure, toxicity, MAC-TWA.

¹ Wartość NDS 3,3'-dimetylobenzydyny i jej soli – frakcji wdychalnej została w dniu 16.11.2017 r. przyjęta na 87. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie została przedłożona Ministrowi Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej (wniosek nr 103) w celu jej wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy.

² Publikacja opracowana na podstawie wyników III etapu programu wieloletniego „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2014-2016 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego/Narodowego Centrum Badań i Rozwoju.

Koordinator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Streszczenie

3,3'-Dimetylobenzydyna (3,3'-DMB, DMB, *o*-tolidyna) jest ciałem stałym, stosowanym m.in. w postaci dobrze rozpuszczalnego w wodzie dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny (DMB · 2HCl).

3,3'-Dimetylobenzydyna jest stosowana do produkcji: barwników azowych, poliuretanowych elastomerów, mas plastycznych oraz tworzyw sztucznych do powlekania. Niewielkie ilości substancji wykorzystuje się także w testach diagnostycznych wykonywanych w specjalistycznych laboratoriach.

Narażenie zawodowe na 3,3'-dimetylobenzydynę występuje głównie w czasie produkcji podczas wykorzystywania pigmentów w barwieniu: tkanin, tworzyw sztucznych, papieru oraz skór. W Polsce w latach 2005-2014 3,3'-dimetylobenzydynę stosowano w 18 ÷ 30 zakładach, w których na jej działanie było narażonych 135 ÷ 280 osób rocznie (głównie kobiet).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych epidemiologicznych i informacji o toksycznym działaniu samej 3,3'-dimetylobenzydyny na ludzi.

Po jednorazowym, dożyłkowym podaniu szczurom 3,3'-dimetylobenzydyny wartość LD₅₀ (mediana dawki śmiertelnej) wynosiła 404 mg/kg mc.

W warunkach narażenia powtarzanego u zwierząt laboratoryjnych notowano uszkodzenia: wątroby, nerek i tarczycy oraz zmiany hematologiczne.

W testach Amesa przeprowadzonych po aktywacji metabolicznej stwierdzono, że metabolity 3,3'-dimetylobenzydyny wykazują silniejsze działanie mutagenne niż związek macierzysty. W badaniach w warunkach *in vitro* zanotowano także aberracje chromosomowe i wymianę chromatyd siostrzanych.

Działanie rakotwórcze 3,3'-dimetylobenzydyny na ludzi nie zostało udowodnione, mimo że związek jest pochodną rakotwórczej benzydyny. Na podstawie wyników badań doświadczalnych na zwierzętach laboratoryjnych można jednak stwierdzić, że 3,3'-dimetylobenzydyna wykazuje działanie rakotwórcze.

Po podaniu szczurom 3,3'-dimetylobenzydyny (drogą podskórną) oraz dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny (w wodzie do picia) stwierdzono m.in. nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu sutkowego, gruczołu napletkowego, macicy, skóry, wątroby, układu krwiotwórczego, jelita cienkiego i grubego.

W IARC zaklasyfikowano 3,3'-dimetylobenzydynę jako substancję prawdopodobnie rakotwórczą dla ludzi (grupa 2.B), zaś w ACGIH – do grupy A3 (udowodnione działanie rakotwórcze na zwierzęta i nieznanie działanie rakotwórcze na ludzi). Unia Europejska (zgodnie z klasyfikacją CLP) zaliczyła związek do kategorii kancerogenności 1.B z przypisanym zwrotem H350 – może powodować raka.

Wartości dopuszczalnych stężeń dla 3,3'-dimetylobenzydyny w środowisku pracy ustalono tylko w niektórych państwach europejskich (Austrii, Słowenii i Szwajcarii) i wynoszą 0,03 mg/m³.

Podstawą do obliczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla 3,3'-dimetylobenzydyny i jej soli była ocena ryzyka wystąpienia nowotworów u samców szczurów narażonych przewlekle na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny (podawany w wodzie do picia). Za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia zaproponowano przyjęcie stężenia 0,03 mg/m³, tj. z ryzykiem nowotworowym na poziomie 10⁻⁴, uwzględniając także możliwość występowania innych nowotworów, nie tylko jelita grubego. Nie ma podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSC_h) oraz wartości dopuszczalnej w materiale biologicznym (DSB). Ponadto zaproponowano oznakowanie związku „Carc. 1B”, informujące, że jest to substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1.B oraz „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową.

Summary

3,3'-Dimethylbenzidine (3,3'-DMB, DMB, *o*-tolidine) is a solid used (as water-soluble dihydrochloride salt (dimethylbenzidine · 2HCl)) in the production of azopigments, polyurethane elastomers and plastics for coating. Small amounts are also used in diagnostic tests in laboratories.

Occupational exposure to dimethylbenzidine occurs mainly during the production and use of pigments to dye textiles, plastics, paper and leather. In 2005–2014, dimethylbenzidine was used in Poland in 18–30 workplaces, where 135–280 people each year (mainly women) were exposed. No epidemiological data and

information related to toxic effects of DMB in humans was found in the available literature.

The LD₅₀ value (median lethal dose) after single intragastric administration of 3,3'-dimethylbenzidine to rats was 404 mg/kg. After repeated exposure of laboratory animals, liver, kidney, thyroid injury and hematological changes were noted.

In the Ames tests with metabolic activation, it was found that metabolites of 3,3'-dimethylbenzidine show stronger mutagenic action than the parent compound. 3,3'-DMB induced also chromosome aberrations and exchange of sister chromatids in *in vitro* tests.

Although 3,3'-dimethylbenzidine is a derivative of carcinogenic benzidine, carcinogenic effects on humans have not been proven. However, research provides data about carcinogenic effect of 3,3'-DMB in animals. After subcutaneous administration of 3,3'-dimethylbenzidine and its dihydrochloride salt in drinking water, Zymbal's and mammary glands tumors, and cancers of uterus, skin, liver, hematopoietic system, small and large intestine were observed in rats. IARC classified 3,3'-dimethylbenzidine in the 2B group (a supposed carcinogenic agent for humans), whereas ACGIH – in the A3 group (proved carcinogenic effect on animals and unknown carcinogenic effect for humans). The European Union (according to the CLP classification) has listed 3,3'-DMB in the 1B category with the inscription "H350 – can cause cancer".

The permissible concentrations for 3,3'-dimethylbenzidine have been established in some European

countries only (Austria, Slovenia and Switzerland) as 0.03 mg/m³.

The basis of the proposed maximum concentration value (MAC-TWA) for 3,3'-dimethylbenzidine and its salts was a risk assessment of cancer in male rats chronically exposed to 3,3'-dimethylbenzidine dihydrochloride in drinking water. Taking into account the cancer risk at the level of 10⁻⁴, a concentration of 0.03 mg/m³ for the MAC-TWA value was proposed. There are no basis to determine the short-term value (STEL) and biological limit values (BLV). It was also proposed to label the compound with "Carc 1B", which indicates that it is a carcinogen category 1B, and "skin" – the absorption of substances through the skin may be as important as an inhalation route.

CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

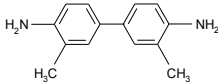
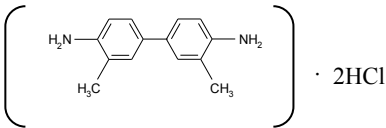
Ogólna charakterystyka substancji

Ogólną charakterystykę 3,3'-dimetylobenzydyny (3,3'-DMB, DMB) i dichlorowodorku 3,3'-dimetylobenzydyny (dimetylobenzydyna · 2HCl,

DMB · 2HCl) przedstawiono w tabeli 1. (GESTIS 2016; HSDB 2016; IARC 2010; ICSC 2009; NIOSH 1978; The Merck... 2006; Report... 2011; Rozporządzenie... 2008; RTECS 2015).

Tabela 1.

Charakterystyka 3,3'-dimetylobenzydyny i dichlorowodorku 3,3'-dimetylobenzydyny

Ogólna charakterystyka substancji	3,3'-Dimetylobenzydyna	Dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny
Wzór sumaryczny	C ₁₄ H ₁₆ N ₂	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ · 2HCl
Wzór strukturalny		
Masa cząsteczkowa	212,3	285,22
Nazwa chemiczna	3,3'-dimetylobenzydyna; 3,3'-dimethylbenzidine	dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny
Numer CAS	119-93-7	612-82-8
Nazwa CAS	3,3'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4,4'-diamine	3,3'-dimethyl[1,1'-biphenyl]-4,4'-diamine hydrochloride (1:2)
Nazwa IUPAC	4-(4-amino-3-methylphenyl)-2-methylaniline	4-(4-amino-3-methylphenyl)-2-methylaniline dihydrochloride
Nazwa zwyczajowa	<i>o</i> -tolidyna	dichlorowodorek <i>o</i> -tolidyny

cd. tab. 1.

Ogólna charakterystyka substancji	3,3'-Dimetylobenzydyna	Dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny
Numer WE (EINECS)	204-358-0	210-322-5
Numer indeksowy (EC)	612-041-00-7	612-081-00-5
Numer RTECS	DD1225000	DD1226000
Synonimy	3,3'-dimetylo-(1,1'-bifenylo)-4,4'-diamina; 3,3'-dimetylo-4,4'-bifenylodiamina; (3,3'-dimetyl-4,4'-biphenyldiamine); 3,3'-dimetylobifenylo-4,4'-diamina; (3,3'-dimethyldiphenyl-4,4'-diamine); 4,4'-bi- <i>o</i> -toluidyna, (4,4'-bi- <i>o</i> -toluidine); 4,4'-diamino-3,3'-dimetylobifenyl; (4,4'-diamino-3,3'-dimethylbiphenyl); diaminoditolył; 4,4'-di- <i>o</i> -toluidyna; <i>o,o'</i> -tolidyna; ortotolidyna; <i>o</i> -tolidyna, (<i>o</i> -tolidine); 2-tolidyna, (2-tolidine); 3,3'-tolidyna, (3,3'-tolidine)	chlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny; dichlorowodorek 3,3'-dimetylo-(1,1'-bifenylo)- -4,4'-diaminy; (3,3'-dimethyl-[1,1'-biphenyl]-4,4'-diamine dihydrochloride); dichlorowodorek 4,4'-diamino-3,3'- -dimetylobifenylu; dichlorowodorek <i>o</i> -tolidyny (<i>ortho</i> -tolidine dihydrochloride); chlorowodorek <i>o</i> -tolidyny; dichlorowodorek 4,4'-bis- <i>o</i> -toluidyny
Nazwy handlowe	C.I. 37230; C.I. Azotic Diazo Component 113; Fast Dark Blue Base R; dimetylobenzydyna	brak

Zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie 3,3'-dimetylobenzydyny (*o*-tolidyna) i jej soli zgodnie z tabelą 3.1. załącznika VI rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE z dnia 31.12.2008 r. L353) zamieszczono w tabeli 2. i przedstawiono na rysunku 1.

3,3'-Dimetylobenzydyna i dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny są sklasyfikowane:

- pod względem zagrożeń dla zdrowia:
 - jako substancje rakotwórcze kategorii zagrożenia 1.B, z przypisanym zwrotem H350 – może powodować raka
 - do kategorii zagrożenia 4. toksyczności ostrej, z przypisanym zwrotem H302 – działa szkodliwie po połknięciu,
- pod względem zagrożeń dla środowiska:
 - do kategorii zagrożenia 2. toksyczności przewlekłej, z przypisanym zwrotem H411 – działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe zmiany.

Tabela 2.

Zharmonizowana klasyfikacja oraz oznakowanie 3,3'-dimetylobenzydyny i jej soli zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (CLP)

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer indeksowy	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
4,4'-Bi- <i>o</i> -toluidine	612-041-00-7	204-358-0	119-93-7	Carc. 1B Acute Tox. 4* Aguatic Chronic 2	H350 H302 H411	GHS08 GHS07 GHS09 Dgr	H350 H302 H411		

cd. tab. 2.

Międzynarodowa terminologia chemiczna	Numer indeksowy	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie		Specyficzne stężenia graniczne i współczynniki „M”	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody hasel ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
Salts of 4,4'-bi- <i>o</i> -toluidine; salts of 3,3'-dimethylbenzidine; salts of <i>o</i> -tolidine	612-081-00-5	210-322-5	612-82-8	Carc. 1B Acute Tox. 4* Aquatic Chronic 2	H350 H302 H411	GHS08 GHS07 GHS09 Dgr	H350 H302 H411		A
		265-294-7	64969-36-4						
		277-985-0	74753-18-7						

Objaśnienia:

* – minimum klasyfikacji (wymaga szczególnej uwagi).

Carc. 1B – rakotwórczość, kategoria zagrożenia 1.B.; H350 – może powodować raka.

GHS08 – zagrożenie dla zdrowia; H350 – może powodować raka.

Acute Tox. 4 – toksyczność ostra, kategoria zagrożenia 4. (drogą pokarmową); H302 – działa szkodliwie po połknięciu.

Aquatic Chronic 2 – niebezpieczne dla środowiska naturalnego; H411 – działa toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Dgr – Danger (substancja niebezpieczna).

A – substancja musi występować w postaci jednego z oznaczeń podanych w części 3.



GHS07 – ostra toksyczność, kategoria zagrożenia 4.
 Kod hasła ostrzegawczego: Dgr („Danger”)



GHS08 – zagrożenie dla człowieka, kategoria zagrożenia 1.B, może powodować raka



GHS09 – niebezpieczne dla środowiska

Rys. 1. Piktogramy określone w załączniku do rozporządzenia WE nr 1272/2008 (CLP) mają czarny symbol na białym tle z czerwonym obramowaniem na tyle szerokim, aby było wyraźnie widoczne

Właściwości fizykochemiczne substancji

Dimetylobenzydyna i jej dichlorowodorek to ciała stałe o zbliżonej temperaturze topnienia i wrzenia. Związek w postaci soli (dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny) jest znacznie lepiej rozpuszczalny w wodzie.

Właściwości 3,3'-dimetylobenzydyny (3,3'-DMB, DMB) i dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny (dimetylobenzydyna · 2HCl, DMB · 2HCl) przedstawiono w tabeli 3. (ACGIH 2001; GESTIS 2016; HSDB 2016; ICSC 2009; NIOSH 1978; National... 1992; The Merck... 2006).

Tabela 3.
Właściwości fizykochemiczne 3,3'-dimetylobenzydyny i dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny

Właściwości fizykochemiczne	3,3'-Dimetylobenzydyna	Dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny
Postać	białe lub bladobrunatne ciało stałe bez zapachu, ciemniejące na powietrzu	jasnobeżowe, szarobeżowe lub jasnoczerwone ciało stałe
Temperatura topnienia	129 ÷ 131 °C	130 °C z wydzieleniem chlorowodoru
Temperatura wrzenia	300,5 °C	> 300 °C
Gęstość względna (masa właściwa) d_4^{20}	1,234 (woda = 1 g/cm ³)	brak danych
Prężność par	$1,7 \times 10^{-4} \div 6,9 \times 10^{-7}$ mm Hg (w temp. 25 °C); 0,00009199 ÷ 0,02266 Pa	$2,14 \times 10^{-5}$ mm Hg (w temp. 25 °C); 0,002853 Pa
Względna prężność par (powietrze = 1)	brak danych	brak danych
Temperatura zapłonu	244 °C	205,1 °C
Temperatura samozapłonu	526 °C	brak danych
Granice wybuchowości	brak danych	brak danych
Współczynnik podziału n-oktanol/woda (log P_{ow})	2,34	brak danych
Rozpuszczalność w wodzie	< 1 g/l (w temp. 19 °C); 1,3 g/l (w temp. 25 °C)	10 ÷ 50 g/l (w temp. 22 °C)
Rozpuszcza się w:	95% etanolu (< 1 g/l w temp. 19 °C), DMSO i acetonie (≥ 100 g/l w temp. 19 °C), eterze oraz w rozcieńczonych kwasach	95% etanolu (< 1 g/l w temp. 15 °C), DMSO (10 ÷ 50 g/l w temp. 22 °C), acetonie (< 1 g/l w temp. 22 °C), eterze oraz w rozcieńczonych kwasach
Współczynniki przeliczeniowe w warunkach normalnych (w temp. 25 °C, ciśn. 101,3 kPa)	1 ppm = 8,68 mg/m ³ (Toxic Air... 1997); 1 ppm = 8,81 mg/m ³ (MAK Value Documentation... 2002); 1 mg/m ³ = 0,113 ppm (MAK Value Documentation... 2002)	brak danych

Występowanie, otrzymywanie, zastosowanie, narażenie

3,3'-Dimetylobenzydyna (*o*-tolidyna) nie występuje w środowisku w stanie naturalnym. Otrzymywana jest w wyniku reakcji redukcji *o*-nitrofenolu do 1,2-di-*o*-tolilohydrazyny, która w środowisku kwaśnym ulega przegrupowaniu do dimetylobenzydyny (HSBD 2016; The Merck... 2006).

Dimetylobenzydyna może dostawać się do środowiska jako zanieczyszczenie i odpady z procesów technologicznych przy jej produkcji, stosowaniu (jako półprodukt w syntezach chemicznych, m.in. przy produkcji barwników) oraz utylizacji (HSBD 2016; The Merck... 2006).

3,3'-Dimetylobenzydyna jest głównie wykorzystywana (75% produkcji) do syntezy około 95 różnych pigmentów i barwników azowych (m.in.: Direct Red 2, Direct Red 39, Direct Blue 25). Około 20% wytwarzanej dimetylobenzydyny stosuje się jako utwardzacz żywic poliuretanowych oraz do produkcji: poliuretanowych elastomerów, twardej tworzywa sztucznych i plastycznych mas do powlekania. Niewielkie ilości dimetylobenzydyny wykorzystuje się także w testach diagnostycznych w analityce medycznej. Związek ten jest czułym odczynnikiem do wykrywania: metali (złota, miedzi, manganu, kobaltu, rtęci), tiocyjanianów, nitryli oraz chlorków w wodzie (HSDB 2016; U.S. EPA 1987).

Narażenie zawodowe na dimetylobenzydynę występuje podczas jej produkcji, głównie w procesach technologicznych związanych z wytwarzaniem i wykorzystaniem barwników azowych (barwienie tkanin, tworzyw sztucznych, papieru, skór), (HSDB 2016).

W 1962 r. produkcja dimetylobenzydyny w USA wynosiła około 120 t, natomiast import tej substancji – około 170 t. W roku 1969 i 1970 import związku do USA wynosił odpowiednio 40 t i prawie 50 t (IARC 1972). W 1984 r. importowano 34 t dimetylobenzydyny, a liczbę osób narażonych zawodowo w USA szacowano na 9 640.

Dimetylobenzydyna dostawała się do organizmu człowieka głównie drogą inhalacyjną, poprzez

wchłanianie przez skórę oraz incydentalnie – drogą pokarmową (ACGIH 2001).

Według informacji z Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Substancje, Mieszanki, Czynniki lub Procesy Technologiczne o Działaniu Rakotwórczym lub Mutagennym na 3,3'-dimetylobenzydynę jest narażonych kilkaset osób rocznie. W Polsce w latach 2005-2014 3,3'-dimetylobenzydynę stosowano w 18 ÷ 30 zakładach, w których na jej działanie było narażonych 135 ÷ 280 osób rocznie (głównie kobiet). Dokładne dane na temat narażenia zawodowego na 3,3'-dimetylobenzydynę przedstawiono w tabeli 4.

Tabela 4.
Narażenie zawodowe na 3,3'-dimetylobenzydynę w Polsce w latach 2005-2016

Rok	Liczba województw	Liczba zakładów	Liczba mężczyzn	Liczba kobiet (razem)	Liczba kobiet < 45 lat	Liczba osób razem
2005	9	20	25	135	brak danych	160
2006	8	18	29	106	brak danych	135
2007	12	30	42	148	brak danych	190
2008	11	25	51	206	brak danych	257
2009	9	21	34	196	brak danych	230
2010	9	23	55	208	brak danych	263
2011	11	29	127	307	brak danych	434
2012	11	30	71	211	117	282
2013	10	26	59	196	98	255
2014	9	29	46	171	110	217
2015	11	26	35	143	85	178
2016	11	27	71	262	173	333

Na podstawie dostępnych danych stwierdzono, że w latach 50. XX wieku pracownicy byli narażeni na dimetylobenzydynę o stężeniach 2 ÷ 87 µg/m³

(średnio 20 µg/m³ – stężenie to notowano jako pułapowe, po godzinnym pobieraniu próby powietrza), (NIOSH 1978).

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA LUDZI

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono informacji o toksycznym działaniu samej 3,3'-dimetylobenzydyny na ludzi. Według danych opublikowanych w 1908 r. (Adler 1908) narażenie inhalacyjne, nawet na niewielkie stężenia (bliżej niesprecyzowane) 3,3'-dimetylobenzydyny w postaci chłorowodoru, spowodowało podrażnienie dróg oddechowych i nieżyt nosa. Inne dane nie potwierdzają drażniącego działania dimetylobenzydyny w czasie narażenia zawodowego (NIOSH 1978).

Badania epidemiologiczne

W dostępnym piśmiennictwie oraz toksykologicznych bazach komputerowych nie znaleziono wyników badań epidemiologicznych dotyczących skutków zdrowotnych narażenia na samą 3,3'-dimetylobenzydynę.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu szczurom 3,3'-dimetylobenzydyny wartość LD_{50} (mediana dawki śmiertelnej) wynosiła 404 mg/kg mc., natomiast po dootrzewnowym podaniu myszom związku wartość LD_{50} wynosiła 90,9 mg/kg mc. (HSDB 2016; MAK 2002).

Po dożołądkowym podaniu trzem królikom (o masie ciała około 2 kg) dimetylobenzydyny w dawce 1 g/dzień (podawana w roztworze wodnym przez 3 dni) obserwowano: ospałość, bezmocz oraz w 4. dniu padnięcie zwierząt spowodowane uszkodzeniem nerek. Autopsja wykazała jasnoszare zabarwienie nerek (Adler 1908).

Brown i in. (1977) ocenili działanie drażniące dimetylobenzydyny podanej na skórę albinotycznych królików. Po naniesieniu 0,5 g związku (34,9% w postaci dichlorowodoru, 65,1% w postaci 3,3'-dimetylobenzydyny) na ogoloną skórę pod opatrunek okluzyjny (na 24 h) nie zanotowano działania drażniącego na skórę nieuszkodzoną, a na skórze uszkodzonej stwierdzono tylko niewielkie zaczerwienienie.

Toksyczność po podawaniu wielokrotnym

Dane opisujące skutki toksyczne po wielokrotnym narażeniu na samą dimetylobenzydynę pochodzą z eksperymentu, w którym związek ten podawano szczurom drogą pokarmową (Maruya 1938). Zwierzęta (9 szczurów, nie ma informacji o płci zwierząt) otrzymywały paszę z dodatkiem (20 ml/kg paszy) oliwy z oliwek, która zawierała 5% dimetylobenzydyny. Narażenie trwało 21 ÷ 111 dni. U zwierząt, które padły lub zostały zabite na koniec eksperymentu wykonano badania histopatologiczne nerek. U sześciu zwierząt (67%) zanotowano zmiany w kanalikach nerkowych (obrzęk i zagęszczenie komórek wyścielających kanaliki oraz zwężenie światła kanalików nerkowych), a u dwóch szczurów (22%) – nagromadzenie barwnika (wynik hemolizy) w komórkach nabłonkowych kanalików proksymalnych (Maruya 1938).

Znacznie więcej informacji o toksyczności dimetylobenzydyny pochodzi z doświadczeń, w których związek ten stosowano w postaci dichlorowodoru. Badania takie obejmowały m.in. ocenę toksyczności

po 14 dniach podawania szczurom związku w wodzie do picia o stężeniach 600 ÷ 7500 mg/l (ppm), (NTP 1991). W tabeli 5. przedstawiono toksyczność dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny, który był podawany w wodzie do picia szczurom przez 14 dni. W grupie narażonej na DMB · 2HCl o najmniejszym stężeniu (600 mg/l) obserwowano zmniejszone spożycie wody. Stężenie to, odpowiadające dawkom 40 mg/kg mc./dzień dla samców i 47 mg/kg mc./dzień dla samic, przyjęto za wartość LOAEL. Narażenie szczurów na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 1250 mg/l (1250 ppm podawana w wodzie) spowodowało ponadto zmniejszenie przyrostu masy ciała (o 11 ÷ 14% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej). Wyraźne objawy toksycznego działania związku obserwowano po narażeniu zwierząt na DMB · 2HCl o stężeniu 2500 mg/l (czyli 111 mg/kg mc./dzień dla samców i 139 mg/kg mc./dzień dla samic) i większym. U wszystkich szczurów zanotowano objawy wycieńczenia i łukowate wygięcie grzbietu. Stwierdzono także – zależne od stężenia – zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia wody. Znaczne zmniejszenie spożycia wody (o 83 ÷ 88% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej) i przyrostu masy ciała szczurów narażonych na DMB · 2HCl o stężeniu 7500 mg/l (142 mg/kg mc./dzień dla samców i 189 mg/kg mc./dzień dla samic) było przyczyną padnięć wszystkich samców i jednej samicy przed zakończeniem narażenia. Po tym stężeniu zanotowano także: wzrost wrażliwości skóry na dotyk, ataksję, obecność czerwonej wydzieliny w okolicy oczu i nozdrzy, szorstką i nastroszoną sierść. W badaniach histopatologicznych zwierząt narażanych na związek o stężeniu 5 000 oraz 7 500 mg/l wody stwierdzono: istotny zanik tkanki tłuszczowej, zmniejszenie względnej masy grasicy na skutek zaniku komórek limfocytarnych (po stężeniu 2 500 lub 5 000 mg/l), zmniejszenie względnej masy pęcherzyków nasieniowych u samców (po stężeniu 7 500 mg/l). U samców szczurów narażanych na DMB · 2HCl o stężeniach $\geq 2 500$ mg/l i samic o stężeniach $\geq 5 000$ mg/l stwierdzono cechy martwicy wątroby oraz obecność brązowego barwnika w zatokach wątrobowych. Po narażeniu zwierząt na DMB · 2HCl o stężeniach $\geq 2 500$ mg/l ($\geq 2 500$ ppm, czyli 111 mg/kg mc./dzień dla samców i 139 mg/kg mc./dzień dla samic) zanotowano także: uszkodzenia nerek, atrofie

szpiku kostnego, grasicy i węzłów chłonnych (krezkowych i żuchwowych) oraz ogniska zaniku komórek zrazikowych trzustki (NTP 1991), (tab. 5.).

Tabela 5.
Toksyczność dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny po 14-dniowym podawaniu szczurom związku w wodzie do picia (NTP 1991)

Gatunek, liczba zwierząt, płeć	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Objawy działania toksycznego
		♂	♀	
Szczyr F344/N, 5♂, 5♀	600	40	47	zmniejszenie spożycia wody o 25 ÷ 30% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej (LOAEL = 40 ÷ 47 mg/kg mc./dzień); zmniejszenie przyrostu masy ciała o 11 ÷ 14%
	1 250	90	75	
Szczyr F344/N, 5♂, 5♀	2 500	111	139	zmniejszenie przyrostu masy ciała o ok. 40%; cechy martwicy wątroby oraz obecność brązowego barwnika w zatokach wątrobowych u samców, uszkodzenie nerek (wakuolizacja i/lub martwica komórek kory nadnerczy), atrofia szpiku kostnego, grasicy i węzłów krezkowych i żuchwowych oraz ogniska zaniku komórek zrazikowych trzustki
Szczyr F344/N, 5♂, 5♀	5 000	127	150	zmniejszenie przyrostu masy ciała o 60%, spadek spożycia wody; cechy martwicy wątroby oraz obecność brązowego barwnika w zatokach wątrobowych u samców, uszkodzenie nerek (wakuolizacja i/lub martwica komórek kory nadnerczy), atrofia szpiku kostnego, grasicy i węzłów krezkowych i żuchwowych oraz ogniska zaniku komórek zrazikowych trzustki; w badaniach patomorfologicznych istotny zanik tkanki tłuszczowej
Szczyr F344/N, 5♂, 5♀	7 500	142	189	zmniejszenie przyrostu masy ciała o 60%, spadek spożycia wody o 83 ÷ 88% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej; 1 samica i wszystkie samce padły przed zakończeniem narażenia (13. dnia eksperymentu z powodu znacznego zmniejszenia masy ciała oraz spożycia wody); zanotowano zwiększenie wrażliwości skóry na dotyk, ataksję, czerwoną wydzielinę w okolicy oczu i nozdrzy, szorstką i nastroszoną sierść; u wszystkich szczurów (niezależnie od dawki) wystąpiły objawy wycieńczenia i łukowate wygięcia grzbietu; cechy martwicy wątroby oraz obecność brązowego barwnika w zatokach wątrobowych u samców, uszkodzenie nerek (wakuolizacja i/lub martwica komórek kory nadnerczy), atrofia szpiku kostnego, grasicy i węzłów krezkowych i żuchwowych oraz ogniska zaniku komórek zrazikowych trzustki; w badaniach patomorfologicznych istotny zanik tkanki tłuszczowej, zmniejszenie względnej masy pęcherzyków nasiennych

Objaśnienia:

♀ – samice.

♂ – samce.

Toksyczność podprzewlekła

Badania toksyczności podprzewlekłej wykonano na szczurach, którym podawano z wodą do picia dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniach 300 ÷ 4000 mg/l (300 ÷ 4000 ppm), (NTP 1991). W tabeli 6. przedstawiono toksyczność podprzewlekłą dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny po 13-tygodniowym podawaniu szczurom związku w wodzie do picia. Po narażeniu zwierząt na zwią-

zek o stężeniu 300 mg/l (300 ppm, czyli 16 mg/kg mc./dzień dla samców i 18 mg/kg mc./dzień dla samic) u wszystkich samic i jednego samca zanotowano zmiany martwicze w wątrobie. Po narażeniu szczurów na DMB · 2HCl o stężeniu 500 mg/l (22 mg/kg mc./dzień dla samców i 27 mg/kg mc./dzień dla samic) i większym stwierdzono: zmiany w nerkach u samców oraz zmniejszenie liczby erytrocytów i hematokrytu u samic. Po narażeniu na dichlorowodorek dimetylobenzydyny

o stężeniu 1 000 mg/l i większym obserwowano: zmiany w jądrach i najądrzach, zmniejszenie hematokrytu i liczby erytrocytów oraz wzrost aktywności SDH w surowicy samców. Niezależnie od stężenia zanotowano zmniejszenie poziomu T₃ (u samic) i T₄ (u samców i samic). Najsilniejsze skutki toksyczne zanotowano po narażeniu szczurów na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 2 000 lub 4 000 mg/l. Po narażeniu zwierząt na związek o stężeniu 2 000 mg/l, 40% samców i 30% samic padło przed końcem narażenia, a u pozostałych zwierząt stwierdzono znaczne (o 40%) zmniejszenie masy ciała i spożycia wody. Po narażeniu szczurów na DMB · 2HCl o stężeniu 4 000 mg/l (144 mg/kg mc./dzień dla samców i 266 mg/kg mc./dzień dla samic) wszystkie zwierzęta padły pod koniec 4. tygodnia narażenia. Już po 1. tygodniu podawania związku o największym stężeniu i po 2 tygodniach o stężeniu 2 000 mg/l (86 mg/kg mc./dzień dla samców i 100 mg/kg mc./dzień dla samic) obserwowano wyraźne oznaki wycieńczenia organizmu, czerwoną wydzielinę w okolicy oczu i nozdrzy,

a sierść była szorstka i nastroszona. W doświadczeniu oceniającym toksyczność podprzewleklą zanotowano zmiany we krwi, m.in.: spadek poziomu hematokrytu i hemoglobiny, zmniejszenie liczby erytrocytów a zwiększenie leukocytów i limfocytów, wzrost aktywności enzymów wątrobowych (SDH, ALT), zmniejszenie poziomów hormonów tarczycy (T₃ i T₄) w surowicy. Ponadto po narażeniu szczurów na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 2 000 lub 4 000 mg/l stwierdzono takie zmiany histopatologiczne, jak: martwicę wątroby, nefropatię, atrofię grasicy, śledziony i szpiku kostnego oraz zwyrodnienia trzustki. W eksperymencie podprzewleklą przyjęto, że w zależności od płci wartość LOAEL wynosi 16 ÷ 18 mg/kg mc./dzień (czyli 300 mg/l podawana w wodzie do picia). U zwierząt, którym podawano związek obserwowano zmiany histopatologiczne w wątrobie, zmiany w parametrach hematologicznych i biochemicznych we krwi oraz zmniejszenie spożycia wody i zmniejszenie masy ciała (NTP 1991), (tab. 6).

Tabela 6.

Toksyczność podprzewleklą dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny po 13-tygodniowym podawaniu szczurom związku w wodzie do picia (NTP 1991)

Gatunek liczba zwierząt, płeć,	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Objawy działania toksycznego
		♂	♀	
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	300	16	18	minimalne zmiany martwicze w wątrobie u wszystkich samic i 1 samca; zmniejszenie spożycia wody (o 20% u samców i 43% u samic); u ♂ – wzrost LDH, SDH i zmniejszenie T ₄ w surowicy; u ♀ – zmniejszenie liczby erytrocytów i poziomu T ₄ , wzrost aktywności SDH w surowicy; LOAEL = 16 ÷ 18 mg/kg/dzień (300 mg/l)
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	500	22	27	u ♂ – wzrost SDH i zmniejszenie T ₄ w surowicy; u ♀ – zmniejszenie liczby erytrocytów i hematokrytu, poziomu T ₃ i T ₄ , wzrost aktywności SDH w surowicy; zmiany w nerkach (powiększenie komórek nabłonka kanalików nerkowych)
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	1 000	44	50	u ♂ – wzrost aktywności LDH, ALT, SDH, liczby leukocytów i limfocytów, zmniejszenie poziomu hematokrytu, liczby erytrocytów i T ₄ w surowicy, obecność niedojrzałych komórek nasienia w jądrach i najądrzach; u ♀ – zmniejszenie liczby erytrocytów i poziomu hematokrytu, poziomu T ₃ i T ₄ , wzrost aktywności SDH, liczby leukocytów i limfocytów w surowicy; zmiany w nerkach (powiększenie komórek nabłonka kanalików nerkowych)

cd. tab. 6.

Gatunek liczba zwierząt, płeć,	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Objawy działania toksycznego
		♂	♀	
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	2 000	86	100	4/10 samce i 3/10 samice padły przed końcem 4. tygodnia narażenia; istotny spadek masy ciała samców i samic (o 42 ÷ 48%), spadek spożycia wody (o 64%); po 2 tygodniach wyraźne objawy wycieńczenia organizmu oraz czerwona wydzielina w okolicy oczu i nozdrzy; sierść szorstka i nastroszona; zanik tkanki tłuszczowej, zaczerwienienie obszarów gruczołowych błony śluzowej żołądka; zmiany histopatologiczne w: wątrobie, nerkach, szpiku kostnym, układzie limfatycznym (śledzionie, grasicy, węzłach chłonnych krezkowych i zuchwowych), trzustce (zwyrodnienie mięszu zrazików trzustki; u ♂ – wzrost aktywności ALT, SDH, liczby leukocytów i limfocytów, zmniejszenie poziomu hematokrytu, liczby erytrocytów i T ₄ w surowicy, obecność niedojrzałych komórek nasienia w jądrach i najądrzach; u ♀ – zmniejszenie liczby erytrocytów i poziomu hematokrytu, poziomu T ₃ i T ₄ , wzrost aktywności SDH, ALT, liczby leukocytów i limfocytów w surowicy; zmiany w nerkach (powiększenie komórek nabłonka kanalików nerkowych)
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	4 000	144	266	wszystkie szczury padły przed końcem 4. tygodnia eksperymentu; już po 1. tygodniu podawania – wyraźne oznaki wycieńczenia organizmu oraz czerwona wydzielina w okolicy oczu i nozdrzy, sierść szorstka i nastroszona, zanik tkanki tłuszczowej, zaczerwienienie obszarów gruczołowych błony śluzowej żołądka; zmiany histopatologiczne w: wątrobie, nerkach, szpiku kostnym, układzie limfatycznym (śledzionie, grasicy, węzłach chłonnych krezkowych i zuchwowych), trzustce (zwyrodnienie mięszu zrazików trzustki)

Objaśnienia:

♀ – samice.

♂ – samce.

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu szczurom 3,3'-dimetylobenzydyny wartość LD₅₀ (mediana dawki śmiertelnej) wynosiła 404 mg/kg mc., natomiast po dootrzewnowym podaniu myszom związku wartość LD₅₀ wynosiła 90,9 mg/kg mc. (HSDB 2016; MAK 2002).

Toksyczność przewlekła

Badania toksyczności przewlekłej 3,3'-dimetylobenzydyny wykonano na: szczurach, chomikach

i psach. Wyniki uzyskane z badań doświadczalnych na zwierzętach narażanych przewlekłe na 3,3'-dimetylobenzydynę zamieszczono w tabeli 7. Po podskórnym podaniu szczurom 3,3'-dimetylobenzydyny w dawce 60 mg/szczura/tydzień (raz w tygodniu przez całe życie) czterdzieści osiem zwierząt przeżyło 300 dni i więcej. Nie zanotowano u nich marskości i zmian nowotworowych w wątrobie (*Spitz* i in. 1950).

Tabela 7.

Toksyczność przewlekła 3,3'-dimetylobenzydyny (o-tolidyny) po narażeniu zwierząt laboratoryjnych

Gatunek, liczba zwierząt, płeć	Droga narażenia	Czas trwania narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur Sherman, n = 105, ♀, grupa kontrolna n = 50	podskórnym, komercyjna o-tolidyna (w oliwie z oliwek)	całe życie (110 tygodni), raz w tygodniu	60 mg/szczura/tydzień (dawka skumulowana 5,5 g/szczura)	48 szczurów przeżyło 300 dni i więcej; brak marskości i nowotworów wątroby	<i>Spitz</i> i in. 1950

cd. tab. 7.

Gatunek, liczba zwierząt, płeć	Droga narażenia	Czas trwania narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Chomik, 30♀, 30♂	dozołdkowa, komercyjna <i>o</i> -tolidyna	całe życie (brak dokładnych danych)	0,1% w paszy; 60 mg/tydzień; 62 mg/kg mc./dz.; 3 g/zwierzę/rok	analizowano tylko zmiany w wątrobie i pęcherzu moczowym, których nie stwierdzono	<i>Saffiotti</i> i in. 1967
Chomik, 30♀, 30♂	dozołdkowa, komercyjna <i>o</i> -tolidyna	całe życie (brak dokładnych danych)	0,3% w paszy; ok. 186 mg/kg mc./dz.; 9 g/zwierzę/rok	0,3% w paszy – maksymalna dawka tolerowana (zanotowano skutki niekorzystnego działania, nie podano jednak jakie)	<i>Sellakumar</i> i in. 1969
Pies, <i>n</i> = 4, ♀ (18 ÷ 22 kg)	dozołdkowa (kapsułki żelatynowe)	8 ÷ 9 miesięcy	200 mg/dzień (dawka skumulowana 50 g/psa)	1 pies padł z powodu raka pęcherza moczowego (8 lat po badaniu), pozostałe 3 psy padły z przyczyn naturalnych	<i>Ferber</i> 1977

Objaśnienia:

♀ – samice.

♂ – samce.

Podawanie chomikom dimetylobenzydyny drogą pokarmową (w paszy) przez całe życie (w dawkach skumulowanych 3 lub 9 g/zwierzę/rok) nie spowodowało zmian w wątrobie i pęcherzu moczowym. Dawkę 0,3% dimetylobenzydyny w paszy (odpowiadającą dawce skumulowanej 9 g/zwierzę/rok) uznano za maksymalną dawkę tolerowaną (*Saffiotti* i in. 1967; *Sellakumar* i in. 1969), (tab. 7.).

W badaniu przeprowadzonym na czterech psach, którym przez 8 ÷ 9 miesięcy podawano w kapsułkach dimetylobenzydynę w dawce 200 mg/dzień, zanotowano padnięcie jednego zwierzęcia (rak pęcherza moczowego). Pozostałe trzy psy padły z przyczyn naturalnych (*Ferber* 1977), (tab. 7.). Znacznie więcej informacji o toksyczności przewlekłej pochodzi z badań, w których stosowano dimetylobenzydynę w postaci dichlorowodorku. Wyniki te przedstawiono w tabeli 8. U szczurów narażanych przez 9 miesięcy na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny podawany w wodzie pitnej o stężeniu 150 mg/l (11,2 mg/kg mc./dzień dla samców i 12,9 mg/kg mc./dzień dla samic) stwierdzono zmiany narządowe o charakterze zarówno nowotworowym, jak i nienowotworowym (NTP 1991). Zmiany wystąpiły głównie w wątrobie, gdzie zanotowano: rozrost komórek

wątroby, ogniskowe zmiany zasadochłonne, stłuszczeniowe oraz degeneracyjne torbielowe.

W nerkach zanotowano rozrost i cechy martwicze komórek kanalików nerkowych. Ponadto stwierdzono takie zmiany biochemiczne, jak: umiarkowane zmniejszenie liczby czerwonych krwinek, hemoglobiny i hematokrytu, wzrost aktywności ALT i SDH oraz zmniejszenie poziomu T₄ w surowicy. Na uszkodzenie nerek wskazywały: wzrost poziomu azotu mocznikowego (BUN) w surowicy i stężenia białek w moczu oraz zmniejszenie diurezy. Zmiany nowotworowe obejmowały: wątrobę, płuca, skórę, gruczoł napletkowy, jelito cienkie i gruczoł Zymbala u samców oraz wątrobę, płuca, skórę jamy ustnej, gruczoł łechtaczkowy i gruczoł Zymbala u samic. Za wartość LOAEL przyjęto dawkę 11,2 mg/kg mc./dzień dla samców i 12,9 mg/kg mc./dzień dla samic (czyli 150 mg/l wody do picia), kiedy zaobserwowano zmiany histopatologiczne w: wątrobie, śledzionie i nerkach, zmiany hematologiczne i biochemiczne we krwi oraz zmiany w parametrach moczu.

Tabela 8.

Toksyczność przewlekła dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny po podawaniu zwierzętom laboratoryjnym związku w wodzie do picia (NTP 1991)

Gatunek, liczba zwierząt, płeć	Czas narażenia	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Objawy działania toksycznego
			♂	♀	
Szczur, F344/N, 10♂, 10♀	9 miesięcy	150	11,2	12,9	zmniejszenie masy ciała o 17 ÷ 20% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej, wzrost względnej masy wątroby oraz względnej i bezwzględnej masy nerek, atrofia śledziony; zmiany hematologiczne: zmniejszenie poziomu hematokrytu i hemoglobiny u obu płci oraz ilości erytrocytów (u samic), wzrost liczby leukocytów; zmiany w surowicy: wzrost poziomu BUN (u samców) i TSH, stężenia kreatyniny (u samców) i glukozy (u samic) oraz aktywności ALT i SDH, zmniejszenie poziomu T ₄ w surowicy; zmiany w moczu: wzrost osmolalności, ciężaru właściwego i stężenia białek, zmniejszenie diurezy; zmiany rozrostowe i stłuszczeniowe w wątrobie, rozrost komórek nabłonkowych pęcherzyków płucnych u samców; LOAEL = 11,2 ÷ 12,9 mg/kg mc./dzień
Szczur F344/N, ♂, ♀, liczba zwierząt każdej płci: grupa kontrolna n = 60, 30 ppm n = 45	14 miesięcy	30	1,8	3	padło/zabito ze względów humanitarnych 4/45 (9%) samców i 6/45 (13%) samic; nienowotworowe zmiany histopatologiczne w wątrobie (degeneracja torbielowa u samców, ogniskowe skupiska bazofili i proliferacja komórek hematopoetycznych u samców i samic), niewielkie objawy nefropatii (wartość LOAEL – zmiany w wątrobie)
Szczur F344/N, ♂, ♀, liczba zwierząt każdej płci: grupa kontrolna n = 60, 70 ppm n = 75	14 miesięcy	70	4	6,9	padło/zabito ze względów humanitarnych 25/75 (33%) samców i 43/75 (57%) samic; zmniejszenie masy ciała (ok. 20% u samic i ok. 10% u samców) i spożycia wody u samic; nienowotworowe zmiany histopatologiczne w wątrobie (degeneracja torbielowa, ogniskowe skupiska bazofili i proliferacja komórek hematopoetycznych u samców i samic, zmiany martwicze u samic), umiarkowane objawy nefropatii
Szczur F344/N, ♂, ♀, liczba zwierząt każdej płci: grupa kontrolna n = 60, 150 ppm n = 60	14 miesięcy	150	11,2	12,9	padło 60/60 samców (100%) i 50/60 (83%) samic; zmniejszenie masy ciała u samców i samic (ok. 30%), zmniejszenie spożycia wody o 20 ÷ 30%; nienowotworowe zmiany histopatologiczne w wątrobie (degeneracja torbielowa u samców i samic, proliferacja komórek hematopoetycznych u samic, ogniskowe skupiska bazofili i zmiany stłuszczeniowe u samców), objawy nefropatii umiarkowane do znacznych

Objaśnienia:
 ♀ – samice.
 ♂ – samce.

W 14-miesięcznych badaniach u szczurów narażonych na dichlorowodorek dimetylobenzydyny podawany w wodzie do picia o stężeniach: 30; 70 lub 150 mg/l zanotowano dużą liczbę padnięć zwierząt (tab. 8.), (NTP 1991). Ze względów humanitarnych

przed końcem eksperymentu (zaplanowanego początkowo na 24 miesiące) zabito wszystkie samce (n = 60) narażane na stężenie 150 mg/l (11,2 mg/kg mc./dzień dla samców i 12,9 mg/kg mc./dzień dla samic). Po narażeniu na mniejsze stężenia 75 lub 30 mg/l huma-

nitarnej eutanazji poddano odpowiednio 25/75 i 4/45 samce. W grupie samic padło lub zabito z powodów humanitarnych 50/60, 43/75 i 6/45 zwierząt narażanych na dichlorowodorek dimetylobenzydyny odpowiednio o stężeniach: 150; 70 lub 30 mg/l (ppm).

Badania patomorfologiczne i biochemiczne u wszystkich narażanych zwierząt wykazały zmiany nowotworowe i nienowotworowe, podobne do tych obserwowanych po narażeniu 9-miesięcznym (NTP 1991), (tab. 8).

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Wyniki badań działania mutagennego i genotoksycznego 3,3'-dimetylobenzydyny wykonane w warunkach *in vitro* przedstawiono w tabeli 9. Najwięcej informacji pochodzi z eksperymentów oceniających mutacje powrotne (test Ames), przeprowadzonych na różnych szczepach bakterii *Salmonella* Typhimurium. Wyniki badań wskazują, że dimetylobenzydyna o stężeniach 3 ÷ 1000 µg/plytkę dodawana do hodowli *Salmonella* Typhimurium TA98 bez aktywacji metabolicznej nie działała mutagennie (Chung i in. 2000; Krishna i in. 1986; Makena i in. 2007; Waalkens i in. 1981; Tanaka i in., 1982). Mutagenność dimetylobenzydyny zanotowano natomiast dla szczepu *Salmonella* Typhimurium TA100 (Chung i in. 2000). Po aktywacji metabolicznej dimetylobenzydyna w testach Ames wykazywała najczęściej działanie mutagenne (tab. 9.).

3,3'-Dimetylobenzydyna spowodowała zwiększenie częstości aberracji chromosomowych i wymian chromatyd siostrzanych (Galloway i in. 1987; Japan... 1996), (tab. 9.). Aberracje chromosomowe w komórkach jajnika chomika chińskiego występowały po dodaniu do hodowli dimetylobenzydyny o stężeniach 125 ÷ 180 µg/ml (z aktywacją) lub 225 ÷ 5 000 µg/ml (bez aktywacji). Zwiększenie częstości wymian chromatyd siostrzanych występowało po zastosowaniu dimetylobenzydyny o stężeniach 5 ÷ 50 µg/ml (po aktywacji) oraz 500 ÷ 5 000 µg/ml (bez aktywacji), (Galloway i in. 1987).

Analiza przedstawionych danych wskazuje na genotoksyczne działanie 3,3'-dimetylobenzydyny w warunkach *in vitro*.

Tabela 9.
Działanie genotoksyczne 3,3'-dimetylobenzydyny w warunkach *in vitro*

Gatunek/szczep/typ	Rodzaj testu	Dawka/ stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98	mutacje powrotne (test Ames)	0,03 ÷ 1 mg/ plytkę	–	–	Krishna i in. 1986
<i>Salmonella</i> Typhimurium SV 50		0,03 ÷ 1 mg/ plytkę		+	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1538	mutacje powrotne (test Ames)	0,25 ÷ 1 µmol/ plytkę		+	Reid i in. 1984 a
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100, TA 1535	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych		–	Reid i in. 1984 a
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100, TA 102	mutacje powrotne (test Ames)	5 ÷ 100 µg/plytkę	–	–	Makena i in. 2007
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 1538	mutacje powrotne (test Ames)	20 ÷ 2 500 µg/plytkę		+	Martin i in. 1981
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	mutacje powrotne (test Ames)	0,1 ÷ 2 µmol/ plytkę	–	+	You i in. 1993

cd tab. 9.

Gatunek/szczep/typ	Rodzaj testu	Dawka/ stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98 (1,8-DNP6)		0,05 ÷ 1 µmol/ płytkę	–	+	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98	mutacje powrotne (test Ames)	3 ÷ 1000 µg/ płytkę	–	+	<i>Chung</i> i in. 2000
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100		3 ÷ 1000 µg/ płytkę	+	+	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100	mutacje powrotne (test Ames)	1 ÷ 5000 µg/ płytkę		–	Japan... 1996
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98		0,5 ÷ 1000 µg/ płytkę		+	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1537		0,5 ÷ 1000 µg/ płytkę		–	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 1538	mutacje powrotne (test Ames)	62,5 ÷ 1000 µg/ płytkę	–	+	<i>Waalkens</i> i in. 1981
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100, TA 1535	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych		–	<i>Waalkens</i> i in. 1981
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1537		brak danych	–	–	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 100	mutacje powrotne (test Ames)	50 ÷ 100 µg/ płytkę		+	<i>Lazear, Louie</i> 1977
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 1538	mutacje powrotne (test Ames)	10 ÷ 100 µg/ płytkę		+	<i>Kennelly</i> i in. 1984
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98	mutacje powrotne (test Ames)	0 ÷ 1 µmol/ płytkę		+	<i>Prival</i> i in. 1984
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100, TA 1535, TA 1537	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych	–	–	<i>Haworth</i> i in. 1983
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98, TA 1535	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych		–	<i>Anderson, Styles</i> 1978
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100, TA 1538		brak danych		+	
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 1538	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych	+	+	<i>Ferretti</i> i in. 1977
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98	mutacje powrotne (test Ames)	brak danych		+	<i>Booth</i> i in. 1980
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 98	mutacje powrotne (test Ames)	50 ÷ 500 µg/płytkę	–	+	<i>Tanaka</i> i in. 1982
<i>Salmonella</i> Typhimurium TA 100			–	+/-	
Komórki limfatyczne myszy L5178Y (TK+/TK-)	mutacje powrotne	12,5 ÷ 175 µg/ml 13 ÷ 320 µg/ml	+	+	<i>Mitchell</i> i in. 1988
Komórki jajnika chomika chińskiego	aberracje chromosomowe	125 ÷ 180 µg/ml 225 ÷ 5000 µg/ml	+	+	<i>Galloway</i> i in. 1987

cd tab. 9.

Gatunek/szczep/typ	Rodzaj testu	Dawka/ stężenie	Wynik doświadczenia		Piśmiennictwo
			bez aktywacji	z aktywacją (+S9)	
CHL cells	aberracje chromosomowe	0,013 ÷ 0,1 mg/ml 0,025 ÷ 0,2 mg/ml	+	+	Japan... 1996
Komórki jajnika chomika chińskiego	wymiana chromatyd siostrzanych	5 ÷ 50 µg/ml 500 ÷ 5000 µg/ml	- +	+	Galloway i in. 1987
Limfocyty królika	wymiana chromatyd siostrzanych	50 ÷ 250 µg/ml	+		Galloway i in. 1987
Limfocyty królika	wymiana chromatyd siostrzanych	50 ÷ 250 µg/ml	+		Waalkens i in. 1981
Komórki HeLa	test naprawy/ nieplanowej syntezy DNA	10 ⁻⁶ – 10 ⁻⁴ M		+	Martin i in. 1978
<i>Escherichia coli</i> WP2, WP2uvrA, CM571, WP100	test naprawy/ nieplanowej syntezy DNA			dodatni	Nishioka, Ogasawara 1978
Komórki hepatocytów szczura i chomika	test naprawy/ nieplanowej syntezy DNA	2 x 10 ⁻⁷ – 10 ⁻⁴ M		dodatni	Kornbrust, Barfknecht 1984; 1985

Objaśnienia:

Wyniki: (-) ujemny; (+) dodatni; (+/-) niepewny.

Wyniki badań w warunkach *in vivo*, w których dimetylobenzydynę podawano dożołądkowo w dawkach 50 ÷ 200 mg/kg mc., wskazują na zwiększenie liczby mikrojąder w komórkach szpiku

kostnego (Cihak 1979). Zahamowanie jądrowej syntezy DNA zaobserwowano u myszy, którym dimetylobenzydynę podano dożołądkowo w dawce 100 mg/kg mc. (Seiler 1977), (tab. 10).

Tabela 10.

Działanie genotoksyczne 3,3'-dimetylobenzydyny w warunkach *in vivo*

Gatunek zwierząt, płeć	Typ badania	Droga podania	Materiał biologiczny	Dawka/ stężenie	Wynik doświadczenia	Piśmiennictwo
Szczur Wistar	test mikrojądrowy (MNT)	dożołądkowa	komórki szpiku kostnego	50 ÷ 200 mg/kg mc.	dodatni	Cihak 1979
Mysz Balb/c	wymiana chromatyd siostrzanych	dootrzewnowa (roztwór wodny)	komórki szpiku kostnego	10 ÷ 80 mg/kg mc.	dodatni (po dawce 20 mg/kg mc.)	Górecka-Turska i in. 1983
Mysz, ♂	zahamowanie jądrowej syntezy DNA (naprawa/nieplanowa synteza DNA)	dożołądkowa		100 mg/kg mc.	dodatni	Seiler 1977

Objaśnienia:

♂ – samce.

Ekstrakt z moczu samców szczurów Sprague-Dawley (zebranego w ciągu 24 h), które otrzymały jednorazowo dimetylobenzydynę w dawce 50 mg/kg mc., dodany do hodowli *Salmonella* Typhimurium TA 98 w ilości 50 ÷ 500 µg/płytkę, spowodował wzrost liczby rewertantów zarówno po aktywacji (dodanie frakcji S9), jak i bez aktywacji. W przypadku *Salmonella* Typhimurium TA 100 działanie

mutagenne było znacznie słabsze. Metabolity dimetylobenzydyny (tj. 3,3'-dimetylo-*N*-acetylobenzydyna i 3,3'-dimetylo-*N,N'*-diacetylobenzydyna) w ilościach 10 ÷ 200 µg/płytkę wykazywały znacznie silniejsze działanie mutagenne niż sama 3,3'-dimetylobenzydyna (Reid i in. 1984b; Tanaka i in. 1982).

Działanie rakotwórcze

Działanie rakotwórcze na ludzi

Dimetylobenzydyna jest pochodną benzydyny, a ta powoduje zwiększenie ryzyka powstawania nowotworów pęcherza moczowego. Obserwacje u ludzi narażonych zawodowo na 3,3'-dimetylobenzydynę nie pozwoliły na udowodnienie, że związek ten ma również działanie rakotwórcze. Wynika to m.in. z faktu, że przy produkcji i wykorzystaniu barwników azowych oraz twardych tworzyw sztucznych występuje mieszane narażenie nie tylko na 3,3'-dimetylobenzydynę, lecz także na inne substancje (w tym także benzydynę).

Działanie rakotwórcze na zwierzęta

Wczesne informacje (1920-1966) dotyczące wyników doświadczeń u zwierząt laboratoryjnych, otrzymujących dimetylobenzydynę w nieznanach dawkach przez 18 miesięcy, nie wskazywały na rakotwórcze działanie związku (Oppenheimer 1920). Podobne wyniki (brak raka pęcherza moczowego) zanotowano u psów, którym dimetylobenzydynę podawano z pokarmem (Gehrmann i in. 1949). Raka pęcherza moczowego nie stwierdzono także u chomików narażonych na dimetylobenzydynę w diecie o stężeniu 0,1% (Saffiotti i in. 1966).

W pracy pogładowej Ferbera (1977) opisano eksperyment wykonany przez Browna i Franza, który informuje o jednym przypadku wystąpienia raka pęcherza moczowego u psów ($n = 4$) narażonych na *o*-tolidynę. Nowotworów takich nie stwier-

dzono u psów, które przez 3 lata otrzymywały w diecie dimetylobenzydynę (Gehrmann i in. 1949), (tab. 11).

Zmian nowotworowych nie zanotowano także u chomików, którym dimetylobenzydynę podawano całe życie w diecie zawierającej 0,1 ÷ 0,3% związku (Saffiotti i in. 1966; 1967; Sellakumar i in. 1969). Dawkę 0,3% dimetylobenzydyny (ok. 186 mg/kg mc./dzień) uznano za największą dawkę tolerowaną, która nie wywoływała nowotworów (Sellakumar i in. 1969), (tab. 11.).

Inne badania wykazały jednak rakotwórcze działanie dimetylobenzydyny (tab. 11.) oraz dimetylobenzydyny w postaci chlorowodoru (tab. 12.) dla zwierząt laboratoryjnych.

Doświadczenia wykonane na samicach szczurów, którym podawano dimetylobenzydynę drogą dożołądkową w dziesięciu dawkach po 50 mg/zwierzę każda (przez 30 dni, co 3 dni jedna dawka), wykazały u 18% szczurów nowotwory gruczołu sutkowego (Griswold i in. 1968), (tab. 11).

Najwięcej informacji o rakotwórczym działaniu dimetylobenzydyny pochodzi z doświadczeń na szczurach, którym związek podawano podskórnie (tab. 11.). Po iniekcji szczurom dimetylobenzydyny w dawce jednorazowej 10 mg przez 210 ÷ 255 dni (raz w tygodniu) zanotowano zmiany w gruczole Zymbala. Pierwsze stadium przedrakowe stwierdzono u 21% zwierząt, drugie stadium (proliferyzację nabłonka) – u 26,5%, a u prawie połowy szczurów zaobserwowano złośliwe nowotwory gruczołu Zymbala (4. stadium), (Shabad 1967; Pliss, Wolfson 1972).

Tabela 11.

Działanie rakotwórcze 3,3'-dimetylobenzydyny po wielokrotnym podawaniu zwierzętom laboratoryjnym

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur Sprague-Dawley, 20♀, grupa kontrolna $n = 132$	dożołądkowa (w oleju sezamowym)	30 dni (10 dawek w odstępach 3-dniowych)	50 mg/dawkę; 5,29 mg/kg mc./dzień (dawka skumulowana 500 mg/szczura)	16 szczurów przeżyło do końca okresu obserwacji (9 miesięcy); u 3 zwierząt (18%) wystąpiły nowotwory gruczołu sutkowego (u 132 samic z grup kontrolnych otrzymujących sam olej – 5 przypadków nowotworów sutka (czyli u 4%), w tym 3 przypadki raka gruczołu sutkowego, 1 włókniakogruczolak i 5 przypadków przerostu); według autorów badań 500 mg/ szczura to maksymalna dawka tolerowana, przy której nie notowano nowotworów	Griswold i in. 1968
Chomik syryjski, 30♂, 30♀	dożołądkowa w diecie 0,1%	całe życie	60 mg/ tydzień; 62 mg/kg mc./dzień	brak zmian toksycznych i nowotworowych	Saffiotti i in. 1967

cd. tab. 11.

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Chomik syryjski, 30♂, 30♀	dożołądkowa w diecie 0,3%	całe życie	ok. 186 mg/kg mc./dzień	0,3% w diecie (ok. 186 mg/kg mc./dzień) to największa dawka tolerowana, która nie powodowała działania rakotwórczego	<i>Sellakumar</i> i in. 1969
Pies mieszaniec, 4♀ (18 ÷ 22 kg)	dożołądkowa (kapsułki żelowe)	8 ÷ 9 miesięcy (codziennie)	200 mg/ dawkę (dawka skumulowana 50 g/psa)	1 pies padł z powodu raka pęcherza moczowego po 8 latach; pozostałe psy padły z przyczyn naturalnych	<i>Ferber</i> 1977
Pies, 3♀	dożołądkowa w diecie, (tolidyna, brak informacji o izomerze)	3 lata	230 mg/dzień 5 dni/tyg. (dawka skumulowana 180 g/psa)	brak nowotworów pęcherza moczowego	<i>Gehrmann</i> i in. 1949
Szczur, ♂,♀	podskórna iniekcja	raz w tygodniu, 210 ÷ 225 dni	10 mg/dawkę	rozwój zmian przedrakowych w gruczole Zymbala u 74 zwierząt obu płci (po przebadaniu 113 gruczołów); w 24 gruczołach (21,2%) stwierdzono pierwsze stadium (przedrakowe) – rozlany, nieregularny rozrost; w 30 gruczołach (26,5%) – ogniskową proliferację nabłonka (2. stadium); w 4 gruczołach (3,5%) – guzy łagodne (3. stadium); w 55 gruczołach (49,6%) – nowotwory złośliwe (4. stadium)	<i>Shabad</i> 1967; <i>Pliss, Wolfson</i> 1972
Szczur Alderly Park, 21 ♂ (grupa kontrolna n = 12 ♂)	podskórna (w oleju z orzeszków ziemnych)	8 miesięcy (241 dni)	dawka skumulowana 5,4 g/kg	szczury kontrolne żyły 443 ÷ 746 dni, badane 94 ÷ 703 dni; nowotwory u 85% (18/21) zwierząt: gruczołu Zymbala (4/21, czyli u 19% zwierząt), układu pokarmowego (11/21, czyli u 52%), wątrobiaki (7/21, czyli u 33%), kości i układu krwiotwórczego (4/21, czyli u 19% zwierząt)	<i>Holland</i> i in. 1974
Szczur Sherman, n = 105, ♀, grupa kontrolna n = 50	podskórna (techniczna o-tolidyna w oliwie z oliwek)	całe życie (110 tygodni), raz w tygodniu	60 mg/dawkę (dawka skumulowana 5,5 g)	48/105 zwierząt przeżyło więcej niż 300 dni; nowotwory gruczołów łojowych w zewnętrznym kanale słuchowym u 5 szczurów (4,3%) po 354 dniach	<i>Spitz</i> i in. 1950
Szczur, n = 53 (27♂, 26♀)	podskórna (roztwór 4-procentowy w oleju słonecznikowym), iniekcja 0,5 ml	13 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1160 mg/szczura)	po 8 miesiącach (i dawce skumulowanej 720 mg/szczura) przeżyło 50 zwierząt (2 samce i 1 samica padły zanim pojawiły się nowotwory); po 8 miesiącach u 30/50 (60% szczurów) wystąpiły nowotwory: - u 20/50 – gruczołu Zymbala (14♂ i 6♀) - u 5/50 gruczołu sutkowego (♀) - u 3/50 skóry (2♂ i 1♀) - u 3/50 przedzołądka (3♂) - u 1/50 wątroby (♂) - u 3/50 gruczołu napletkowego oraz u samców 5 innych nowotworów (2 – układu krwiotwórczego, po 1 – jelita cienkiego, tarczycy, płuc); u samic: 1 nowotwór macicy; po 12 miesiącach przeżyło 38 szczurów (21 ♂ i 17♀), a po 18 miesiącach – 16 szczurów (11♂ i 5♀)	<i>Pliss, Zabezhinsky</i> 1970

cd. tab. 11.

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, n = 48 (24♂, 24♀)	podskórna (implant: 20 mg dimetylobenzzydiny + 10 mg glicerolu)	14 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1120 mg/szczura)	po 12 miesiącach (i dawce skumulowanej 1120 mg/szczura) przeżyło 36 zwierząt (75% zwierząt): 1 ♂ i 20♀; u 23/36 (64% szczurów) wystąpiły nowotwory (u 11♂ i 12♀): - u 11/36 – gruczołu Zymbala (6♂ i 5♀) - u 7/36 gruczołu sutkowego (♀) - u 2/36 skóry (1♂ i 1♀) - u 3/36 wątroby (♂) - u 3/50 gruczołu napletkowego oraz u samców 3 inne nowotwory (m.in. 1 – mięśniakomięsak prążkowany w okolicy implantu, 1 – układu krwiotwórczego)	<i>Pliss, Zabezhinsky</i> 1970
Szczur, n = 40 (20♂, 20♀)	podskórna (implant: 20 mg dimetylobenzzydiny + 10 mg glicerolu)	14 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1220 mg/szczura)	po 11 ÷ 12 miesiącach (i dawce skumulowanej 1220 mg/szczura) przeżyło 32/40 zwierząt (80% zwierząt): 18♂ i 14♀; u 25/32 (78% szczurów) wystąpiły nowotwory (u 15♂ i 10♀): - u 16/32 – gruczołu Zymbala (9♂ i 7♀) - u 1/36 gruczołu sutkowego (♀) - u 7/32 skóry (4♂ i 3♀), - u 4/32 wątroby (♂) oraz u samców 3 inne nowotwory (1 – mięśniakomięsak prążkowany w okolicy implantu, 1 – jelita cienkiego, 1 – ślinianek); u samic – 1 nowotwór układu krwiotwórczego	<i>Pliss, Zabezhinsky</i> 1970

Objaśnienia:

♀ – samice.

♂ – samce.

Po podskórnym podawaniu dimetylobenzzydiny przez 8 miesięcy (dawka skumulowana 5,4 g/kg mc.) u 85% szczurów zanotowano wystąpienie nowotworów. Były to nowotwory: gruczołu Zymbala (u 19% zwierząt), układu pokarmowego (u 52%), wątroby (u 33%) oraz kości i układu krwiotwórczego (u 19% zwierząt), (*Holland i in.* 1974).

W podobnym doświadczeniu, w którym raz w tygodniu przez całe życie podawano szczurom podskórnie dimetylobenzzydinę w dawce skumulowanej 5,5 g stwierdzono, że 48 ze 105 zwierząt przeżyło więcej niż 300 dni. U 4,3% szczurów zanotowano przypadki nowotworów gruczołów łojowych w zewnętrznym kanale słuchowym (*Spitz i in.* 1950).

W przewlekłych eksperymentach, w których dimetylobenzzydinę podawano szczurom podskórnie raz w tygodniu w dawce 20 mg (w postaci implantu

lub iniekcji w oleju słonecznikowym) przez 8 ÷ 14 miesięcy zanotowano dużą liczbę nowotworów (*Pliss, Zabezhinsky* 1970). Po 8 miesiącach narażenia (i dawce skumulowanej 720 mg/szczura) u 60% zwierząt stwierdzono nowotwory. Najczęściej były to nowotwory: gruczołu Zymbala (u 20/50 szczurów), gruczołu sutkowego i napletkowego, skóry, przedłożadka i wątroby. Jeszcze częściej nowotwory występowały po 12 miesiącach narażenia zwierząt na dimetylobenzzydinę. Po dawce skumulowanej 1120 mg/szczura wystąpiły one u 64% szczurów, a po 1220 mg/szczura – aż u 80% zwierząt. Dominowały nowotwory: gruczołu Zymbala, skóry, wątroby, gruczołu sutkowego i napletkowego (*Pliss, Zabezhinsky* 1970). *Pliss i Zabezhinsky* (1970) stwierdzili, że *o*-tolidyna (dimetylobenzzydina) jest kancerogenem i zasugerowali, że za skutki działania rakotwórczego mogą odpowiadać jej niezidentyfik-

kowane metabolity. Dimetylobenzydyna i jej metabolity mogą występować w takich narządach wydalniczych, jak gruczoły łojowe. *Pliss* (1965) stwierdził także większą liczbę nowotworów u samców (głównie wyspecjalizowanych gruczołów łojowych, np. gruczołów Zymbala).

W 1991 r. opublikowało wyniki badań oceniających m.in. kancerogenne działanie dimetylobenzydyny w postaci dichlorowodoru, który był dodawany do wody pitnej zwierząt (NTP 1991). Eksperyment był zaplanowany na 24 miesiące, jednak ze względu na znaczną liczbę padnięć zwierząt skrócono go do 14 miesięcy. W doświadczeniu stosowano

stężenia dimetylobenzydyny od 30 ÷ 150 mg/l wody (30 ÷ 150 ppm), co odpowiadało dawkom: dla samców 1,8 ÷ 11,2 mg/kg mc./dzień, a dla samic – 3 ÷ 12,9 mg/kg mc./dzień. Po 9 miesiącach narażania szczurów na DMB · 2HCl o stężeniu największym (150 mg/l) zanotowano występowanie raka: wątroby (u 20% samców i 10% samic), płuc (u 10% zwierząt), skóry (u 10% zwierząt), gruczołu napletkowego (u 30% samców) i łechtaczkowego (u 50% samic), jelita cienkiego (u 20% samców) oraz gruczołu Zymbala (u 30% samców i 50% samic). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 12.

Tabela 12.
Skutki rakotwórczego działania dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny na zwierzęta laboratoryjne

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Czas narażenia	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
			♂	♀		
Szczur F344/N, 10♂, 10♀, grupa kontrolna n = 10/płeć	9 miesięcy	150	11,2	12,9	rak wątrobowokomórkowy u 2♂ i 1♀; rak pęcherzykowo-oskrzelikowy u 1♂ i 1♀; rak podstawnokomórkowy skóry u 1♂ i 1♀; rak płaskonabłonkowy podniebienia u 1♀; gruczolakorak lub rak gruczołu napletkowego u 3♂; rak gruczołowy śluzotwórczy jelita cienkiego u 2♂; rak lub gruczolakorak gruczołu Zymbala u 3♂ i 5♀; gruczolakorak lub rak gruczołu łechtaczkowego u 5♂	NTP 1991
Mysz Balb/c, 120♂, 120♀ (po 24/płeć/grupę)	104 tygodnie	5 9 18 35 70 140	0,4 0,8 1,5 2,8 7,4 11	0,4 0,7 1,4 2,6 5,4 11	brak zmian w masie ciała, spożyciu wody i padnięć zwierząt; wzrost liczby nowotworów płuc (gruczolaki i gruczolakoraki pęcherzyków), będących przyczyną padnięć (zależny od dawki tylko u samców); u samic nasilenie erytropoezy w śledzionie (zależny od dawki); po 140 mg/l zmniejszenie spożycia wody o 10 ÷ 20% u samców	<i>Schieferstein</i> i in. 1989

Objaśnienia:
♀ – samice.
♂ – samce.

Podobne nowotwory stwierdzono także po 14 miesiącach narażania szczurów na dichlorowodorek dimetylobenzydyny. Rakotwórcze działanie związku notowano już po narażeniu na DMB · 2HCl o najmniejszym stężeniu 30 mg/l (1,8 mg/kg mc./dzień dla samców i 3 mg/kg mc./dzień dla samic). Największą częstotliwość występowania odnotowano w przypadku nowotworów gruczołu łechtaczkowego u samic (14/45 zwierząt) oraz gru-

czołu Zymbala (u 3/45 samców i 6/45 samic). U 60% samców i 70% samic narażanych na największe stężenie związku (150 mg/l wody) stwierdzono obecność nowotworów gruczołu Zymbala. U większości samców i 1/3 samic zaobserwowano nowotwory skóry. U samców często notowano nowotwory: wątroby (u 55%), płuc (u 10%) i jelit (u 38%). U 10% samic stwierdzono występowanie nowotworów sutka, a u 54% – gruczołu łechtacz-

kowego (NTP 1991). Wyniki badań przedstawiono w tabeli 13.

Schieferstein i in. (1989) przeprowadzili doświadczenie, w którym przez 104 tygodnie podawali myszom dichlorowodorek dimetylobenzydyny w wodzie do picia. Stosowali oni stężenia 5 ÷ 140 mg/l wody (ppm), co odpowiadało dawkom 0,4 ÷ 11 mg/kg mc./dzień. Wyniki uzyskane w tych badaniach wskazują, że narażenie na związek w zakresie stężeń 5 ÷ 70 mg/l nie spowodowało zmian w: przyroście

masy ciała, spożyciu wody oraz liczbie padnięć zwierząt. Wzrost liczby nowotworów płuc, będących przyczyną śmierci, był zależny od dawki tylko u samców. Skutku tego nie zanotowano u samic. Narażenie na dichlorowodorek dimetylobenzydyny nie miało wpływu na liczbę przypadków nowotworów: skóry, wątroby, śledziony i gruczołu Harderiana, których występowanie było porównywalne do zwierząt z grupy kontrolnej.

Tabela 13.

Występowanie nowotworów u szczurów F344/N narażonych przez 14 miesięcy na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny w wodzie do picia (NTP 1991)

Umiejscowienie nowotworu	Rodzaj nowotworu	Stężenie dichlorowodoru dimetylobenzydyny w wodzie do picia, ppm, mg/l			
		0	30	70	150
Samce					
		dawka dichlorowodoru dimetylobenzydyny dla samców, mg/kg mc./dzień			
		0	1,8	4	11,2
Skóra	rak lub gruczolakorak podstawonokomórkowy	0/60 (0%)	11/45** (24%)**	54/75** (72%)**	30/60** (50%)**
	brodawczak gruczołów łojowych	0/60 (0%)	0/45 (0%)	7/75* (9%)*	5/60* (8%)*
	brodawczak lub rak płaskonabłonkowy	0/60 (0%)	2/45 (4%)	17/75** (23%)**	27/60** (45%)**
	rogowiak kolczystokomórkowy	1/60 (2%)	1/45 (1%)	8/75* (11%)*	5/60* (8%)*
Gruczoł Zymbala	rak lub gruczolakorak	1/60 (2%)	3/45 (7%)	32/75** (43%)**	36/60** (60%)**
Gruczoł napletkowy	gruczolakorak lub rak	2/60 (3%)	4/45 (9%)	6/75 (8%)	9/60* (15%)*
Wątroba	guzkowaty rozrost mięszu lub rak wątrobowokomórkowy	0/60 (0%)	0/45 (0%)	35/75** (47%)**	33/60** (55%)**
Jama ustna	brodawczak lub rak płaskonabłonkowy	0/60 (0%)	0/45 (0%)	4/75 (5%)	5/60* (8%)*
Jelito cienkie	polip gruczolakowaty lub gruczolakorak	0/60 (0%)	0/45 (0%)	4/75 (5%)	8/60* (13%)*
Jelito grube	polip gruczolakowaty lub gruczolakorak	0/60 (0%)	0/45 (0%)	6/75* (8%)*	15/60** (25%)**
Płuca	nowotwory	1/60 (2%)	0/45 (0%)	8/75* (11%)*	6/60* (10%)*

cd. tab. 13.

Umiejscowienie nowotworu	Rodzaj nowotworu	Stężenie dichlorowodorku dimetylobenzydyny w wodzie do picia, ppm, mg/l			
		0	30	70	150
Samice					
		dawka dichlorowodorku dimetylobenzydyny dla samic, mg/kg mc./dzień			
		0	3	6,9	12,9
Skóra	rak lub gruczolakorak podstawnokomórkowy	0/60 (0%)	3/45 (7%)	10/75** (13%)**	9/60** (15%)**
	brodawczak lub rak płaskonabłonkowy	0/60 (0%)	3/45 (7%)	9/75* (12%)*	12/60** (20%)**
Gruczoł Zymbala	rak lub gruczolakorak	0/60 (0%)	6/45* (13%)*	32/75** (43%)**	42/60** (70%)**
Gruczoł łechtaczkowy	gruczolakorak lub rak	0/60 (0%)	14/45** (31%)**	42/75** (56%)**	32/60** (53%)**
Wątroba	guzkowaty rozrost mięszu lub rak wątrobowokomórkowy	0/60 (0%)	0/45 (0%)	7/75* (9%)*	4/60* (7%)*
Jama ustna	brodawczak lub rak płaskonabłonkowy	0/60 (0%)	3/45 (7%)	9/75* (12%)*	13/60** (22%)**
Jelito cienkie	polip gruczolakowaty lub gruczolakorak	0/60 (0%)	1/45 (2%)	3/75 (4%)	5/60* (8%)*
Jelito grube	polip gruczolakowaty lub gruczolakorak	0/60 (0%)	1/45 (2%)	7/75* (9%)*	4/60* (7%)*
Sutek	gruczolakorak	0/60 (0%)	1/45 (2%)	3/75 (4%)	6/60* (10%)*

Objaśnienia:

* – wynik istotny statystycznie ($p < 0,05$) wyznaczony za pomocą testu Fishera.** – wynik istotny statystycznie ($p < 0,001$) wyznaczony za pomocą testu Fishera.

Jakościowa ocena działania rakotwórczego

W 1987 r. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC 2014) zaklasyfikowała 3,3'-dimetylobenzydynę jako substancję prawdopodobnie rakotwórczą dla ludzi (grupa 2.B), ACGIH (2013; 2015) – do grupy A3 (udowodnione działanie rakotwórcze na zwierzęta i nieznanne działanie rakotwórcze dla ludzi), zaś MAK – do kategorii zagrożenia 2. Unia Europejska (zgodnie z klasyfikacją GHS) zaliczyła związek do kategorii kancerogenności 1.B z przypisem zwrotem H350 – może powodować raka. Przypis Ca (kancerogen) został także zamieszczony przez NIOSH.

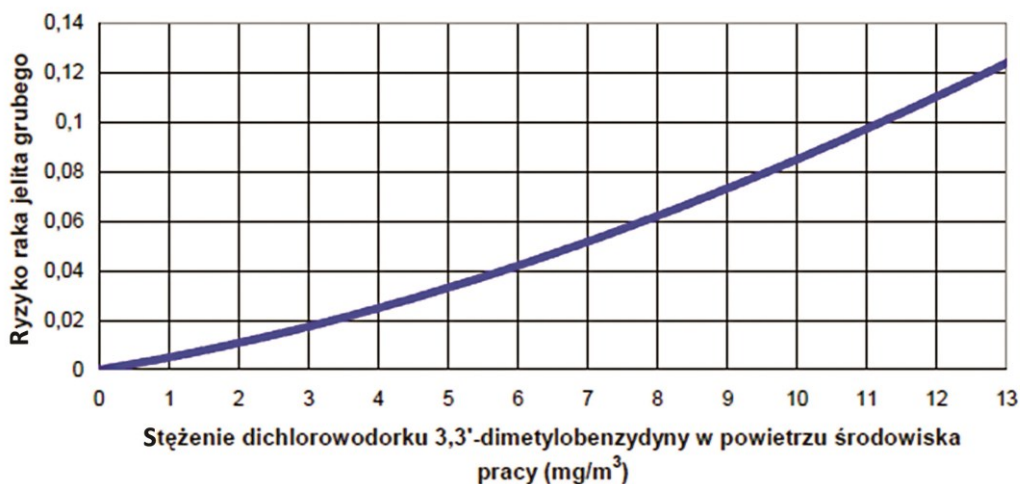
Ilościowa ocena działania rakotwórczego

Powszechne przekonanie, że 3,3'-dimetylobenzydyna jako pochodna benzydyny może powodować raka, skłoniła badaczy do przeprowadzenia ilościowego oszacowania ryzyka nowotworowego. Próbę tę podjęto m.in. na podstawie wyników badania (tab. 13.), w którym dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny podawano szczurom przez 14 miesięcy w wodzie do picia (NTP 1991). Za skutek krytyczny narażenia przyjęto raka jelita grubego (Sapota i in. 2006). Przy przeliczeniu stężenia występującego realnie albo potencjalnie w środowisku

pracy na średnią dawkę dla okresu całego życia szczurów uwzględniono: zużycie powietrza w ciągu zmiany roboczej – 10 m³, średnią masę człowieka – 70 kg, średnią masę szczura w eksperymencie – 0,35 kg, liczbę dni pracy w roku – 240, maksymalną liczbę lat w narażeniu – 40. Analizy przeprowadzono, opisując zależność między stężeniem dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny w powie-

trzu środowiska pracy a ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego w zakresie stężeń 0 ÷ 13 mg/m³ (rys. 2.).

Wyniki uzyskanych zależności przedstawiono w tabeli 14. (Sapota i in. 2006).



Rys. 2. Zależność między stężeniem dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny w powietrzu środowiska pracy a ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego (Sapota i in. 2006)

Tabela 14.

Zależność między stężeniem dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny w środowisku pracy a ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego (Sapota i in. 2006)

Ryzyko	Stężenie dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny, mg/m ³
0,01	0,688
0,001	0,079
0,0001	0,008

Działanie embriotoksyczne, teratogenne oraz wpływ na rozrodczość

Na podstawie przeprowadzonych badań na ciężarnych samicach szczurów, którym podawano dożyłkowo dimetylobenzydynę między 7. a 9. dniem ciąży w dawce skumulowanej 30 mg, nie stwierdzono działania teratogenne. Zanotowano jednak 8% resorpcji (Wilson 1955), (tab.15). Nie stwierdzono wad wrodzonych także po podskórnym podaniu związku w 7. dniu ciąży w dawce 55 mg/kg mc.

(Ema i in. 1984). Podskórne podanie związku myszom w dawce 2 mg spowodowało uszkodzenie nerek u płodów (Golub 1969). Po narażeniu myszy (w ostatnim tygodniu ciąży) na dimetylobenzydynę w dawce 2 mg/dzień zanotowano zwiększenie częstości występowania nowotworów płuc i gruczołu sutkowego u młodych z pokolenia F1 (Golub i in. 1974). Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 15.

Tabela 15.
Wpływ 3,3'-dimetylobenzydyny na płodność i rozrodczość zwierząt laboratoryjnych

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur albinotyczny, 10♀, brak grup kontrolnych	dożołądkowa	7, 8 i 9 dzień ciąży	1 ml 1-procentowy roztwór wodny (dawka skumulowana 30 mg)	brak działania teratogennego (brak wad wrodzonych), 8% resorpcji, 109 implantacji	<i>Wilson</i> 1955
Szczur Wistar, ♀	podskórna	7 dzień ciąży	0,26 mmol/kg (55 mg/kg)	brak wad wrodzonych	<i>Ema</i> i in. 1984
Mysz	podskórna	–	2 mg	uszkodzenia nerek płodów (badanie wykonane na kulturach tkanek pobranych z nerek płodów)	<i>Golub</i> 1969
Mysz Balb/c, ♀	podskórna (w 0,1 ml oleju słonecznikowego)	4 ÷ 5 razy w ostatnim tygodniu ciąży	2 mg/dawkę	wzrost częstości występowania nowotworów u młodych (7♀ i 9♂): 6/16 – nowotwory płuc (kontrola 3/30) i 5/16 – nowotwory gruczołu sutkowego (kontrola 3/30)	<i>Golub</i> i in. 1974

Objaśnienia:

♀ – samice.

♂ – samce.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

Na podstawie informacji cytowanych przez ACGIH (2001), NIOSH (1978) i MAK (2002) 3,3'-dimetylobenzydyna szybko wchłania się do organizmu, głównie przez skórę i płuca. Wchłanianie przez skórę może być równie istotne z toksykologicznego punktu widzenia, jak wchłanianie przez płuca w warunkach narażenia zawodowego (*Meigs* i in. 1954). Wzrost temperatury i wilgotności powoduje zwiększenie absorpcji skórnej chlorowodoru *o*-tolidyny (chlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny), (*Meigs* i in. 1951; 1954). Dane związane z wchłanianiem dimetylobenzydyny przez skórę uznano za wystarczające, aby 3,3'-dimetylobenzydynam oznakować zwrotem „skin”, czyli jako substancję wchłaniającą się przez skórę ACGIH (2001).

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono dokładnych danych ilościowych na temat dimetylobenzydyny w organizmie człowieka.

Po jednorazowym, dożylnym podaniu psom dimetylobenzydyny w ilości 100 mg oraz po dożołądkowym podaniu w ilości 200 mg maksymalne stężenie związku we krwi stwierdzono po 2 h.

Okres półtrwania we krwi psów (niezależnie od dawki i drogi podania) wynosił mniej niż 8 h (*Engelbertz, Babel* 1954).

Po iniekcji 20 mg dimetylobenzydyny (w oleju słonecznikowym, raz w tygodniu przez 8 miesięcy) stwierdzono największe poziomy związku w gruczole Zymbala i nerkach. Znacznie mniejsze poziomy zanotowano w wątrobie i śledzionie (*Pliss, Zabezhinsky* 1970).

Metabolizm i wydalanie

Po jednorazowym, dożołądkowym podaniu szczurom dimetylobenzydyny w dawce 50 mg/kg mc. w ich moczu wykryto – oprócz śladowych ilości niezmienionego związku – obecność 3,3'-dimetylo-*N*-acetylobenzydyny i 3,3'-dimetylo-*N,N'*-diacetylobenzydyny (*Tanaka* i in. 1982).

W moczu nierasowych psów, którym dimetylobenzydynam podano jednorazowo, dootrzewnowo w dawkach 70 ÷ 100 mg/kg mc., w ciągu 3 dni wydzieliło się 4% niezmienionego związku. Głównym metabolitem wydalonym z moczem był siarczan 5-hydroksy-3,3'-dimetylobenzydyny, który stanowił około 40% wszystkich metabolitów.

U psów nie zidentyfikowano metabolitów będących wynikiem procesów acetylacji (*Sciarini, Meigs* 1961).

Według innych danych (*Engelbertz, Babel* 1954; 1956) we krwi i moczu psów wykryto: *o*-tolidynę, *N*-acetylo-*o*-tolidynę, *N,N'*-diacetylo-*o*-tolidynę, 5-hydrokso-*o*-tolidynę oraz koniuganty z kwasem glukuronowym i siarkowym.

W moczu pracowników narażonych zawodowo na 3,3'-dimetylobenzydynę (przy jej produkcji)

stwierdzono obecność związków powstałych w wyniku acetylacji (*N*-acetylo-*o*-tolidynę i *N,N'*-diacetylo-*o*-tolidynę) oraz hydroksylacji (5-hydrokso-*o*-tolidynę), (*Dieteren* 1966; *Engelbertz, Babel* 1954).

Po doustnym spożyciu przez ochotnika trzech dawek (po 100 mg) dimetylobenzydyny, szybkość wydalania związku wynosiła $5,6 \div 7,47$ mg/dzień (*Brown* i in. 1977).

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Toksyczne działanie 3,3'-dimetylobenzydyny może być związane z metabolizmem do związków reaktywnych, wiążących się z DNA, mutacją genu *ras* i innych onkogenów, proliferacją komórek. Najbardziej prawdopodobny wydaje się być mechanizm opisany przez *Reynoldsa* i in. (1990). Wykazali oni, że specyficzne mutacje – głównie w onkogenie *H-ras* i *N-ras* – mogą odpowiadać za szereg zmian nowotworowych u szczurów narażanych na dimetylobenzydynę.

Na możliwość wystąpienia zaburzeń w materiale genetycznym wskazują także doświadczenia wykonane w warunkach *in vitro*, w których zanotowano zmiany w testach genotoksycznych (tab. 9.). Metabolity dimetylobenzydyny (pochodne *N*-mono- i *N,N'*-diacetylowe) wykazywały silniejsze działanie mutagenne niż sama 3,3'-dimetylobenzydyna (*Reid* i in. 1984b; *Tanaka* i in. 1982).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie nie ma dokładnych informacji o łącznym narażeniu na różne stężenia 3,3'-dimetylobenzydyny i innych związków. Opiswane w literaturze zwiększone ryzyko występowania nowotworów pęcherza moczowego u pracowników narażonych zawodowo na barwniki azowe wynika z łącznej ekspozycji na wiele związków, m.in.: benzydynę, dichlorobenzydynę, 3,3'-dimetylobenzydynę, 3,3'-dimetoksybenzydynę (*Tsuchiya* i in. 1975; *Barsotti, Vigliani* 1952; *Rye* i in. 1970; *MacApine* 1947).

W 1957 r. *Scott* i *Williams* zaproponowali, by 3,3'-dimetylobenzydyna w odniesieniu do działania rakotwórczego na ludzi była traktowana tak samo, jak benzydyna. Z tego względu należy monitorować ewentualne powstawanie raka pęcherza moczowego, szczególnie, gdy występuje narażenie zawodowe na duże dawki związku (*Scott, Williams* 1957).

Dane epidemiologiczne pochodzące z obserwacji 200 włoskich robotników produkujących barwniki anilinowe, którzy w latach 1931-1948 pracowali przy mieszanym narażeniu m.in. na 3,3'-dimetylobenzydynę (brak danych o czasie naraże-

nia i stężeniu) oraz: benzydynę, β -naftyloaminę i anilinę, wykazały, że za nowotwory pęcherza moczowego mogą odpowiadać – benzydyna i β -naftyloamina (*Barsotti, Vigliani* 1952).

Ouellet-Hellstrom i *Rench* (1996) opisali dane epidemiologiczne grupy 704 osób (585 mężczyzn i 119 kobiet) pracujących w latach 1965-1989 w fabryce chemicznej produkującej aryloaminy. Robotnicy byli narażeni na: dichlorobenzydynę, dimetoksybenzydynę i dimetylobenzydynę, których wielkość produkcji wyrażono stosunkiem 9: 4: 1. Nie podano stężeń, na jakie byli narażeni pracownicy. Wiadomo tylko, że nigdy nie byli oni narażeni na benzydynę. W badaniach odnotowano 27 przypadków nowotworów – 23 u mężczyzn i 4 u kobiet. U mężczyzn stwierdzono wzrost ryzyka zapadalności na nowotwory pęcherza moczowego i jądra. Standaryzowany współczynnik zapadalności (ang. *standarized incidence ratio*, SIR) dla nowotworów pęcherza moczowego wyniósł 8,3 (zakres $3,3 \div 17$, 95% przedział ufności – *confidence interval*, CI), a dla raka jądra – 11,4 ($1,4 \div 41,1$; 95% CI).

U kobiet wzrosło ryzyko wystąpienia raka piersi (SRI 1,9; 0,4 ÷ 5,6; 95% CI). Wszystkie osoby z nowotworami pęcherza moczowego były narażone na aryloaminy, zaś osoby z nowotworami jądra i piersi nie były na nie ekspozowane. Ryzyko zapadalności na raka pęcherza moczowego wzrastało wraz z wielkością narażenia. W warunkach braku narażenia oraz w małym i umiarkowanym (bliżej

jednak niesprecyzowanym) wartości SIR wynosiły odpowiednio: 0; 5,5 i 16,4. Autorzy pracy zaznaczyli także, że wszyscy pracownicy, u których stwierdzono nowotwory pęcherza moczowego byli nałogowymi palaczami, co mogło mieć znaczenie dla zwiększenia ryzyka wystąpienia nowotworów (Ouellet-Hellstrom, Rench 1996).

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Na podstawie dostępnych danych literaturowych stwierdzono, że ustalenie zależności skutków toksycznego działania 3,3'-dimetylobenzydyny od wielkości narażenia jest bardzo trudne. Jest to spowodowane brakiem dokładnych danych, które pochodziłyby z badań wykonanych na jednym gatunku zwierząt laboratoryjnych. Jedyne informacje, jakie mogą posłużyć do ewentualnych porównań, pochodzą z doświadczeń opublikowanych w latach 1950-1974, w których dimetylobenzydynę podawano podskórnie szczurom, raz w tygodniu. Wyniki tych eksperymentów przedstawiono w tabeli 16. Próba analizy tych danych jest trudna także ze względu na różny czas narażenia – ich wspólnym mianownikiem wydaje się być dawka skumulowana. Na jej podstawie można zaobserwować, że rozwój zmian przedrakow-

wych w gruczole Zymbala rozpoczyna się już po narażeniu na 3,3'-dimetylobenzydynę w dawce skumulowanej wynoszącej 300 ÷ 320 mg/szczura (Shabad 1967; Pliss, Wolfson 1972). Po 8 ÷ 12 miesiącach narażenia na dawki skumulowane: 720; 1120 lub 1220 mg/szczura stwierdzono obecność nowotworów u odpowiednio: 60, 64 i 78% zwierząt. Były to głównie nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu sutkowego, gruczołu napletkowego, skóry, wątroby i jelita cienkiego (Pliss, Zabezhinsky 1970). Zwiększenie dawki skumulowanej do 5,4 g dimetylobenzydyny/szczura spowodowało powstanie nowotworów (m.in.: przewodu pokarmowego i krwiotwórczego, wątroby, kości i gruczołu Zymbala) u 85% zwierząt (Holland i in. 1974), (tab. 16).

Tabela 16.

Zależność skutków działania toksycznego od poziomu narażenia szczurów na 3,3'-dimetylobenzydynę drogą podskórną

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur ♂, ♀	podskórna iniekcja	raz w tygodniu, 210 ÷ 225 dni (30 ÷ 32)	10 mg/dawkę (dawka skumulowana 300 ÷ 320 mg/szczura)	rozwój zmian przedrakowych w gruczole Zymbala	Shabad 1967; Pliss, Wolfson 1972
Szczur, 27♂, 26♀, n = 53	podskórna (roztwór 4-procentowy w oleju słonecznikowym), iniekcja 0,5 ml	13 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1160 mg/szczura)	po 8 miesiącach (i dawce skumulowanej 720 mg/szczura) u 60% szczurów wystąpiły nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu sutkowego, skóry, przedłożadka, wątroby, gruczołu napletkowego, układu krwiotwórczego, jelita cienkiego, tarczycy, płuc, macicy	Pliss, Zabezhinsky 1970
Szczur, 24♂, 24♀, n = 48	podskórna (implant: 20 mg dimetylobenzydyny + 10 mg glicerolu)	14 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1120 mg/szczura)	po 12 miesiącach (i dawce skumulowanej 1120 mg/szczura) przeżyło 75% zwierząt; u 64% szczurów wystąpiły nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu sutkowego, skóry, wątroby, gruczołu napletkowego, układu krwiotwórczego	Pliss, Zabezhinsky 1970

cd. tab. 16

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Droga narażenia	Czas narażenia	Dawka/stężenie	Objawy działania toksycznego	Piśmiennictwo
Szczur, 20♂, 20♀, n = 40	podskórna (implant: 20 mg dimetylobenzzydiny + 10 mg glicerolu)	14 miesięcy, raz w tygodniu	20 mg/dawkę (dawka skumulowana 1220 mg/szczura)	po 11 ÷ 12 miesiącach (i dawce skumulowanej 1220 mg/szczura) przeżyło 80% zwierząt; u 78% szczurów wystąpiły nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu sutkowego, skóry, wątroby, jelita cienkiego, układu krwiotwórczego	<i>Pliss, Zabezhinsky</i> 1970
Szczur Alderly Park, 21♂, (grupa kontrolna n = 12♂)	podskórna (w oleju z orzeszków ziemnych)	8 miesięcy (241 dni)	dawka skumulowana 5,4 g/kg	szczury z grupy kontrolnej żyły 443 ÷ 746 dni, badane 94 ÷ 703 dni; nowotwory: gruczołu Zymbala, układu pokarmowego, wątroby, kości i układu krwiotwórczego (u 85% zwierząt)	<i>Holland i in.</i> 1974
Szczur Sherman, n = 105; grupa kontrolna n = 50	podskórna (techniczna o-tolidyna w oliwie z oliwek)	całe życie (110 tygodni), raz w tygodniu	60 mg/dawkę (dawka skumulowana 5,5 g)	48/105 zwierząt przeżyło więcej niż 300 dni; nowotwory gruczołów łojowych w zewnętrznym kanale słuchowym u 5 szczurów (4,3%) po 354 dniach	<i>Spitz i in.</i> 1950

Objaśnienia:
 ♀ – samice.
 ♂ – samce.

Zależność skutków działania toksycznego dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzzydiny od wielkości narażenia u szczurów pochodzą z badań opublikowanych w 1991 roku przez NTP (NTP 1991). Dokładne dane z doświadczeń trwających 14 dni i 13 tygodni przedstawiono w tabelach 5. i 6. W czasie oceny toksyczności podostrej (14 dni narażenia) zaobserwowano zależne od stężenia dichlorowodoru dimetylobenzzydiny w wodzie do picia zmniejszenie przyrostu masy ciała (o ok. 10% po narażeniu na związek o stężeniu 1250 mg/l (1250 ppm) do 60% po stężeniu 7500 mg/l), zmniejszenie spożycia wody oraz uszkodzenie: wątroby, nerek, szpiku kostnego, grasicy i trzustki (tab. 5.). Już najmniejsze ze stosowanych stężeń – 600 mg/l (czyli 40 mg/kg mc./dzień dla samców i 47 mg/kg mc./dzień dla samic) – można przyjąć za wartość LOAEL (stwierdzono zmniejszone spożycie wody).

Przy ocenie toksyczności podprzewlekłej (13 tygodni narażenia) również zanotowano zależność skutków działania toksycznego od wielkości narażenia szczurów na dichlorowodorek dimetylobenzzydiny podawany w wodzie do picia (NTP 1991), (tab. 6). W badaniach odnotowano: zmniejszenie przyrostu masy ciała i spożycia wody, zabu-

rzenia hematologiczne, obniżenia poziomu T₃ i T₄ w surowicy, uszkodzenie wątroby i nerek (po narażeniu szczurów na stężenia związku w wodzie od 300 ÷ 1000 mg/l). Po narażeniu szczurów na DMB · 2HCl o stężeniu 2000 mg/l (86 mg/kg mc./dzień dla samców i 100 mg/kg mc./dzień dla samic) zanotowano znaczną liczbę padnięć, a po największym stężeniu (4000 mg/l, czyli 144 mg/kg mc. dla samców i 266 mg/kg mc. dla samic) wszystkie szczury padły. Już po narażeniu zwierząt na najmniejsze ze stosowanych stężeń dichlorowodoru dimetylobenzzydiny (300 mg/l, czyli 16 mg/kg mc./dzień dla samców i 18 mg/kg mc./dzień dla samic) stwierdzono: zmniejszenie spożycia wody, uszkodzenia wątroby, tarczycy i zmiany hematologiczne – można zatem uznać ten poziom narażenia za wartość LOAEL (tab. 6. i 17.).

Przy ocenie toksyczności przewlekłej dichlorowodoru dimetylobenzzydiny (14 miesięcy narażenia w wodzie do picia) już po narażeniu na najmniejsze stężenie związku (30 mg/l wody pitnej, czyli 1,8 mg/kg mc./dzień dla samców i 3 mg/kg mc./dzień dla samic) zanotowano dużą liczbę padnięć szczurów (NTP 1991), (tab. 8.). Zaobserwowano także uszkodzenie wątroby i nerek oraz

nowotwory: gruczołu Zymbala, gruczołu napletkowego, gruczołu łechtaczkowego, gruczołu sutkowego, wątroby, płuc, skóry, jelita cienkiego i grubego. Stężenie 30 mg/l można zatem uznać za war-

tość LOAEL (tab. 17.). Zwiększenie poziomu narażenia nasilało zmiany, m.in. nowotworowe (tab. 8. i 13.), (NTP 1991).

Tabela 17.

Wartości LOAEL i skutki występujące u szczurów narażonych na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny w wodzie do picia (NTP 1991)

Gatunek, liczba, płeć zwierząt	Czas narażenia	Stężenie w wodzie, ppm, mg/l	Dawka, mg/kg/dzień		Skutki działania toksycznego
			♂	♀	
Szczur F344/N, 5♂, 5♀	14 dni	600	40	47	LOAEL – zmniejszenie spożycia wody o 25 ÷ 30% w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	13 tygodni	300	16	18	LOAEL – zmniejszenie spożycia wody o 20 ÷ 40%, uszkodzenie wątroby, tarczycy, zmiany hematologiczne
Szczur F344/N, 10♂, 10♀	9 miesięcy	150	11,2	12,9	LOAEL – zmniejszenie masy ciała o 17 ÷ 20%, zmiany hematologiczne, uszkodzenie wątroby, nerek, tarczycy, płuc; nowotwory: wątroby, płuc, skóry, gruczołu napletkowego, gruczołu łechtaczkowego, jelita cienkiego, gruczołu Zymbala
Szczur F344/N, 45♂, 45♀, grupa kontrolna n = 60	14 miesięcy	30	1,8	3	LOAEL – padło/zostało zabitych z przyczyn humanitarnych 9% samców i 13% samic; nienowotworowe i nowotworowe zmiany w wątrobie, nefropatia; nowotwory: wątroby, płuc, skóry, gruczołu Zymbala, gruczołu napletkowego, gruczołu łechtaczkowego, jelita cienkiego, jelita grubego, sutka

Objaśnienia:

♀ – samice.
♂ – samce.

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

Istniejące wartości NDS i ich podstawy

Zestawienie wartości obowiązujących normatywów higienicznych ustalonych dla 3,3'-dimetylobenzydyny w środowisku pracy w różnych państwach przedstawiono w tabeli 18. Tylko w niektórych państwach europejskich (Austrii, Słowenii i Szwajcarii) przyjęto wartość dopuszczalną na poziomie 0,03 mg/m³. W Austrii za wartość chwi-

lową STEL przyjęto stężenie 0,12 mg/m³. W Chinach i USA (NIOSH) za stężenie pułapowe przyjęto stężenie 0,02 mg/m³.

Podstawą do zaliczenia przez ACGIH (2013) 3,3'-dimetylobenzydyny do grupy A3 może być toksyczne działanie związku na pęcherz (rak pęcherza moczowego u zwierząt laboratoryjnych) i nerki oraz methemoglobinemia.

Tabela 18.

Wartości normatywów higienicznych 3,3'-dimetylobenzydyny przyjęte w różnych państwach (ACGIH 2001; DGF MAK 2015; ICSC 2009; IFA 2015; RTECS 2015)

Państwo/organizacja/ instytucja (rok wydania)	Wartość NDS		Wartość NDSCh		Uwagi
	ppm	mg/m ³	ppm	mg/m ³	
Australia (2008)	–	–	–	–	carc. 2
Austria (2007)	0,003	0,03	0,012	0,12	s – skin
Belgia (2002)	–	–	–	–	skin
Chiny	–	–	–	0,02 (pułapowe)	
Japonia (2012)	–	–	–	–	carc. 2B
Korea Płd. (2006)	–	–	–	–	skin
Niemcy (1986)	–	–	–	–	carc. 2 (substancje, które są rozważane jako rakotwórcze dla ludzi, ponieważ wystarczające dane z długoterminowych badań na zwierzętach wskazują na ich znaczny wpływ na ryzyko wystąpienia raka)
Nowa Zelandia (2002)	–	–	–	–	skin
Słowenia	–	0,03	–	–	
Szwecja (2005)	–	–	–	–	carc. B
Szwajcaria (2011)	0,003	0,03	–	–	carc. 2
Unia Europejska	–	–	–	–	carc. 1B
USA: ACGIH (1996)	–	–	–	–	skin, A3 – kancerogen dla zwierząt, nieznanym dla ludzi (rak pęcherza), methemoglobinemia
NIOSH (REL) (1978)	–	–	–	0,02 (60 min., STEL/CEIL)	skin, Ca

Objaśnienia:

s – skin – substancja wchłania się przez skórę.

Ca – kancerogen.

carc. 2 – substancja, która jest rozważana jako rakotwórcza dla ludzi.

carc. 2B – substancja przypuszczalnie rakotwórcza dla ludzi.

carc. 1B – substancja, która ma potencjalne działanie rakotwórcze na ludzi.

A3 – czynnik o udowodnionym działaniu rakotwórczym dla zwierząt i nieznanym działaniu rakotwórczym na ludzi.

Za ACGIH oznakowania przyjęły: Argentyna, Bułgaria, Jordania, Kolumbia, Singapur, Wietnam.

Podstawy proponowanych wartości NDS i NDSCh

Podstawą do wyznaczenia wartości NDS dla 3,3'-dimetylobenzydyny i jej dichlorowodoru przyjęto wyniki badań wykonanych na szczurach przez NTP (1991), którym podano w wodzie do picia dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny. Początkowo doświadczenie to było planowane na 24 miesiące, jednak ze względu na obserwowaną liczbę padnięć zwierząt, nawet po najmniejszym ze stosowanych stężeń związku w wodzie, narażenie skrócono do 14 miesięcy. Skutkiem tego był brak możliwości wychwycenia największego stężenia niepowodującego skutku szkodliwego (NOAEL). Już po narażeniu na najmniejsze ze stosowanych stężeń dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzydyny w wodzie, czyli 30 mg/l (30 ppm, czyli 1,8 mg/kg mc./dzień dla samców i 3 mg/kg mc./dzień dla samic) u zwierząt obserwowano wystąpienie nowotworów (tab. 13.).

Postawą do wyznaczenia wartości NDS były wyniki, na podstawie których oszacowano ryzyko zawodowe związane z narażeniem ludzi na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny (*Sapota* i in. 2006). Dokumentacja była opracowana na podstawie wyników badań przeprowadzonych przez NTP (1991), w których szczury były narażane na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzydyny w wodzie do picia przez 14 miesięcy. Na podstawie zamieszczonych tam danych doświadczalnych oszacowano, że ryzyko wystąpienia dodatkowego nowotworu jelita grubego u ludzi narażonych w środowisku pracy wynosi:

- 10⁻² – 40 lat narażenia na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 0,688 mg/m³
- 10⁻³ – 40 lat narażenia na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 0,079 mg/m³
- 10⁻⁴ – 40 lat narażenia na dichlorowodorek dimetylobenzydyny o stężeniu 0,008 mg/m³.

W dokumentacji szacującej ryzyko zawodowe związane z narażeniem na dichlorowodorek 3,3'-dimetylobenzylidyny (*Sapota* i in. 2006) wykonano także obliczenia, w których przyjęto, że pracownik będzie pracował w narażeniu na związek o stężeniu 0,2 mg/m³ przez całe życie zawodowe:

- dzienna dawka dla człowieka w dniach narażenia wynosi:

$$0,2 \frac{\text{mg}}{\text{m}^3} \cdot \frac{10 \text{m}^3}{70 \text{kg}} = 0,02857143 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

- średnia dawka dla człowieka (przez całe życie) wynosi:

$$0,02857143 \cdot \frac{240}{365} \cdot \frac{40}{70} = 0,01073526 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \cdot \text{dzień}$$

- średnia dawka dla szczura (przez całe życie) wynosi:

$$0,01073526 \cdot \left(\frac{70}{0,35}\right)^{\frac{1}{3}} = 0,0627801 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \cdot \text{dzień}$$

Wartość tę podstawiono do wzoru (model dwustopniowy):

$$\text{ryzyko} = 1 - \exp(-0,03966 \cdot \text{dawka} - 0,03254 \cdot (\text{dawka})^2)$$

Uzyskano wartość dodatkowego ryzyka raka jelita grubego równą 0,002615, a zatem przy stężeniu 0,2 mg/m³ można się spodziewać wystąpienia 2,615 przypadków dodatkowego nowotworu jelita grubego na 1 000 pracowników (ryzyko = 2,615 · 10⁻³).

Gdyby podobne wyliczenia były wykonane dla stężenia 0,03 mg/m³ (w niektórych krajach stężenie to przyjęto za stężenie dopuszczalne), ryzyko

wystąpienia nowotworów się zmniejszy, ponieważ:

- dzienna dawka dla człowieka w dniach narażenia wynosi:

$$0,3 \frac{\text{mg}}{\text{m}^3} \cdot \frac{10 \text{m}^3}{70 \text{kg}} = 0,004286 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$$

- średnia dawka dla człowieka (przez całe życie) wynosi:

$$0,004286 \cdot \frac{240}{365} \cdot \frac{40}{70} = 0,00161 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \cdot \text{dzień}$$

- średnia dawka dla szczura (przez całe życie) wynosi:

$$0,00161 \cdot \left(\frac{70}{0,35}\right)^{\frac{1}{3}} = 0,0094153 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \cdot \text{dzień}$$

Wartość tę podstawiono do wzoru (model dwustopniowy):

$$\text{ryzyko} = 1 - \exp(-0,03966 \cdot \text{dawka} - 0,03254 \cdot (\text{dawka})^2)$$

Uzyskano wartość dodatkowego ryzyka wystąpienia raka jelita grubego równą 0,000376919, a zatem przy stężeniu 0,03 mg/m³ można się spodziewać wystąpienia 3,77 przypadków dodatkowego nowotworu jelita grubego na 10 000 pracowników (ryzyko = 3,76919 · 10⁻⁴).

Podsumowując, można zatem przyjąć, że ryzyko wystąpienia nowotworów w zależności od stężenia będzie zgodne z wartościami zamieszczonymi w tabeli 19.

Tabela 19.

Zależność między stężeniem dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzylidyny w środowisku pracy a ryzykiem wystąpienia raka jelita grubego

Ryzyko	Stężenie dichlorowodoru 3,3'-dimetylobenzylidyny, mg/m ³	Piśmiennictwo
0,01	1 · 10 ⁻²	0,688
0,001	1 · 10 ⁻³	0,079
0,0001	1 · 10 ⁻⁴	0,008
0,002615	2,615 · 10 ⁻³	0,2
0,000376919	3,769 · 10 ⁻⁴	0,03
		obliczenia wykonane w przedstawionej dokumentacji

Za wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) zaproponowano przyjęcie stężenia 0,03 mg/m³,

tj. z ryzykiem nowotworowym na poziomie 10⁻⁴, uwzględniając także możliwość występowania innych

nowotworów, nie tylko jelita grubego. Nie ma podstaw do wyznaczenia wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia chwilowego (NDSCh) oraz wartości dopuszczalnej w materiale biologicznym (DSB). Ponadto zaproponowano oznakowanie związku „Carc.

1B”, informujące, że jest to substancja rakotwórcza kategorii zagrożenia 1.B oraz „skóra” – wchłanianie substancji przez skórę może być tak samo istotne, jak przy narażeniu drogą oddechową.

Wykaz skrótów stosowanych w dokumentacji

ACGIH	Amerykańska Konferencja Rządowych Higienistów Przemysłowych (ang. <i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>)
ALT	aminotransferaza alaninowa
B4B	barwnik na bazie dimetylobenzydyny – Benzopurpurin 4B – Direct Red 2
BUN	azot mocznikowy we krwi (ang. <i>blood urea nitrogen</i>)
CI	przedział ufności (ang. <i>confidence interval</i>)
DMB	dimetylobenzydyna, 3,3'-dimetylobenzydyna
DMB · 2HCl	chlorowodorek dimetylobenzydyny, dichlorowodorek dimetylobenzydyny
DNA	kwas dezoksyrybonukleinowy
EB	barwnik na bazie dimetylobenzydyny – Evans Blue – Direct Blue 53
IARC	Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (ang. <i>International Agency for Research on Cancer</i>)
IUPAC	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej (ang. <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>)
LD ₅₀	mediana dawki śmiertelnej dla 50% osobników
LDH	dehydrogenaza mleczanowa
LOAEL	najniższy poziom, przy którym obserwuje się skutki szkodliwe (ang. <i>lowest observed adverse effect level</i>)
NDS	najwyższe dopuszczalne stężenie
NDSCh	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe
NIOSH	Narodowy Instytut Zdrowia i Bezpieczeństwa Pracy (ang. <i>National Institute for Occupational Safety and Health</i>)
NOAEL	najwyższy poziom, przy którym nie obserwuje się skutków szkodliwych (ang. <i>no observed adverse effect level</i>)
NTP	Narodowy Program Toksykologiczny (ang. <i>National Toxicology Program</i>)
ppm	części na million (ang. <i>part per million</i>)
SDH	dehydrogenaza sorbitolowa
SIR	standardowy współczynnik zapadalności (ang. <i>standardized incidence ratio</i>)
STEL	najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe (ang. <i>short term exposure limit</i>)
T ₃	trijodotyronina
T ₄	tyrozyna
TB	barwnik na bazie dimetylobenzydyny – Trypan Blue – Direct Blue 14
TLV, TLV-TWA	najwyższe dopuszczalne stężenie ważone czasem (ang. <i>threshold limit value-time-weighted average exposure</i>)

PIŚMIENICTWO

- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2001). *o*-Tolidine. TLV documentation. ACGIH, Cincinnati, OH, 2001.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2013). Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. ACGIH, Cincinnati, OH, 2013.
- ACGIH, American Conference of Governmental Industrial Hygienists (2015). Guide to occupational exposure values, compiled by ACGIH.
- Adler O. (1908). The action and fate of benzidine in the animal organism. *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 58, 167–170, 183–184, 194–196 (in German) [cyt. za: NIOSH 1978; MAK 2002].
- Anderson D., Styles J.A. (1978). An evaluation of six short-term tests for detecting organic chemical carcinogens. Appendix 2. The bacterial mutagenicity test. *Br. J. Cancer* 37, 924–930 [cyt. za: Claxton i in. 2001; U.S.EPA 1987].
- Barsotti M., Vigliani E.C. (1952). Bladder lesions from aromatic amines – statistical considerations and prevention. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 5(3), 234–241 [cyt. za: NIOSH 1978; MAK 2002; ACGIH 2001].
- Booth S.C., Welch A.M., Garner R.C. (1980). Some factors affecting mutant numbers in the *Salmonella*/microsome assay. *Carcinogenesis* 1, 911–924 [cyt. za: Claxton i in. 2001].
- Brown R.M., Glassman J.M., Meigs J.W., Sciarini L.J. (1977). Studies on 4,4'-diaminodiphenyl (benzidine) and some of its metabolites – application to industrial hygiene program. Unpublished report submitted to NIOSH by Yale University, Institute of Occupational Medicine and Hygiene, Dept. of Public Health. New Haven, Conn, Dec. 1977, 17 [cyt. za: NIOSH 1978; MAK 2002].
- CCRIS, Chemical Carcinogenesis Research Information System (2015). 3,3'-Dimethylbenzidine. CASRN: 119-93-7 [dostęp: 18.11.2015 – komputerowa baza danych].
- Chung K.T., Chen S.C., Wong T.Y., Li Y.S., Wei C.I., Chou M.W. (2000). Mutagenicity studies of benzidine and its analogs: structure-activity relationships. *Toxicol. Sci.* 56(2), 351–356.
- Cihak R. (1979). Evaluation of benzidine by the micronucleus test. *Mutat. Res.* 67, 383–384 [cyt. za: EPA 1997; ACGIH 2001].
- DFG MAK (2015). Deutsche Forschungsgemeinschaft, List of MAK and BAT Values 2015. Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace. Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Report No. 51, DFG, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., KGaA, Weinheim, 2015.
- Dieteren H.M.L. (1966). The biotransformation of *o*-tolidine. A quantitative investigation. *Arch. Environ. Health* 12, 30–32.
- 3,3'-Dimethylbenzidine (2008). Provisional peer reviewed toxicity values for 3,3'-dimethylbenzidine (CASRN 119-93-7). Superfund Health Risk Technical Support Center, National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH 45268.
- Ema M., Kawasaki H., Ogawa Y., Itami T., Kanoh S. (1984). Studies on the pharmacological bases of fetal toxicity of drugs. (VI). Teratogenic effects of trypan blue and related compounds in rats. *Folia Pharmacol. Jap.* 83(5), 459–465 (in Japanese) [cyt. za: MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- Engelbertz P., Babel E. (1954). Nachweis von *o*-Tolidine und *o*-Dianisidine sowie ihrer Umwandlungsprodukte im Harn in Organteilen. Detection of *o*-tolidine, *o*-dianisidine and their metabolic products in urine and in organ parts. *Zentrabl. Arbeitsmed. Arbeitsschutz* 4, 179–183 [cyt. za: Pliss, Zabezhinsky 1970; NIOSH 1978; MAK 2002].
- Engelbertz P., Babel E. (1956). Studies on the persistence of diphenyl bases in the blood of dogs. *Zentrabl. Arbeitsmed.* 6, 108–110 (in German) [cyt. za: NIOSH 1978].
- Ferber K.H. (1977). Carcinogenicity of orthotolidine in the urinary bladder of the dog. Unpublished report submitted to NIOSH by Ferber K.H., Allied Chemicals Division, Buffalo Dye Plant, Specialty Chemicals Division, Buffalo, Dec. 1977, 11 [cyt. za: NIOSH 1978].
- Ferretti J.J., Lu W., Liu M.B. (1977). Mutagenicity of benzidine and related compounds employed in the detection of hemoglobin. *Am. J. Pathol.* 67, 526–527 [cyt. za: NIOSH 1978; U.S.EPA 1987].
- Galloway S.M., Armstrong M.J., Reuben C., Colman S., Brown B., Cannon C., Bloom A.D., Nakamura F., Ahmed M., Duk S., Rimpo J., Margolin B.H., Resnick M.A., Anderson B., Zeiger E. (1987). Chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in Chinese hamster ovary cells: evaluation of 108 chemicals. *Environ. Molec. Mutagen.* 10 (suppl. 10), 1–175 [cyt. za: ACGIH 2001; CCRIS 2008].
- Gehrmann G.H., Foulger J.H., Fleming A.J. (1949). Occupational diseases of the bladder – papers and discussion, in Preceedings of the Ninth International Congress of Industrial Medicine. Bristol, England, John Wright and Sons Ltd., the Stonebridge Press, 472–75 [cyt. za: NIOSH 1978].
- GESTIS (2016). Substance database. 4,4-Bi-*o*-toluidine [dostęp: 2016.01.29, [http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/017950.xml?f=templates\\$fn=document-frame.html](http://gestis-en.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_en/017950.xml?f=templates$fn=document-frame.html)].

- Golub N.I. (1969). Transplacental action of 3,3'-dichlorobenzidine and orthotolidine on organ cultures of embryonic mouse kidney tissue. *Bull. Exp. Biol. Med.* 54, 1280–1283 [cyt. za: NIOSH 1978; MAK 2002].
- Golub N.I., Kolesnichenko T.S., Shabad L.M. (1974). Blastomogenic effects of some azo-containing compounds on the progeny of test mice. *Biull. Eksp. Biol. Med.* 78(12), 62–65 (in Russian) [cyt. za: MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- Górecka-Turska D., Mekler U., Górski T. (1983). Sister chromatid exchanges in BALB/c mouse bone marrow in response to carcinogenic and non-carcinogenic products and intermediates from dye manufacture. *Bromat. Chem. Toksykol.* 15, 37–42 (in Polish) [cyt. za: MAK 2002].
- Griswold D.P., Casey A.E., Weisburger E.K., Weisburger J.H. (1968). The carcinogenicity of multiple intragastric doses of aromatic and heterocyclic nitro or amino derivatives in young female Sprague-Dawley rats. *Cancer Res.* 28, 924–933.
- Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K., Speck W., Zeiger E. (1983). *Salmonella* mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environ. Mutagen.* 5 (suppl. 1), 1–142 [cyt. za: ACGIH 2001; Claxton i in. 2001].
- Holland V.R., Saunders B.C., Rose F.L., Walpole A.L. (1974). A safer substitute for benzidine in the detection of blood. *Tetrahedron* 30, 3299–3302 [cyt. za: NIOSH 1978; ACGIH 2001; U.S.EPA 198].
- HSDB, Hazardous Substances Data Bank (2016.) 3,3'-Dimethylbenzidine. National Library of Medicine, Bethesda, Maryland, 2016 [dostęp: 2016.01.29 – komputerowa baza danych].
- IARC (1972). 3,3'-Dimethylbenzidine (*o*-tolidine). [W:] IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man, vol. 1, 87–91. International Agency for Research on Cancer, Lyon, WHO.
- IARC (2010). 3,3'-Dimethylbenzidine. [W:] Benzidine. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans, vol. 99. Some aromatic amines, organic dyes, and related exposures. World Health Organization. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 2010. [dostęp: 15.03.2016, www.monograph.iarc.fr/ENG/Monograph/vol99/mono-99-10].
- IARC (2014). Agents classified by the IARC Monographs, vol. 1–114.
- ICSC (2009). 3,3'-Dimetylobenzydyna. ICSC:0960 [dostęp: 14.03.2016, http://www.ilo.org/dyn/icsc/showcard.display?p_lang=pl&p_card_id=0960].
- IFA (2015) GESTIS International Limit Values. Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung [dostęp: 25.02.2016, http://limitvalue.ifa.dguv.de/WebForm_ueliste.aspx].
- Japan Chemical Industry Ecology – Toxicology and Information Center (1996). Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the industrial safety and health law [cyt. za: CCRIS 2008].
- Kennelly J.C., Stanton C.A., Martin C.N. (1984). The effect of acetyl-CoA supplementation on the mutagenicity of benzidines in the Ames assay. *Mutat. Res.* 137, 39–45 [cyt. za: EPA 1987; ACGIH 2001; U.S.EPA 1987].
- Kornbrust D.J., Barfknecht T.R. (1984). Comparison of 7 azo dyes and their azo reduction products in the rat and hamster hepatocyte primary culture/DNA-repair assays. *Mut. Res.* 136(3), 255–266 [cyt. za: MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- Kornbrust D.J., Barfknecht T.R. (1985). Comparison of rat and hamster hepatocyte primary culture/DNA repair assay. *Environ. Mutagen.* 6(1), 1–11 [cyt. za MAK 2002; ACGIH 2001; U.S.EPA 1987].
- Krishna G., Xu J., Nath J. (1986). Comparative mutagenicity studies of azo dyes and their reduction products in *Salmonella* Typhimurium. *J. Toxicol. Environ. Health* 18(1), 111–119 [cyt. za: CCRIS 2008].
- Lazear E.J., Louie S.C. (1977). Mutagenicity of some congeners of benzidine in the *Salmonella* Typhimurium assay system. *Cancer Lett.* 4, 21–25 [cyt. za EPA 1987; Claxton i in. 2001; U.S.EPA 1987].
- MacAlpine J.B. (1947). Papilloma of the renal pelvis in dye workers – two cases, one of which shows bilateral growths. *Br. J. Surg.* 35, 137–140 [cyt. za: NIOSH 1978; ACGIH 2001; U.S.EPA 1987].
- MAK (2002). MAK Value Documentation. 3,3'-Dimethylbenzidine. Documentations and methods. The MAK Collection for Occupational Health and Safety. Wiley Online Library [dostęp: 31.01.2016, www.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb11993e0005/pdf].
- Makena P.S., Chung K. T. (2007). Evidence that 4-aminobiphenyl, benzidine, and benzidine congeners produce genotoxicity through reactive oxygen species. *Environ. Mol. Mutag.* 48(5), 404–413.
- Martin C.N., Kennelly J.C. (1981). Rat liver microsomal azoreductase activity on four azo dyes derived from benzidine, 3,3'-dimethylbenzidine or 3,3'-dimethoxybenzidine. *Carcinogenesis* 2(4), 307–312 [cyt. za: ACGIH 2001; CCRIS 2008; U.S.EPA 1987].
- Martin C.N., McDermid A.C., Garner R.C. (1978). Testing of known carcinogens and noncarcinogens for their ability to induce unscheduled DNA synthesis in HeLa cells. *Cancer Res.* 38, 2621–2627 [cyt. za: MAK 2002; ACGIH 2001; CCRIS 2008].
- Maruya H. (1938). Renal changes in Albino rats induced by the oral administration of various azo pigments and aromatic amino compounds. *Nihon Byori Gakkai Ksishi* 28, 541–547 (in Japanese) [cyt. za: NIOSH 1978; MAK 2002].
- Meigs J.W., Brown R.M., Sciarini L.J. (1951). A study of exposure to benzidine and substituted benzidines in a

- chemical plant – a preliminary report. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 4, 533–540.
- Meigs J.W., Sciarini L.J., Van Sant W.A. (1954). Skin penetration by diamines of the benzidine group. *Arch. Ind. Hyg. Occup. Med.* 9, 122–132.
- The Merck Index (2006). An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. [Red.] M.J. O'Neil. White House Station, NJ, Merck and Co., Inc., p. 1635.
- Mitchell A.D., Rudd C.J., Caspary W.J. (1988). Evaluation of the L5178Y Mouse lymphoma cell mutagenesis assay. Intralaboratory results for sixty-three coded chemicals tested at SRI International. *Environ. Mol. Mutagen.* 12(suppl. 13), 37–101 [cyt. za: ACGIH 2001; CCRIS 2008].
- National Toxicology Program's (1992). [Red.] L.H. Keith, D.B. Walters. Chemical solubility compendium. Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London.
- NIOSH (1978). Criteria for a recommended standard. Occupational exposure to *o*-tolidine. U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, Center for Disease Control, National Institute for Occupational Safety and Health, August 1978. DHEW (NIOSH) Publication no. 78–179, NTIS Pub. No. PB-81-227-084. U.S. National Technical Information Service, Springfield, VA. [dostęp: 25.02.2016, www.cdc.gov/niosh/pdfs].
- Nishioka H., Ogasawa H. (1978). Mutagenicity testing for diphenyl derivatives in bacterial systems. *Mutat. Res.* 54(2), 248–249 [cyt. za: MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- NTP (1991). U.S. National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of 3,3'-dimethylbenzidine dihydrochloride (CAS no. 612-82-8) in F344/N rats. NTP Tech. Report Series No. 390. DHHS (NIH) Pub. no. 91-2845; NTIS Pub. no. PB-92-103-779. U.S. National Technical Information Service, Springfield, VA.
- Oppenheimer R. (1920). Tumors of the uropoietic system observed in workers in chemical plants – their relation to the general pathogenesis of tumors. *Muench. Med. Wochenschr.* 67, 12–14 (in German) [cyt. za: NIOSH 1978].
- Ouellet-Hellstrom R., Rench J.D. (1996). Bladder cancer incidence in arylamine workers. *J. Occup. Environ. Med.* 38(12), 1239–1247.
- Pliss G.B. (1965). Carcinogenic properties of orthotolidine (3,3'-dimethylbenzidine). *Gig. Tr. Prof. Zabol.* 9(7), 18–22 [cyt. za: Pliss, Zabezhinsky 1970; IARC 1972; NIOSH 1978; ACGIH 2001].
- Pliss G.B., Wolfson N.I. (1972). Preneoplastic changes in the cymbal gland of the rats. *Vopr. Onkol.* 18(10), 61–66 [cyt. za: MAK 2002; NIOSH 1978].
- Pliss G.B., Zabezhinsky M.A. (1970). Carcinogenic properties of orthotolidine (3,3'-dimethylbenzidine). *J. Natl. Cancer Inst.* 45, 283–295.
- Prival M.J., Bell S.J., Mitchell V.D., Peiperl M.D., Vaughan V.L. (1984). Mutagenicity of benzidine and benzidine-congeners dyes and selected monoazo dyes in a modified *Salmonella* assay. *Mutat. Res.* 136, 33–47 [cyt. za: EPA 1987; Claxton i in. 2001; U.S.EPA 1987].
- Reid T.M., Morton K.C., Wang C.Y., King C.M. (1984a). Mutagenicity of azo dyes following metabolism by different reductive/oxidative systems. *Environ. Mutagen.* 6(5), 705–717 [cyt. za: Claxton i in. 2001; CCRIS 2008; HSDB 2016; U.S.EPA 1987].
- Reid T.M., Wang C.Y., King C.M., Morton K.C. (1984b). Mutagenicity of some benzidine congeners and their *N*-acetylated and *N,N'*-diacetylated derivatives in different strains of *Salmonella* Typhimurium. *Environ. Mutagen.* 6(2), 145–151 [cyt. za: 3,3'-Dimethylbenzidine 2008; U.S.EPA 1987].
- Report on carcinogens. Substance profiles. Twelfth Edition (2011). 3,3'-Dimethylbenzidine. CAS no. 119-93-7, 168–171, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. National Toxicology Program.
- Reynolds S.H., Patterson R.M., Mennear J.H., Maronpot R.R., Anderson M.W. (1990). *Ras*Gene activation in rat tumors induced by benzidine congeners and derived dyes. *Cancer Res.* 50(2), 266–272 [cyt. za: 3,3'-Dimethylbenzidine 2008].
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16.12.2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006. *Dz. Urz. UE, L* 353 z 31.12.2008.
- RTECS, Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (2015). 3,3'-Dimethylbenzidine. National Institutes for Occupational Safety and Health, Cincinnati, Ohio.
- Rye W.A., Woorich P.F., Zanes R.P. (1970). Facts and myths concerning aromatic diamine curing agents. *J. Occup. Med.* 12, 211–215 [cyt. za: NIOSH 1978; ACGIH 2001].
- Saffiotti U., Cefis F., Montesano R., Sellakumar A.R. (1966). Induction of bladder cancer in hamsters fed aromatic amines. *Ind. Med. Surg.* 35, 564 [cyt. za: ACGIH 2001; IARC 1972; NIOSH 1978; 3,3'-Dimethylbenzidine 2008].
- Saffiotti U., Cefis F., Montesano R., Sellakumar A.R. (1967). Bladder cancer: a symposium. [Red.] W. Deichmann, K.F. Lampe. Aesculap Publishing Co., Birmingham AL, USA [cyt. za: IARC 1972; NIOSH 1978; MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- Sapota A., Daragó A., Szymczak W. (2006). 3,3'-Dimetylobenzydyna i jej sole. Wytyczne Szacowania Rzyzka Zdrowotnego dla Czynnków Rakotwórczych 22(1), 41–60.
- Schieferstein G.J., Shinohara Y., Allen R.R., Sheldon W., Greenman D.L., Allaben W.T. (1989). Carcinogenicity study of 3,3'-dimethylbenzidine dihydrochloride in

- BALB/c mice. Food Chem. Toxicol. 27(12), 801–806 [cyt. za: MAK 2002; ACGIH 2001].
- Sciarini L.J., Meigs J.W.* (1961). Biotransformation of the benzidines. III. Studies on diorthotolidine, dianisidine and dichlorobenzidine: 3,3'-disubstituted congeners of benzidine (4,4'-diaminobiphenyl). Arch. Environ. Health 2, 584–588 (108–112).
- Scott T., Williams M.* (1957). The control of industrial bladder tumours. A code of working practice recommended by the British dyestuffe industry for the manufacture and use of products causing tumors of the bladder Br. J. Ind. Med. 14, 150–163.
- Seiler J.P.* (1977). Inhibition of testicular DNA synthesis by chemical mutagens and carcinogens – preliminary results in the validation of a novel short term test. Mutat. Res. 46, 305–310 [cyt. za: NIOSH 1978; EPA 1997; MAK 2002; U.S.EPA 1987].
- Sellakumar A.R., Montesano R., Saffiotti U.* (1969). Aromatic amines carcinogenicity in hamster. Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 10, 78 (abstr.) [cyt. za: IARC 1972; NIOSH 1978; ACGIH 2001; MAK 2002; 3,3'-Dimethylbenzidine 2008].
- Shabad L.M.* (1967). Predrak v eksperimentalno-morfologiceskom aspekte. Moscow, USSR (in Russian) [cyt. za: MAK 2002; *Pliss, Wolfson* 1972].
- Spitz S., Maguigan W.H., Dobriner K.* (1950). The carcinogenic action of benzidine. Cancer 3, 789–804.
- Tanaka K., Mii T., Marui S., Matsubora I., Igaki H.* (1982). Some aspects of metabolism and mutagenicity of *o*-tolidine and *o*-tolidine-based azo dye. Ind. Health 20, 227–235.
- Tsuchiya K., Okubo T., Ishizu S.* (1975). An epidemiological study of occupational bladder tumors in the dye industry of Japan. Br. J. Ind. Med. 32, 203–209.
- U.S. EPA (1987). Research and development – health and environmental effects profile for 3,3'-dimethylbenzidine. Environment Criteria and Assessment Office, office of Health and Environmental Assessment, U.S. Environmental Protection Agency, Final draft, ECAO-CIN-P223, June 1987, Cincinnati, OH 45268.
- Waalkens D.H., Joosten H.F.P., Yih T.D., Hoekstra A.* (1981). Mutagenicity studies with *o*-tolidine and 4,4'-tetramethyldiamino-diphenylmethane. Mutat. Res. 89(3), 197–202 [cyt. za: EPA 1987; ACGIH 2001; *Claxton* i in. 2001; U.S.EPA 1987].
- Wilson J.G.* (1955). Teratogenic activity of several azo dyes chemically related to trypan blue. Anat. Rec. 123(3), 313–333 [cyt. za: MAK 2002; NIOSH 1978; U.S.EPA 1987].
- You Z., Brezzell M.D., Espadas-Torre M.C., Hooberman B.H., Sinsheimer J.E.* (1993). Ortho-substituted effects on the *in vitro* and *in vivo* genotoxicity of benzidine derivatives. Mutat. Res. 319(1), 19–30.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE, PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO PRACY W NARAŻENIU NA 3,3-DIMETYLOBENZYDYNĘ

dr hab. n. med. MARTA WISZNIEWSKA
e-mail: martaz@imp.lodz.pl
Instytut Medycyny Pracy
im. prof. dr. med. Jerzego Nofera
91-348 Łódź
ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: wątrobę, nerki, skórę i układ oddechowy.

Badania pomocnicze: morfologia, kreatynina, aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT), badanie ogólne moczu.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: wątrobę, nerki, skórę i układ oddechowy.

Badania pomocnicze: morfologia, kreatynina, aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT), badanie ogólne moczu.

Częstotliwość badań okresowych: co 12 ÷ 24 miesiące.

U w a g a

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

Zakres ostatniego badania okresowego przed zakończeniem aktywności zawodowej

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na: wątrobę, nerki, skórę i układ oddechowy.

Badania pomocnicze: morfologia, kreatynina, aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST), aminotransferazy alaninowej (ALT), badanie ogólne moczu.

Narządy (układy) krytyczne

Narządami krytycznymi podczas pracy w narażeniu na 3,3'-dimetylobenzydynę są wątroba i nerki.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Przeciwwskazaniami lekarskimi do zatrudnienia w narażeniu na 3,3'-dimetylobenzydynę są:

- niewydolność nerek
- niewydolność wątroby.

U w a g a

Wymienione przeciwwskazania dotyczą kandydatów do pracy.

O przeciwwskazaniach w przebiegu zatrudnienia powinien decydować lekarz sprawujący opiekę profilaktyczną, biorąc pod uwagę wielkość i okres trwania narażenia zawodowego oraz ocenę stopnia zaawansowania i dynamikę zmian chorobowych.

Ze względu na potencjalne działanie rakotwórcze na ludzi (sklasyfikowanie 3,3'-dimetylobenzydyny i jej soli jako substancji rakotwórczej kategorii zagrożenia 1.B) w narażeniu na 3,3'-dimetylobenzydynę i jej sole nie wolno zatrudniać: kobiet w ciąży, kobiet karmiących piersią i pracowników młodocianych.

Pracownicy powinni być informowani o potencjalnym działaniu rakotwórczym 3,3'-dimetylobenzydyny i jej soli.