

Ser. 4  
L 73

# Schadelijke effecten van stoffen op voortplanting en nageslacht, anders dan via de inwerking op het erfelijk materiaal indien deze bekend is

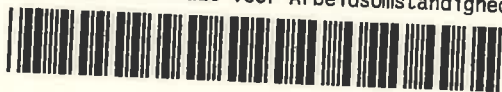
Een literatuurstudie

Uitgevoerd in opdracht van het Directoraat-Generaal van de Arbeid  
door:

het Instituut CIVO-Toxicologie en Voeding TNO;  
in samenwerking met:

het Coronel Laboratorium voor Arbeidshygiëne,  
Faculteit der Geneeskunde, Universiteit van Amsterdam

Nederlands Instituut voor Arbeidsomstandigheden



\*NIA0053236\*

---

Directoraat-Generaal van de Arbeid



S 73

# Schadelijke effecten van stoffen op voortplanting en nageslacht, anders dan via de inwerking op het erfelijk materiaal indien deze bekend is

Een literatuurstudie

Uitgevoerd in opdracht van het Directoraat-Generaal van de Arbeid  
door:

het Instituut CIVO-Toxicologie en Voeding TNO;  
in samenwerking met:

het Coronel Laboratorium voor Arbeidshygiëne,  
Faculteit der Geneeskunde, Universiteit van Amsterdam

**Auteurs:**

Willem G. H. Blijleven  
Henriëtte C. Dreef-van der Meulen  
Herman B. W. M. Koëter (TNO-CIVO)

Anne Stijkel  
Reinier L. Zielhuis (Coronel Laboratorium)

**Projectleiders:**  
Herman B. W. M. Koëter  
Reinier L. Zielhuis

**Begeleiding namens opdrachtgever:**  
G. Idema

oktober 1989

ISBN 90 5307 004 4

Nederlands Instituut voor  
Arbeidsomstandigheden NIA  
bibliotheek-documentatie-informatie  
De Boelelaan 32, Amsterdam-Buitenveldert

ISN-nr.  
plaats  
datum

6656  
Ser. 4, 573  
20 AUG. 1991

<b>INHOUDSOPGAVE</b>	<b>Blz.</b>
<b>Hoofdstuk 1: INLEIDING</b>	<b>5</b>
<b>Hoofdstuk 2: ENIGE BEGRIPSOMSCHRIJVINGEN</b>	<b>10</b>
<b>Hoofdstuk 3: ALGEMENE BESCHOUWING</b>	<b>15</b>
3.1 Inleiding	15
3.1.1 Gevoeligheid van het mannelijk reproductiesysteem	15
3.1.2 Gevoeligheid van het vrouwelijk reproductiesysteem	16
3.1.3 Gevoeligheid van de conceptus	17
3.2 Epidemiologisch onderzoek	17
3.2.1 Onderzoeksopzet	18
3.2.2 Selektie van proefpersonen	19
3.2.3 Vergelijkbaarheid van onderzoeksgroep ten opzichte van controlegroep	21
3.2.4 Gegevensverzameling en validiteit	22
3.2.5 Weergave resultaten en discussie	23
3.3 Dierexperimenteel onderzoek	25
3.3.1 Proefdierkeuze	26
3.3.2 Oriënterende dierproeven	26
3.3.3 Studies ten behoeve van risicoschatting	27
3.3.4 Studies gericht op specifieke aspecten	32
3.3.5 Voorwaarden waaraan dierproeven dienen te voldoen	33
3.4 Relevantie van dierproeven bij het vaststellen van risico's met betrekking tot voortplanting en nageslacht bij de mens	35
3.4.1 Algemeen	35
3.4.2 Overeenstemmen van dierproefgegevens en humane gegevens	35
3.4.3 Speciesverschillen	37

INHOUDSOPGAVE (vervolg)	Blz.
3.5 Conclusies	38
3.6 Literatuur	39
<b>Hoofdstuk 4: SAMENVATTING VAN SCHADELIJKE EFFECTEN VAN SPECIFIEKE STOFFEN OP VOORTPLANTING EN NAGESLACHT</b>	<b>53</b>
4.1 Chloropreen	53
4.2 PCB's (technisch mengsel)	59
4.3 Dieldrin	72
4.4 Lindaan	85
4.5 2,4-D en 2,4,5-T	90
4.6 Organische oplosmiddelen	98
4.7 Ethyleenglycol	111
4.8 Formamide en N,N-dimethylformamide	112
4.9 Pentachloorphenol	114
4.10 Vinylchloride	116

## Hoofdstuk 1: INLEIDING

In juni 1983 werd door het Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid het rapport: "Risico's van chemische stoffen voor vrouwen in het beroep" gepubliceerd. Mede naar aanleiding van in dit rapport gegeven aanbevelingen werd door het Directoraat Generaal van de Arbeid een nota dienaangaande opgesteld.

In het rapport wordt op grond van gevonden gegevens onder meer de volgende aanbeveling gedaan:

"Literatuuronderzoek naar de mogelijke schadelijke invloeden op de voortplanting door chemische stoffen die in de arbeidssituatie gebruikt worden. Dit literatuuronderzoek dient te betreffen risico's bij of via de vrouw op basis van alle proefdiergegevens en tevens risico's bij of via de man op basis van zowel gegevens bij de mens als uit dierproeven".

Op basis van het rapport heeft de toenmalige staatssecretaris van Sociale Zaken en Werkgelegenheid destijds in haar beleidsvoornemens vastgesteld dat (aanvullende) literatuurstudies worden overwogen naar mogelijke schadelijke eigenschappen van met name stoffen van de Nationale MAC-lijst op de voortplanting en het nageslacht. Een projectvoorstel ter zake werd vervolgens ingediend door het Instituut CIVO-Toxicologie en Voeding TNO in samenwerking met het Coronel Laboratorium voor Arbeidshygiene, Universiteit van Amsterdam. Op 30 oktober 1984 verleende de toenmalige staatssecretaris opdracht voor de uitvoering van bedoelde literatuurstudie. In het voorliggende rapport wordt het literatuuronderzoek beschreven.

Bij het verzamelen van literatuur over effecten bij de mens werd niet uitsluitend gelet op de risico's ten aanzien van de voortplanting en het nageslacht van blootstelling via de vrouw, maar werd tevens gezocht naar effecten via de man. Voor wat betreft de effecten via de vrouw bleef het literatuuronderzoek voornamelijk beperkt tot de periode na 1981. Voor de daaraan voorafgaande periode werd het rapport "Risico's van chemische stoffen voor vrouwen in het beroep" geraadpleegd.

De literatuurrecherche met betrekking tot dierexperimenteel onderzoek werd zo volledig mogelijk uitgevoerd en beperkte zich dan ook niet tot effecten bij vrouwelijke dieren; ook werd de invloed van stoffen via mannelijke dieren op voortplanting en nageslacht bestudeerd. In dit kader werd waar mogelijk tevens aandacht besteed aan mogelijke verschillen in gevoeligheid

van reproductiefuncties voor de schadelijke werking van stoffen tussen mannelijke en vrouwelijke dieren. Hierbij werd tevens de invloed van stoffen op het endocriene systeem, betrokken bij fertiliteit en voortplanting in het onderzoek betrokken.

Literatuur van oudere datum dan 1970 werd in principe niet in het onderzoek betrokken.

Bij het verzamelen van literatuur werd in beginsel uitgegaan van:

- de databestanden van DIMDI, Keulen (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information)
- het in mei 1981 door Clement Associates, Inc., in opdracht van de U.S. Council on Environmental Quality, Washington, D.C. opgestelde rapport: "Chemical Hazards to Human Reproduction" door: I.C.T. Nibet en N.M. Karch, Noyes Data Corp. Park Ridge N.J., 1983
- de door Barlow en Sullivan in 1982 samengestelde bibliografie: "Reproductive Hazards of Industrial Chemicals"
- het in opdracht van het Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid door het Coronel Laboratorium samengestelde rapport: "Risico's van chemische stoffen voor vrouwen in het beroep"
- "Teratology Lookout", het op reproductietoxicologie en teratologie gerichte databestand van MIC-KIBIC, Stockholm (Medical Information Center - Karolinska Institutet Library and Information Center)
- relevante tijdschriften op het gebied van de reproductietoxicologie
- bovendien werd inzake gekregen in de door de WGD verzamelde relevante literatuur ten behoeve van de Nationale MAC-commissie.

Bij het selekteren van in aanmerking komende stoffen werd in eerste instantie uitgegaan van de volgende in het rapport: "Risico's van chemische stoffen voor vrouwen in het beroep" genoemde categorieën:

- A: Stoffen die waarschijnlijk of zeker bij blootstelling rond de huidige MAC één of meer extra risico's voor de vrouw en/of haar nageslacht inhouden
- B: Stoffen waarvoor aanwijzingen bestaan voor één of meer extra risico's bij blootstelling rond de huidige MAC voor de vrouw en/of haar nageslacht.

Vervolgens werd op om praktische redenen de selectie beperkt tot stoffen welke op de Nationale MAC-lijst 1983 voorkwamen.

Aldus werden de volgende stoffen geselecteerd:

- |   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. Chloropreen  | 16. Tetrahydrofuraan    |
| 2. PCB's (technisch mengsel)                                      | 17. Ethylacetaat        |
| 3. Dieldrin   | 18. Ethyleenglycol      |
| 4. Lindaan  | 19. Tetrachloorkoolstof |
| 5. 2,4,5-trichloorfenoxiazijnzuur;<br>2,4 dichloorfenoxiazijnzuur | 20. Trichloorethyleen   |
| 6. Dimethylformamide  | 21. Tetrachloorethyleen |
| 7. Terpentine (white spirit)                                      | 22. Vinylchloride       |
| 8. Vinylacetaat   | 23. Aceton              |
| 9. Xyleen   | 24. Amylacetaat         |
| 10. Broomchloormethaan  | 25. Butanol             |
| 11. 2-Butanon   | 26. Cyclohexanol        |
| 12. Butylacetaat  | 27. Formamide           |
| 13. Cyclohexaan   | 28. Methanol            |
| 14. 2-Ethoxyethylacetaat (cellosolve)                             | 29. Nitromethaan        |
| 15. Nitrobenzeen  | 30. Pentachloorfenol    |

In fase 1 van het projekt werden de stoffen 1 t/m 5 uitvoerig geëvalueerd. Op basis van de hiermee opgedane ervaring werd in overleg met het DGA de definitieve werkwijze en vorm van rapportage voor het gehele project vastgesteld.

Zowel wat betreft de dierproefgegevens als wat betreft de humane gegevens werd bij het onderzoek uitgegaan van de volgende deelvragen:

1. Risico's bij blootstelling van vrouwen c.q. vrouwelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocriene systeem en fertiliteit.
2. Risico's bij blootstelling van vrouwen c.q. vrouwelijke dieren ten aanzien van zwangerschap c.q. drachtigheid en prenatale ontwikkeling.
3. Risico's bij blootstelling van vrouwen c.q. vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht (zuigeling via borstvoeding).
4. Risico's bij blootstelling van mannen c.q. mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocriene systeem en fertiliteit.
5. Risico's bij blootstelling van mannen c.q. mannelijke dieren ten aanzien van zwangerschap c.q. drachtigheid van de partner en nageslacht.
6. Risico's bij blootstelling van zowel mannen als vrouwen c.q. mannelijke en vrouwelijke dieren (mating partners) ten aanzien van het nageslacht.

Gaande het onderzoek bleek dat van de volgende stoffen geen relevante literatuur kon worden achterhaald:

Amylacetaat	Nitrobenzeen
Broomchloormethaan	Nitromethaan
Butylacetaat	Terpentine (white spirit)
Cyclohexaan	Tetrahydrofuraan
2-Ethoxyethylacetaat	Vinylacetaat
Ethylacetaat	

Vervolgens bleek dat van een aantal andere stoffen, niet genoemd in fase 1 van het projekt, slechts summiere gegevens over effecten op fertiliteit en voortplanting konden worden opgespoord. Bovendien bleek het niet mogelijk om humane gegevens over de in de lijst van geselecteerde stoffen voorkomende oplosmiddelen per stof te kunnen onderscheiden.

Gaande het onderzoek van humane gegevens over oplosmiddelen werd besloten om de beoordeling van de mate van causaal bewijs van effecten op de voortplanting in te delen volgens de volgende indeling (gemodificeerde versie van de door Hemminki en Vineis (Teratol. Carcinog. Mutag. 5 (1985) 251-318) beschreven indeling):

1. sterk bewijs van causaliteit

- informatie over blootstelling en effect objectief en kwantitatief
- analytische studies (incl. controles) beschikbaar
- geen aanwijsbare bias
- geen aanwijsbare positieve confounder
- sterke associatie (RR 2) of bij zwakkere associatie meerdere studies beschikbaar die in dezelfde richting wijzen
- externe consistentie

2. beperkt bewijs van causaliteit

- verschillende casereports beschikbaar of analytische studies zonder controles
- bias verklaart vermoedelijk niet de hele associatie
- zwakke associatie; niet direct reproduceerbaar



3. zwak bewijs van causaliteit

- enkele casereports
- alleen transversale correlatiestudies
- individuele studies tonen zwakke associaties; bias en confounding mogelijk

4. inadequaat bewijs van causaliteit

- ernstige bias
- ernstige confounding
- onvoldoende informatie beschikbaar

Ofschoon het niet haalbaar werd geacht om alsnog alle reeds beoordeelde en gerapporteerde stof-evaluaties op deze indeling aan te passen, lijkt het raadzaam om in volgende literatuurstudies van deze indeling in niveaus uit te gaan.

## Hoofdstuk 2: ENIGE BEGRIPSOMSCHRIJVINGEN

### Aangeboren afwijking:

Structurele verstoring van de normale prenatale ontwikkeling. Als begrip verouderd; bij voorkeur wordt het begrip: "ontwikkelingsstoornis" gehanteerd.

### ADI:

Aanvaardbare Dagelijkse Inname (Acceptable Daily Intake). Vastgesteld door de Wereld Gezondheids Organisatie en Wereld Voedsel Organisatie. Officieel: De ADI (in mg per kg lichaamsgewicht) is "de hoeveelheid van een stof die dagelijks via de voeding kan worden opgenomen gedurende het gehele leven zonder merkbaar risico, beoordeeld op basis van alle bekende gegevens op dat moment".

NB: geldt niet automatisch voor zuigelingen.

### Case-control onderzoek

Uitgaande van een groep personen met een bepaald effect (de cases) wordt nagegaan of hiervan meer personen in het verleden blootgesteld zijn geweest aan een verdachte risicofactor dan een controle groep die het betreffende effect niet heeft.

### Cohort onderzoek

Uitgaande van een groep personen, geëxponeerd aan zo mogelijk hoofdzakelijk één bepaalde stof of groep van stoffen met een gelijksoortig effect (de indexgroep) wordt nagegaan of en in welke mate het vóórkomen van een effect verschilt van het vóórkomen van hetzelfde effect in een niet geëxponeerde groep.

### Dosis-effect relatie:

Zie expositie-effect relatie.

### Effectdrempel:

De mate van blootstelling waarbij een bepaald effect begint op te treden.

### Embryo:

Zich ontwikkelend organisme vanaf de bevruchting tot en met de organogenese.

Embryotoxisch:

Van zodanige invloed dat vanaf de bevruchting tot en met de organogenese nadelige effecten, anders dan teratogene effecten worden opgewekt bij het nageslacht.

Expositie-effect relatie:

Een beschrijving van de mate van een effect bij diverse intensiteit (en duur) van blootstelling.

Fecundity index:

$$\frac{\text{aantal drachtige dieren} \times 100}{\text{aantal gepaarde dieren}}$$

Female fertility index:

$$\frac{\text{aantal drachtige dieren} \times 100}{\text{aantal vrouwelijke dieren geplaatst bij mannelijke dieren}}$$

Foetotoxisch:

Van zodanige invloed dat gedurende de periode na organogenese tot aan de geboorte nadelige effecten anders dan teratogene effecten worden opgewekt bij het nageslacht.

Foetus:

Zich ontwikkelend organisme vanaf de organogenese tot aan de geboorte.

Functionele stoornis:

Afwijking van de normale werking van cellen, weefsels en orgaansystemen welke niet alleen in fysiologische zin, maar ook in het gedrag tot uiting kan komen.

Gestation index:

$$\frac{\text{aantal nesten met levende pups} \times 100}{\text{aantal drachtige dieren}}$$

Live birth index:

$$\frac{\text{aantal levend geboren pups} \times 100}{\text{totaal aantal geboren pups (levend en dood)}}$$

MAC

De Maximale Aanvaarde Concentratie van een gas, damp, nevel of van stof, in de lucht op de werkplek. Bij de vaststelling ervan wordt zoveel mogelijk als uitgangspunt gehanteerd dat die concentratie bij herhaalde expositie ook gedurende een langere tot zelfs een arbeidsleven omvattende periode, voor zover de huidige kennis reikt, in het algemeen de gezondheid van zowel de werknemers alsook van hun nageslacht niet benadeelt.

Male fertility index:

$$\frac{\text{aantal mannelijke dieren welke "vader" worden} \times 100}{\text{aantal mannelijke dieren geplaatst bij vrouwelijke dieren}}$$

Malformation:

Structurele weefsel-, orgaan- of skeletafwijking welke:

- a. een verstoring van de lichaamsopbouw teweeg brengt en/of
- b. op enigerlei wijze interfereert met lichaamsfuncties, of
- c. niet verenigbaar is met leven.

· Malformations zijn te verdelen in major malformations en minor malformations of minor anomalies. Classificatie is onder meer afhankelijk van diersoort en stam (achtergrondincidentie van spontaan voorkomende ontwikkelingsstoornissen).

Mating index:

$$\frac{\text{aantal gepaarde vrouwelijke dieren} \times 100}{\text{aantal vrouwelijke dieren geplaatst bij mannelijke dieren}}$$

Ontwikkelingsstoornis:

Iedere structurele of functionele verstoring van de normale prenatale, perinatale en postnatale ontwikkeling tot de einddifferentiatie van het individu.

OR ("Odds Ratio"):

$$\frac{\text{aantal blootgestelde cases}}{\text{aantal blootgestelde controles}} \quad \frac{\text{aantal blootgestelde controles}}{\text{aantal niet-blootgestelde controles}}$$

pbb:

Parts per billion ("deeltjes per miljard(!)": bij gassen mm<sup>3</sup> gas/m<sup>3</sup> lucht; bij voedsel: µg/kg voedsel.

Post implantatie verlies:

$$\frac{\text{aantal implantatieplaatsen minus het aantal levend geboren pups} \times 100}{\text{aantal implantatieplaatsen}}$$

ppm:

Parts per million ("deeltjes per miljoen"): bij gassen: cm<sup>3</sup> gas/m<sup>3</sup> lucht;  
bij voedsel: mg/kg voedsel.

Pre implantatie verlies:

$$\frac{\text{aantal corpora lutea minus het aantal implantatieplaatsen} \times 100}{\text{aantal corpora lutea}}$$

RR:

Relatief risico, de kans op het krijgen van een bepaalde ziekte of afwijking bij een bepaalde blootstelling, gedeeld door de kans op dezelfde afwijking zonder deze blootstelling.

Sex ratio:

$$\frac{\text{aantal mannelijke pups}}{\text{aantal vrouwelijke pups}}$$

Synergisme:

Het verschijnsel dat het gezamenlijk effect van twee stoffen groter is dan de som van de effecten die beide stoffen afzonderlijk zouden hebben.

Teratogeen:

Van zodanige invloed dat gedurende de gametogenese, bevruchting, zwangerschap of lactatie onherstelbare of langdurige ontwikkelingsstoornissen ontstaan bij het nageslacht.

Teratologie:

Wetenschap welke het voorkomen, de oorzaken en verschijnselen van blijvende of langdurige ontwikkelingsstoornissen bestudeert, in het bijzonder die welke vóór de geboorte worden opgewekt.

Viability index dag "N":

$$\frac{\text{aantal levende pups op dag "N"} \times 100}{\text{aantal levend geboren pups}}$$

Variant:

Structurele weefsel-, orgaan- of skeletafwijking welke:

- a. geen biologisch significant effect heeft op lichaamsopbouw en/of lichaamsfuncties en
- b. slechts in geringe mate afwijkt van hetgeen als normaal wordt beschouwd.

Weaning index:

$$\frac{\text{aantal levende pups op speenleeftijd} \times 100}{\text{aantal levende pups op dag 4 (na het gelijkmaken van de nesten)}}$$

## Hoofdstuk 3: ALGEMENE BESCHOUWING

### 3.1 Inleiding

Het vermogen tot voortplanting kan worden beschouwd als een van de meest wezenlijke aspecten van de biologie van ieder organisme en is een voorwaarde voor het overleven van de species. Voortplanting vereist de interactie van gecompliceerde anatomische, fysiologische en gedragsystemen die elk op zich niet alleen probleemloos maar ook in de juiste sequentie dienen te functioneren wil de voortplanting effectief zijn (zie figuur 1).

Het bestuderen van effecten van toxische stoffen op de voortplanting bij de mens heeft zich in de wetenschapsbeoefening tot nu toe voornamelijk beperkt tot associaties tussen blootstelling tijdens de zwangerschap en daarop volgende miskramen c.q. ontwikkelingsstoornissen. Een mogelijke relatie tussen blootstelling van ouders aan toxische stoffen gedurende de periode voorafgaand aan de zwangerschap en effecten op de voortplanting, is veel minder intensief bestudeerd. Met name de effecten op geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit bij mannen zijn nog nauwelijks onderzocht.

#### 3.1.1 Gevoeligheid van het mannelijk reproductiesysteem

Ontwikkeling en differentiatie van de mannelijke geslachtscellen wordt voor een belangrijk deel gestuurd door de Sertoli cellen van de testis.

Hypophysectomie (het verwijderen van de hypofyse) en anderssoortige (exogene) beïnvloeding van de steroid hormoonhuishouding kunnen de functie van de Sertoli cellen en dientengevolge de ontwikkeling van de geslachtscellen nadelig beïnvloeden (Dym et al., 1977).

Verstoring van hormoonregulatieprocessen kan ook van invloed zijn op het functioneren van de Leydig cellen als primaire bron van testosteron.

Hierdoor kunnen effecten optreden in secundaire geslachtskenmerken.

Verstoring van het endocriene systeem kan bovendien leiden tot een verlate aanvang van de puberteit of tot impotentie.

Ook tijdens de rijping zijn mannelijke geslachtscellen gevoelig voor exogene factoren. Een reductie van het aantal spermatiden kan leiden tot infertiliteit terwijl mutaties in spermatocyten/spermatiden in het nageslacht kunnen leiden tot vroege abortus maar ook kunnen resulteren in doodgeboortes, ontwikkelingsstoornissen en neonatale sterfte.

Het semen (sperma) kan bovendien dienen als excretieroute van chemische stoffen. Niet alleen kan hierdoor een effect op de motiliteit en vitaliteit van de spermatiden worden geïnduceerd, ook kunnen op deze wijze toxische stoffen direct in contact komen met de mucosa van de vagina en het endometrium van de uterus. Een direct contact van de zygote (bevruchte eicel) met via het semen aangevoerde toxische stoffen kan zelfs leiden tot functionele of structurele ontwikkelingsstoornissen bij de conceptus. Een schematische weergave van de invloed van chemische stoffen op het mannelijk reproductie- en endocriene systeem is gegeven in figuur 2.

### 3.1.2 Gevoeligheid van het vrouwelijk reproductiesysteem

Afgezien van de invloed van toxische stoffen op de oögenese kunnen alle stadia van de reproductie vanaf de bevruchting via blootstelling van de vrouw nadelig worden beïnvloed.

De ontwikkeling van de vrouwelijke geslachtscellen speelt zich voor een deel reeds prenataal af. Op het moment van geboorte hebben alle primaire oöcyten reeds de profase van de eerste meiotische deling doorlopen. Verdere cytogenetische veranderingen (meiotische celdeling) treden pas op wanneer de puberteit wordt bereikt. Een groot deel van de primaire oöcyten degenerereert echter reeds vóór de aanvang van de puberteit. Blootstelling aan bepaalde chemische stoffen, met name aan polycyclische aromatische koolwaterstoffen kunnen dit natuurlijke degeneratieproces aanzienlijk versnellen waardoor bijna 90% in plaats van 60% van de primaire oöcyten te gronde kan gaan (Mattison en Thorgeinsson, 1978). Een dergelijk toegenomen degeneratie kan leiden tot een vervroegde aanvang van de menopauze.

Effecten van chemische stoffen op de primaire oöcyt welke niet leiden tot celdood resulteren in de meeste gevallen in infertiliteit of leiden, indien bevruchting optreedt, tot vroege abortus (Basler et al., 1976). Aangenomen wordt dat een gering aantal embryo's kan overleven en dientengevolge bij geboorte ontwikkelingsstoornissen vertonen (Basler et al., 1976).

Toxische stoffen kunnen in het vrouwelijk organisme ook de regulatie van hormoonhuishouding verstoren waardoor meerdere reproductiefuncties zoals de aanvang van de puberteit, ovulatie, menstruatiecyclus en fysiologie van de geslachtsorganen kunnen worden beïnvloed.

Ook kan de ontwikkeling en functie van de placenta onder invloed van toxische stoffen worden verstoord, zowel rechtstreeks als via een modificatie van hormoonspiegels.



### 3.1.3 Gevoeligheid van de conceptus

Als stoffen inwerken op het eerste stadium van de ontwikkeling, met name de periode voor de innesteling (pre-implantatie periode: bij de mens ongeveer 3 weken na de eerste dag van de laatste menstruatie) is de dood van het embryo veelal het gevolg. Het is echter ook mogelijk dat het embryo in leven blijft en dat stoornissen in de verdere ontwikkeling worden veroorzaakt.

Een stof is tijdens de zwangerschap alleen in staat een directe teratogene werking te veroorzaken als de stof zelf of haar stofwisselingsprodukten de moeder/embryo barrière kunnen passeren en in het embryo of foetus terecht kunnen komen. De toegankelijkheid tot het embryonale en foetale weefsel is afhankelijk van vele factoren, onder andere van eigenschappen van de stof zoals oplosbaarheid, ionisatiegraad en de chemische structuur. Overigens wordt de laatste jaren steeds duidelijker dat de barrièrewerking van de placenta slechts zeer beperkt is. Het stadium waarin de ontwikkeling van de embryo of de foetus zich bevindt als een mogelijk schadelijke stof inwerkt, is bepalend voor het uiteindelijke effect.

Structurele zowel als funktionele ontwikkeling is niet voltooid op het moment van geboorte maar zet zich nog geruime tijd daarna voort. Met name het centraal zenuwstelsel, het immuunsysteem, het endocrien- en reproductiesysteem alsmede meerdere detoxificatiesystemen ontwikkelen zich voor een belangrijk deel postnataal. Hierdoor is de neonat met name tijdens de lactatieperiode nog zeer gevoelig voor ontwikkelingsstoornissen.

### 3.2 Epidemiologisch onderzoek

Epidemiologisch reproductieonderzoek beoogt na te gaan of en zo ja welke samenhang bestaat tussen een bepaalde risicofactor (determinant) en effecten op de voortplanting bij de man, de vrouw of bij de vrucht/het kind via één of beide ouders. De onderhavige studie beperkt zich tot chemische risicofactoren. Daarbij gaat het vooral om effecten als gevolg van blootstelling aan chemische stoffen in de arbeidssituatie. In het navolgende worden de meest belangrijke aandachtspunten bij epidemiologisch reproductieonderzoek besproken.

### 3.2.1 Onderzoeksopzet

Afhankelijk van de situatie, de vraagstelling en de reeds beschikbare kennis op grond van humane of dierproefgegevens is het mogelijk een voorkeur vast te stellen voor een bepaalde opzet. Het is dan ook van belang de karakteristieken en de voor- en nadelen van elke opzet te kennen.

#### - cohortonderzoek

Uitgaande van een groep werknemers geëxponeerd aan zo mogelijk hoofdzakelijk één bepaalde stof of groep van stoffen met een gelijksoortig effect (de indexgroep) wordt nagegaan of en in welke mate het vóórkomen van een effect op de reproductie verschilt van dat in een niet-geëxponeerde groep. Dit verschil wordt uitgedrukt als Relatief Risico (RR).

$$RR = \frac{\text{incidentie effect indexgroep}}{\text{incidentie effect controlegroep}}$$

Deze onderzoeksmethode is geschikt voor effecten die normaal redelijk veel vóórkomen (bijv. menstratiestoornissen, miskramen). Cohortonderzoek kan zowel prospectief als retrospectief gebeuren. Wetenschappelijk gezien verdient de prospectieve aanpak de voorkeur, aangezien vóóraf nauwkeurig kan worden vastgesteld welke gegevens men ten aanzien van expositie, effect en versturende factoren verwacht nodig te hebben. Nadelen zijn de hoge kosten en de mogelijk lange tijd tussen expositie en effect. Indien - zoals in dit rapport - effecten niet berusten op genetische beschadiging geldt dit laatste argument nauwelijks: een zwangerschap duurt in vergelijking met de lange latentietijd voor sommige vormen van kanker "maar" negen maanden, en de rijping van spermatozyten 65 à 70 dagen. Anders ligt dat voor de oöcyten van de moeder; die kunnen vele jaren blootgesteld zijn geweest. Ook ontwikkelingsstoornissen bij het nageslacht als gevolg van een blootstelling tijdens de zwangerschap die pas op latere leeftijd aan het licht komen zijn prospectief moeilijk onderzoekbaar.

#### - case-controlonderzoek

Uitgaande van een groep werknemers bij wie een ongewenst effect op de voortplanting is geconstateerd (de cases) wordt nagegaan of van hen méér personen in het verleden blootgesteld zijn geweest aan een verdachte risicofactor dan personen van een controlegroep die het betreffende reproductieeffect niet heeft. Dit verschil wordt uitgedrukt als "Odds Ratio" (OR).

$$\text{OR} = \frac{\text{aantal geëxponeerde cases}}{\text{aantal geëxponeerde controles}} / \frac{\text{aantal geëxponeerde controles}}{\text{aantal niet-geëxponeerde controles}}$$

Deze vorm van onderzoek is bij uitstek geschikt voor zeldzaam voorkomende ziekten, zoals vagina-adenosis bij het nageslacht, een effect van blootstelling aan DES tijdens de zwangerschap. Case-control onderzoek is per definitie retrospectief, met alle nadelen van dien ten aanzien van informatieverwerving. Het voordeel van deze methode is dat deze minder arbeidsintensief is dan het cohort-onderzoek.

#### - transversaal onderzoek

Het kenmerk van een transversaal onderzoek is dat op een moment in het leven van elk van de onderzochte personen de aanwezigheid van een effect en mogelijke oorzaken hiervan worden nagegaan. De kracht van deze methode is de eenvoudige opzet, de relatief korte duur en daarmee samenhangend de lage kosten; de zwakte is daarentegen dat er wel associaties kunnen worden gevonden, maar dat het heel goed mogelijk is dat oorzaak en gevolg verwisseld worden. Causaliteit kan niet worden aangetoond. Transversaal onderzoek heeft bij uitstek exploratieve waarde.

#### - case reports

Case reports (casuïstische waarnemingen) vestigen de aandacht op de mogelijke specificiteit van een associatie vanwege een waargenomen samengaan van een zeldzame uitkomst en een zeldzame blootstelling. Als eerste signaal hebben case reports regelmatig hun nut bewezen, met name als een uitkomst bij meerdere werknemers in een overzienbare periode wordt waargenomen; ten aanzien van de causaliteit is het nut ervan echter marginaal.

#### 3.2.2 Selektie van proefpersonen

Na de keuze van een passende onderzoeksopzet in relatie tot een goed omschreven vraagstelling dient een zorgvuldige selektie plaats te vinden van zowel de indexgroep, resp. de cases als van de controlegroep resp. de controles. Hierbij dient rekening te worden gehouden met het feit dat de omvang van de steekproef/onderzoeksgroep in belangrijke mate bijdraagt aan de "kracht" van het onderzoek. Een veel voorkomend probleem is misclassificatie, zowel ten aanzien van de blootstelling als ten aanzien van het effect (Stein e.a., 1984). Misclassificatie houdt in dat een persoon ten

onrechte bij de indexgroep of de cases wordt ingedeeld in plaats van bij de controlegroep of controles. Deze situatie kan zich ook omgekeerd voordoen. Dit kan voorkomen worden door vooraf een theoretisch concept op te stellen over de risicofactor en de effecten op de voortplanting op grond van reeds beschikbare kennis, met daaruit voortvloeiend hypothesen die getoetst moeten worden. Overigens is het theoretisch concept vaak niet eensluidend: ten aanzien van neurale buis defekten en spina bifida veronderstelde van Recklinghausen dat de neurale buis niet sluit; Morgagni veronderstelde echter dat de neurale buis wèl sluit, maar later weer open kan gaan. In het eerste geval moet blootstelling vóór de 27e dag na de conceptie plaats vinden, in het laatste geval kan de blootstelling ook in een latere fase van de zwangerschap plaatsvinden (Stein e.a., 1984). Bij onderzoek van moeders die thalidomide tijdens hun zwangerschap gebruikt hadden vonden Lenz en Knapp in 1962 een OR van 215 resp. 380 voor phocomelia ten opzichte van een controlegroep, afhankelijk van het feit of zij de moeders van de cases definieerden als geëxponerd aan thalidomide tijdens de zwangerschap of meer beperkt tot expositie aan thalidomide tijdens het eerste trimester (Stein e.a., 1984). Wat betreft de blootstelling dient men zich af te vragen:

- om welke stoffen gaat het
- welke dosis is van belang  
(bijv. de totale dosis tijdens de zwangerschap, of de hoogste dosis op een bepaald moment)
- welke periode van blootstelling ten opzichte van de conceptie is het meest kritiek.

Een zelfde risicofactor kan in verschillende fasen van de zwangerschap verschillende effecten geven; b.v. rubella virus kan vóór de negende week van de zwangerschap leiden tot cataract, vóór de zestiende week tot congenitale hartziekten en doofheid; contact met rubella virus in het derde trimester van de zwangerschap leidt echter voorzover bekend niet tot waarneembare effecten bij het kind.

Misclassificatie ten aanzien van het effect kan optreden doordat effecten verkeerd of ten onrechte gegroepeerd worden, of ten onrechte juist niet gegroepeerd worden. Vaak zijn de redenen voor al dan niet groeperen niet geëxpliciteerd. Verschillende vormen van groeperen zijn te vinden in de literatuur, bijv. in het geval van ontwikkelingsstoornissen:

- alle vormen tesamen
- onderscheid major/minor defects (major: irreversibel of langdurig, interferend met "normal life"; minor: kortdurend, verenigbaar met "normal life", regelmatig voorkomend)
- onderscheid per orgaansysteem
- elke afwijking apart.

De keuze voor al dan niet groeperen hangt af van het theoretisch concept en van de geformuleerde hypothesen.

Misclassificatie kan leiden tot een verdunning van de associatie (waardoor deze wellicht niet meer significant waargenomen wordt) maar kan ook het gevolg zijn van competitie; de bevinding van een lagere frequentie doodgeboortes dan verwacht kan samenhangen met het feit dat een stof ook aanleiding geeft tot een verhoogde kans op abortus, waardoor er al een aantal vruchten voor de 28e week afgedreven is dat anders mogelijk in een doodgeboorte g eindigd zou zijn. Dit pleit voor het bestuderen van meerdere reproductieparameters per onderzoek.

### 3.2.3 Vergelijkbaarheid van onderzoeksgroep t.o.v. controlegroep

Binnen  en onderzoek dienen cases en controles resp. indexgroep en controlegroep goed vergelijkbaar te zijn voor wat betreft de overige factoren anders dan het te onderzoeken agens. In de praktijk is dat bijna niet haalbaar. In elk onderzoek is wel een aantal mogelijk versturende factoren, confounders, aan te geven. Kenmerk van confounders is dat deze zowel een samenhang hebben met de blootstelling aan de vermoede oorzaak als met het onderzochte effect. Voorbeelden van mogelijk versturende factoren in reproductieonderzoek zijn leeftijd, pariteit, sociaal economische status, rookgewoonte en alcoholgebruik. Als de invloed van een mogelijke confounder wordt uitgeschakeld en de mate en de richting van de associatie verandert niet, dan is het geen confounder. Als een confounder wordt verondersteld maar niet getoetst, dan blijft het een mogelijke confounder. In het algemeen kan worden gesteld dat sterke associaties (hoge RR of OR) minder gevoelig zijn voor confounders dan matige associaties. De laatste associaties zullen dan ook vaker in onafhankelijk onderzoek (andere groepen werknemers) getoetst moeten worden alvorens ze als causaal kunnen worden geïnterpreteerd. Door confounders te onderkennen en de invloed ervan na te gaan kan hiervoor gecorrigeerd worden. Dan wordt ook duidelijk welke factoren als signaal dienen te worden beschouwd en welke als ruis. Sheikh (1987) kwam op grond van het feit dat zwangerschappen

bij één en dezelfde vrouw onderling samenhangen tot de conclusie dat het beter is zwangerschappen tijdens welke blootstelling heeft plaatsgevonden te vergelijken met zwangerschappen van dezelfde moeders waarbij van blootstelling geen sprake was dan met niet-blootgestelde zwangerschappen van een externe controlegroep.

Uiteraard dient dan wel voor andere versturende factoren gecorrigeerd te worden, zoals leeftijd en leefgewoonten. Axelson (1985) noemde het verschijnsel van effectmodificatie, dat niet verward moet worden met confounding. Van effectmodificatie is sprake als het effect van een blootstelling toe- of afneemt in aanwezigheid van een modificerende faktor. Als voorbeeld noemde hij roken als modificerende faktor voor miskramen: zelfs als de rookgewoonten identiek zijn bij blootgestelde en niet-blootgestelde zwangeren zal er een tendens te zien kunnen zijn dat de meerderheid van de miskramen voorkomt bij de rokende blootgestelde vrouwen.

#### 3.2.4 Gegevensverzameling en validiteit

Informatie dient verzameld te worden over de expositie, de effecten en de confounders. Gegevens over de expositie kunnen verkregen worden door:

- biologische monitoring (meting in biologische media van de werknemer(ster) b.v. bloed of urine): personal air sampling (meting van de uitademingslucht van de werknemer/ster)
- environmental monitoring (meting in de werkomgeving zowel gekoppeld aan de persoon als aan de ruimte)
- registratiegegevens van beroepen (job classification), bedrijven of vakbondslieden
- schatting op grond van uitstoot- of verbruiksgegevens
- interviews/enquêtes bij werknemers resp. bij chefs van afdelingen.

Wetenschappelijk gezien verdient de meest kwantitatieve benadering de voorkeur. Praktisch kleven daar bezwaren aan (tijd- en geldrovend). Bij retrospectief onderzoek is de keuze vaak beperkt tot schatten of navragen. Meetgegevens zijn meestal niet aanwezig.

Kwalitatieve gegevens zijn vaak specifiek en incompleet. Dat kan leiden tot misclassificatie. Bovendien kunnen er validiteitsproblemen optreden: als er nadelige effecten zijn opgetreden is het goed denkbaar dat de blootstelling hoger geschat wordt dan wanneer er geen effecten optreden. In zo'n geval is een combinatie van gegevensverzameling gewenst, b.v. zowel

meten ("personal air sampling" en "environmental monitoring") als navragen (interviews/enquêtes).

Naast de wijze van gegevensverzameling dient de vraag gesteld te worden welke blootstelling van belang is, hoe de dosis bepaald moet worden en of het tijdstip van blootstelling ten opzichte van de conceptie van belang is. Men moet rekening houden met de mogelijkheid van een model zowel voor wat betreft kortdurende als langdurende blootstelling.

Gegevens over de effecten kunnen verkregen worden door:

- medisch onderzoek
- registratiegegevens
- interviews of enquêtes.

Bij het maken van een keuze voor een of meer van deze methoden gelden soortelijke overwegingen als bij gegevensverzameling over expositie. Speciale aandacht verdient de mogelijkheid van bias, vertekening van effect, met name bij de onderzoeker. Indien de onderzoeker weet wie blootgesteld is geweest en wie niet zal hij/zij bij de blootgestelde meer doorvragen of meer doorzoeken naar een effect bij de onderzochte of bij diens nageslacht.

Naast de wijze van gegevensverzameling is het van belang af te bakenen welke effecten/parameters worden onderzocht en hoe het effect gedefinieerd is (b.v. tot welk tijdstip in de zwangerschap wordt gesproken van spontane abortus, wanneer van praematuriteit en wanneer van perinatale sterfte).

Gegevens over confounders zullen veelal met behulp van een enquête worden verzameld. Het is van belang vóór de gegevensverzameling vast te stellen welke confounders van belang kunnen zijn op grond van de beschikbare kennis.

De verzameling van deze gegevens kan dan gelijk plaatsvinden met die over expositie en effect. Te vaak worden achteraf alsnog gegevens verzameld om een confounder te toetsen. Zelfs worden die gegevens in voorkomende gevallen niet meer verzameld, waardoor een mogelijke confounder als zodanig blijft bestaan en de zeggingskracht van de studie beperkt is.

### 3.2.5 Weergave resultaten en discussie

Bij het weergeven van de resultaten dient de sterkte van de associatie te worden aangegeven (RR, OR, correlatiecoëfficiënt) alsmede de gebruikte

statistische toets, de mate van betrouwbaarheid van de uitspraak (de significantie) en de spreiding in effect.

Vervolgens dient besproken te worden:

- welke mogelijke confounders echte confounders gebleken zijn, welke niet en welke nog nader onderzoek behoeven.
- wat het niet-vinden van een associatie inhoudt. Daarvoor zijn de aantallen proefpersonen van belang.
- in hoeverre een dosis-effect relatie is waargenomen. Algemeen wordt aangenomen dat naarmate de dosis groter is, het effect ook groter zal zijn. Als een dosis-effect relatie wordt gevonden binnen één onderzoek spreekt men van interne consistentie. Bij het niet-vinden van een interne consistentie of zelfs een omkering van de associatie bij hogere blootstelling behoeft dit niet altijd te betekenen dat sprake is van interne inconsistentie (b.v. de frequentie doodgeboortes neemt af bij hogere blootstelling; de frequentie miskramen neemt echter sterk toe).
- in hoeverre de bevindingen overeenstemmen met onderzoeken beschreven in de literatuur, de z.g. externe consistentie. Overigens is in veel gevallen externe consistentie niet te toetsen omdat de beschikbare onderzoeken dusdanig verschillen qua opzet en qua blootstelling dat ze vanzelfsprekend verschillende resultaten opleveren.

Samenvattend dient een goed epidemiologisch onderzoek aan de volgende criteria te voldoen:

- een duidelijke vraagstelling
- een theoretisch concept op basis van de stand van kennis (zowel bij de mens als bij de dieren) en daaruit voortvloeiend toetsbare hypothesen
- zorgvuldige selectie van proefpersonen, rekening houdend met misclassificatie
- vergelijkbare onderzoeksgroep ten opzichte van controlegroep; in rekening brengen van mogelijk versturende factoren (representativiteit)
- zorgvuldige afwegingen ten aanzien van gegevensverzameling over exposities, effecten en confounders (betrouwbaarheid/validiteit)
- duidelijke weergave van de resultaten, inclusief spreiding en statistische significantie; betekenis van de (niet-) gevonden associatie
- bespreking van de interne (in-)consistentie
- bespreking van de externe (in-)consistentie
- vergelijking van de bevindingen met de gegevens uit dierexperimenteel onderzoek.



### 3.3 Dierexperimenteel onderzoek

Het doel van reproductietoxiciteitsonderzoek is het opsporen van stoffen die structurele en/of functionele ontwikkelingsstoornissen kunnen veroorzaken of de incidentie hiervan kunnen doen toenemen. De methoden van dierexperimenteel onderzoek dienen dan ook zodanig gekozen te zijn dat zij met betrekking tot het optreden van ontwikkelingsstoornissen een duidelijk voorspellende waarde hebben (Kolber et al., 1983). Aangezien duur en concentratie van de blootstelling sterk afhankelijk zijn van de aard en toepassing van de te onderzoeken stof, ligt het voor de hand dat de aard van het onderzoeksprogramma dient te zijn afgesteld op de praktijksituatie. In het algemeen geldt dat bij proefdieronderzoek de wijze en de duur van blootstelling zoveel mogelijk gelijk moeten zijn aan die waarop de mens gewoonlijk is blootgesteld.

Alvorens een stof door middel van dierexperimenten te onderzoeken op schadelijke effecten op voortplanting en nageslacht, dient eerst informatie te worden ingewonnen over reeds bekende biologische en andere relevante eigenschappen. Op grond van deze kennis kan worden besloten in hoeverre reproductietoxiciteitsonderzoek noodzakelijk of gewenst is.

De volgende factoren spelen hierbij een rol:

- aanwijzingen voor effecten op de voortplanting bij de mens;
- aanwijzingen voor effecten op de voortplanting bij via het milieu blootgestelde dieren;
- bij lage doses, die maar weinig de geaccepteerde dosis overschrijden, is toxiciteit bij volwassenen aangetoond;
- de waarschijnlijkheid dat een groot aantal mensen in de vruchtbare leeftijd zal worden blootgesteld;
- aanwijzingen voor bioaccumulatie;
- het bestaan van onvrijwillige blootstelling.

Deze aanpak geldt echter alleen voor stoffen die reeds in gebruik zijn of in het milieu terecht zijn gekomen, voordat adequaat toxiciteitsonderzoek was ontwikkeld en voorgeschreven. Nieuwe stoffen dienen echter afhankelijk van de productieomvang en de toepassing alle te worden onderzocht op hun toxische werking.

### 3.3.1 Proefdierkeuze

De proefdieren voor reproductietoxiciteitsonderzoek worden in het algemeen meer gekozen om praktische en economische redenen zoals een korte levensduur en een gemakkelijke verzorging dan vanwege overeenkomsten met de mens. Als gevolg hiervan wordt meestal de rat gebruikt voor toxiciteitsonderzoek. De resultaten ervan vormen de basis voor onderzoek naar de embryotoxische eigenschappen van stoffen. Met thalidomide als beste voorbeeld is aangetoond dat dergelijke onderzoeken onvoldoende kunnen zijn, omdat de rat en ook andere proefdieren anders op stoffen kunnen reageren dan de mens en het al of niet optreden van voortplantingseffecten niet zonder meer kan worden geëxtrapolerd naar de mens. De doelmatigheid van een dierexperiment kan verbeterd worden als er kennis bestaat over het werkingsmechanisme van de te onderzoeken stof in meerdere diersoorten, en het liefst ook bij de mens. In een dergelijke situatie zou het meest geschikte proefdier kunnen worden geselecteerd, waardoor een betere extrapolatie van resultaten van het dierexperiment naar de mens mogelijk zou zijn. Wanneer deze kennis niet bestaat zal de huidige regelgeving moeten worden gevolgd waarin het testen in 2 diersoorten wordt aanbevolen waarvan één een andere dan het knaagdier. Daarbij zou men zich ten aanzien van reproductietoxiciteitsonderzoek dienen te beperken tot die diersoorten, waarvan uitvoerige achtergrondinformatie met betrekking tot spontane afwijkingen en ziektes (achtergrondpathologie) alsmede detoxificatiesystemen bestudeerd zijn. Indien de beperkingen van het gekozen proefdiermodel voldoende bekend zijn, kan er bij extrapolatie rekening mee worden gehouden. De keuze van een knaagdiersoort en een niet-knaagdiersoort lijkt dan ook terecht.

### 3.3.2 Oriënterende dierproeven

Standaardonderzoeken met proefdieren zijn vrij kostbaar. Het is dan ook uitermate belangrijk om over kortdurende methoden te beschikken waarmee stoffen snel en betrouwbaar kunnen worden gescreend. Dergelijke kortdurende testen kunnen als vooronderzoek op een uitgebreidere studie worden beschouwd, maar zij kunnen ook worden gebruikt als een efficiënt instrument voor het opsporen van stoffen die de grootste kans geven op vruchtbeschadiging. Voor welk van beide doelen de testen ook worden gebruikt, ze dienen aan bepaalde voorwaarden te voldoen: ze moeten snel en relatief goedkoop zijn; ze moeten reproduceerbaar zijn zowel binnen één laboratorium als tussen verschillende laboratoria; de uitkomsten moeten gemakkelijk te meten zijn, het aantal fout-negatieven dient minimaal te zijn. Bovendien bevat

het ideale testsysteem zoveel mogelijk aspecten van de reproductiecyclus. Met kortdurende testen die getoetst zijn op hun validiteit, kunnen de potentiële risico's van stoffen worden voorspeld. Vandaar dat deze bijzonder geschikt zijn om aan te geven welk vervolgonderzoek met voorrang moet worden uitgevoerd (Gezondheidsraad, 1985).

De huidige diermodellen voor oriënterend onderzoek zijn, voor zover gebruik wordt gemaakt van zoogdieren, qua opzet gelijk aan de conventionele proefdiermodellen ten behoeve van risicoschatting (zie verder).

De belangrijkste aanpassingen zijn:

- a. een beperkt aantal proefdieren per doseringsgroep, doorgaans 5 tot 8;
- b. aanpassing van het aantal doseringsgroepen.

Het aantal doseringsgroepen zal sterk afhangen van de reeds aanwezige kennis van de toxiciteit van de te onderzoeken stof. In voorkomende gevallen zal het aantal doseringsgroepen beperkt kunnen blijven tot twee, terwijl in andere gevallen juist een groot aantal doseringsgroepen noodzakelijk is om een goede schatting te maken van de reproductie-toxiciteit. In de conventionele dierproef is daarentegen het gebruik van één controle en drie doseringsgroepen standaard; gestreefd wordt naar één doseringsgroep waarin geen effecten optreden (no adverse-effect level = NAEL) en één doseringsgroep waarin in ieder geval een ongewenst effect in het ouderdier optreedt.

- c. beperking van het aantal parameters.

Ook hier is de keuze afhankelijk van de voorkennis van de toxiciteit van de stof.

Naast zoogdiermodellen voor oriënterend onderzoek zijn meerdere screeningsmethoden ontwikkeld waarbij gebruik wordt gemaakt van lagere diersoorten. De bruikbaarheid van deze modellen is vanwege de vele tekortkomingen nog zeer beperkt.

### 3.3.3 Studies ten behoeve van risicoschatting

Vóór 1960 waren reproductietoxiciteitsstudies nauwelijks ontwikkeld; de enig beschikbare test was de zogenaamde multigeneratie studie waarin ratten gedurende meerdere generaties worden blootgesteld aan de te onderzoeken stof. Parameters waren vruchtbaarheid en overleving. Naar aanleiding van de thalidomidetragedie verschenen ten behoeve van de risicoschatting van geneesmiddelen voor de mens voor het eerst richtlijnen voor reproductie-studies, die ook teratogeniteitsstudies omvatten (WHO, 1967). Tegenwoordig

eisen de meeste landen uitgebreide informatie over de potentiële reproductietoxische werking van geneesmiddelen voordat deze op de markt mogen worden gebracht. Ook nieuwe voedseladditieven en tot op zekere hoogte industriële chemicaliën (Wet Milieugevaarlijke Stoffen, Staatsblad 1985, 639) dienen te worden onderzocht op hun reproductietoxische werking voordat ze mogen worden toegepast.

In de loop van de tijd zijn een aantal internationaal erkende proefopzetten ontwikkeld, die behalve intra-uteriene groei en ontwikkeling (embryo- en foetogenese) ook de functie van de gonaden, het paargedrag, de implantatie, de partus (baring) en de lactatie omvatten.

Met betrekking tot teratogene stoffen blijkt bij proefdieren de dosis-responscurve gewoonlijk sterk te stijgen voorbij de laagste doses waarbij de eerste effecten werden waargenomen (Council en Environmental Quality, 1981). Dit empirische gegeven wordt gebruikt als argument voor de opvatting dat in dieren gewoonlijk grenswaarden bestaan voor teratogene stoffen. Het is echter niet duidelijk of deze veronderstelling over grenswaarden zonder meer kan worden toegepast op de mens. Er is meer onderzoek nodig zowel om de kenmerken van de dosis-responsrelaties in mensen te bepalen als om vast te stellen onder welke omstandigheden kan worden verondersteld dat grenswaarden bestaan. Dergelijke informatie is noodzakelijk als het gaat om risico-evaluatie van doseringen die lager zijn dan de dosis waarbij effect optreedt en om de veilige of aanvaardbare niveaus van blootstelling te schatten (Gezondheidsraad, 1985).

Internationaal erkende proefdierstudies ten behoeve van risicoschatting voor wat betreft de fertiliteit, voortplanting en nageslacht zijn uitvoerig beschreven in internationaal aanvaardbare richtlijnen (OECD, 1981; EC, 1986) en in nationale richtlijnen met een brede internationale toepassing (US FDA, 1982; US EPA, 1985). De relevantie van de huidige studies werd uitgebreid besproken door de WHO (WHO, 1984), door het European Chemical Industry Ecology and Toxicity Centre (ECETOC, 1983) en door deskundigen (Palmer, 1981; Wilson, 1979). De volgende samenvatting van de meest gangbare testen werd in een enigszins andere vorm reeds door de Gezondheidsraad beschreven (Gezondheidsraad, 1985).

Studies met betrekking tot vruchtbaarheid en voortplantingsvermogen - Segment 1 studies

In segment 1 studies wordt de te onderzoeken stof toegediend aan proefdieren (ratten of muizen) van één of beide geslachten zowel voor als tijdens de paringsperiode; bij vrouwelijke dieren wordt de toediening voortgezet gedurende de pre-implantatieperiode of zelfs tot en met de lactatieperiode (figuur 3). De nakomelingen kunnen worden grootgebracht en invloeden op de late ontwikkeling als ook op gedrag en op het voortplantingsvermogen kunnen worden bestudeerd. In een korte versie van de studie worden de vrouwelijke dieren halverwege de dracht gedood en onderzocht op parameters zoals het aantal corpora lutea, het aantal levende en dode embryo's en het aantal resorpties. Deze parameters omvatten voornamelijk de gametogenese, het ovumtransport, de implantatie en de intra-uteriene homeostase en kunnen als zodanig aanwijzingen geven voor teratogeniteit.

De duur van de blootstelling is afhankelijk van de fysiologische duur van de hierboven genoemde criteria. Bij de ratten is bijvoorbeeld een behandelingsperiode van de mannelijke dieren van ongeveer 74 dagen noodzakelijk om alle stadia van de spermatogenese en de rijping in de epididymis te omvatten (Clermont, 1972; Peters en Oud, 1977); terwijl voor het vrouwelijk dier twee weken van voorbehandeling nodig zijn om twee of meer oestruscycli te omvatten.

Embryotoxiciteits- en teratogeniteitsstudies - Segment 2 studies

De embryotoxiciteits/teratogeniteitsstudies, of segment 2 studies, worden gewoonlijk bij twee diersoorten gedaan, waarvan één niet tot de knaagdieren behoort. In de regel wordt de te onderzoeken stof toegediend aan drachtige dieren gedurende de periode van organogenese, een tijd die als zeer gevoelig wordt beschouwd ten aanzien van het veroorzaken van structurele ontwikkelingsstoornissen. Bij ratten en muizen omvat deze periode de zesde tot en met de vijftiende dag, bij konijnen de zesde tot en met de achttiende dag (figuur 4). De dieren worden net voor de partus gedood om te voorkomen dat afwijkende en/of dode nakomelingen door kannibalisme voor nader onderzoek verloren gaan. Na de keizersnede worden foetussen onderzocht op externe en interne afwijkingen. Interne afwijkingen kunnen worden opgespoord zowel door onderzoek van het geprepareerde skelet als door onderzoek van de zachte weefsels volgens Wilson's "hand section technique" (Wilson, 1965, 1973).

### Peri- en postnatale studies - Segment 3 studies

Na de thalidomide-tragedie groeide de overtuiging dat de werkwijze volgens de segment 2 studie niet de mogelijkheid omvatte om functionele stoornissen of afwijkingen welke pas zichtbaar worden in de postnatale periode op te sporen. Dit leidde tot het ontwerp van segment 3 studies (figuur 5). In deze studies, waarvoor gewoonlijk ratten of muizen worden gebruikt, wordt de stof aan de vrouwelijke dieren toegediend vanaf de 14e of 15e dag gedurende het laatste deel van de dracht, gedurende de partus en de lactatieperiode tot aan het spenen. Als de nakomelingen op speenleeftijd zijn worden de ouderdieren en de nakomelingen gedood en onderzocht op afwijkingen. Hierbij kunnen twee klassen van afwijkingen worden onderscheiden:

- a. afwijkingen die veroorzaakt worden gedurende de dracht en opgemerkt worden ofwel aan het eind van de dracht of in de neonatale periode;
- b. afwijkingen die veroorzaakt en ontdekt worden gedurende de neonatale periode (bijvoorbeeld door het moederdier bloot te stellen aan stoffen die worden uitgescheiden in de moedermelk en zodoende aan de nakomelingen worden toegediend).

Het is echter vaak onmogelijk om dit onderscheid op basis van resultaten van de segment 3 studie alleen te maken.

Vaak worden de verschillende segment-studies dan ook in meerdere variaties uitgevoerd zoals: groepen met beperkte blootstelling naast groepen met langduriger blootstelling of blootstelling van één van de beide sexen. Ook is zeer gebruikelijk dat de verschillende segment-studies in één experiment worden gecombineerd (figuur 6). In de gecombineerde studies wordt de datum van de sectie van de helft van het aantal vrouwelijke dieren verplaatst van halverwege de dracht naar de eenentwintigste dag voor ratten of de achttiende dag voor muizen. De foetussen worden verkregen via de keizersnede en behandeld als in segment 2 studies. De overige dieren worden in staat gesteld om op natuurlijke wijze te werpen en brengen de nakomelingen groot tot de speenleeftijd. Daarna worden de ouderdieren en de jongen gedood met uitzondering van die geselecteerde  $F_1$  dieren welke voor mogelijke vervolgstudies gebruikt kunnen worden. Hoe logisch deze combinatiestudies vanuit praktisch oogpunt ook lijken, er is ook enig gevaar aan verbonden. Bij continue blootstelling kunnen potentiële nadelige effecten van de te onderzoeken stof minder uitgesproken zijn door bijvoorbeeld de aanpassing door bepaalde enzyminducties in de moeder. Dit geldt voornamelijk voor het testen van geneesmiddelen.

Sommige voedseladditieven, zoals bijvoorbeeld polyolen, vereisen juist een bepaalde adaptatieperiode voordat de dieren in staat zijn de stof te absorberen en te metaboliseren. Van andere stoffen kan worden verwacht dat enige tijd nodig is om een schadelijk niveau te bereiken. Continue blootstelling kan ook voortijdige embryonale dood veroorzaken waardoor afwijkingen die door blootstelling op een later moment zouden zijn ontstaan verborgen kunnen blijven.

### Multigeneratie studies

Er is aangetoond dat sommige chemisch geïnduceerde veranderingen in pasgeborenen overgebracht kunnen worden op de volgende generatie. In dergelijke gevallen is soms sprake van mutaties maar ook kunnen veranderingen zijn opgetreden in de endocriene, metabole of immunologische status of in ontwikkelingsdeterminanten in het cytoplasma van de kiemcellen. Om dergelijke effecten te kunnen ontdekken dienen multigeneratiestudies te worden uitgevoerd. In deze studies, die in het bijzonder worden toegepast ten behoeve van de risicoschatting van pesticiden, voedseladditieven en nieuwe voedingsmiddelen, worden een aantal mannelijke en vrouwelijke dieren vanaf speenleeftijd tot aan de paring gedurende 10 tot 12 weken voortdurend blootgesteld. De blootstelling wordt voortgezet tijdens de paringsperiode van twee weken, de dracht en de lactatieperiode. Bij het spenen van de  $F_1$  generatie wordt een aantal mannelijke en vrouwelijke dieren geselecteerd voor het voortbrengen van de volgende generaties. De werkwijze is dan dezelfde als omschreven voor de oudergeneratie. Na het spenen van hun jongen worden de ouderdieren gedood en onderzocht op afwijkingen. Tevens wordt een aantal parameters m.b.t. voortplantingsorganen bepaald (figuur 7). Het nut van multigeneratiestudies wordt algemeen aanvaard (FDA, 1970; National Academy of Science, 1970). De beoordeling van de ouderdieren geeft specifieke informatie over fertiliteit en dracht, de eerste generatie levert informatie over intra-uteriene blootstelling, lactatie en ontwikkeling, groei en tot wasdom komen van de nakomelingen. De reproductie-karakteristieken van de eerste generatie leveren aanwijzingen voor mogelijke accumulatie van een potentieel toxische stof, omdat deze dieren vanaf de conceptie zijn blootgesteld. Aan de groei en andere kenmerken van de  $F_2$  generatie kunnen de effecten van ophoping en mogelijke verandering van genen ook worden opgemerkt, omdat de ouders van de  $F_2$  generatie vanaf conceptie tot en met het volwassen worden zijn blootgesteld (Collins, 1978).

### 3.3.4 Studies gericht op specifieke aspecten

#### Fertiliteitsstudies

Met betrekking tot de mannelijke fertiliteit zijn een aantal in vitro en in vivo technieken ontwikkeld, waarvan er echter nog geen zijn opgenomen in internationale richtlijnen voor toxicologisch onderzoek.

De meest gebruikelijke test is de zogenaamde "sperm head abnormality test" (SHA-test). Dieren worden gedurende enige tijd (duur van de spermatogenese) blootgesteld aan de te testen stof. Vervolgens worden de dieren gedood (rat, muis) en worden spermatiden uit de epididymis gewonnen. Deze worden beoordeeld op aantal, morfologie, motiliteit en vitaliteit. Als het konijn als proefdier wordt gebruikt behoeven de dieren niet te worden gedood. Via fantoom-copulatie wordt sperma gewonnen. Naast de eerdergenoemde parameters wordt ook de viscositeit en pH van het ejaculaat bepaald.

Voor het bestuderen van de vrouwelijke fertiliteit kan met behulp van vaginaal uitstrijk de oestruscyclus worden beoordeeld. Ovulatie wordt vastgesteld aan de hand van hormoonspiegels in het bloed en uitwassing van het oviduct (aanwezigheid van ova).

#### Functionele ontwikkelingsstoornissen

Behalve uit morfologische afwijkingen kunnen voortplantingseffecten ook bestaan uit functionele afwijkingen die onopgemerkt kunnen blijven tot laat na de geboorte. Voorbeelden hiervan zijn gedragsveranderingen, biochemische stoornissen en afwijkende ontwikkeling en werking van het immuunsysteem. Een extreem voorbeeld van een verborgen teratogeen effect is transplacentale carcinogenese. De blootstelling aan carcinogene stoffen voor de geboorte wordt zeer waarschijnlijk pas ontdekt op volwassen leeftijd. Een voorbeeld van transplacentale carcinogenese is DES.

Met betrekking tot gedragsteratologische studies zijn er twee verschillende benaderingen te onderscheiden. Allereerst de zogenaamde "apical test strategy" (Grant, 1976; Butcher, 1976). Deze strategie is gebaseerd op de veronderstelling dat als met een bepaalde gedragstest die verschillende functies omvat, geen effecten zijn gevonden, alle functies normaal zijn. Anderzijds wordt er verondersteld dat als een of meer van de functies, vereist om de test uit te voeren, tekort schiet, dan ook de uiteindelijke prestatie van het proefdier niet voldoende zal zijn (Vorhees en Butcher, 1982). Deze benadering heeft als nadeel dat er nog onvoldoende bekend is



omtrent de eventuele mogelijkheid van proefdieren om te compenseren voor bepaalde tekorten waardoor toch de uiteindelijke prestatie voldoende zal zijn. Ook is nu nog niet duidelijk in welke mate een functie moet zijn aangetast om bepaalde gedragingen te veranderen.

De tweede benadering, en tot nu toe de meest adequate werkwijze voor het opsporen van een verband tussen veranderd gedrag en prenataal geïnduceerde afwijkingen in het centraal zenuwstelsel, is de toepassing van een testsysteem dat behalve een lange blootstellingsperiode een serie van testen omvat die een breed scala van functies van het centrale zenuwstelsel bestrijken (Adams en Buelke-Sam, 1981).

In het algemeen moet een dergelijk screeningssysteem informatie geven over zowel de vroege neurologische, fysieke en gedragsontwikkeling, als over volwassen gedrag. In de eerste testfase moet informatie worden verzameld over de reflexontwikkeling en de sensoro-motorische ontwikkeling. Bij het volwassen dier dienen leer- en probleemoplossingsgedrag te worden gemeten, motivatie en emotionaliteit, motorische vaardigheden, seksueel gedrag en voortplantingsvermogen. Een samenvatting van geselecteerde gedragstesten werd gegeven door Rodier (1978), Adams et al. (1985), Koëter (1983) en de Gezondheidsraad (1985).

### 3.3.5 Voorwaarden waaraan dierproeven dienen te voldoen

Evenals het epidemiologisch onderzoek dient ook het dierexperimenteel onderzoek aan een aantal voorwaarden te voldoen.

#### Algemeen

De meest elementaire informatie welke altijd gerapporteerd dient te worden betreft de naam (namen) van de onderzoeker(s)/auteur(s), het instituut en het land waar het onderzoek werd uitgevoerd, alsmede de aanvangsdatum en duur van het onderzoek. Ofschoon de eerste twee aspecten doorgaans wel vermeld worden, ontbreekt in vele gevallen de informatie omtrent het jaartal van onderzoek.

Vervolgens dient een duidelijke doelstelling en motivatie van het onderzoek te worden verstrekt. Voor onderzoek dat wordt uitgevoerd volgens (inter) nationaal geaccepteerde richtlijnen dient hier duidelijk naar te worden verwezen.

### Zuiverheid proefstof

Van de proefstof dient in ieder geval de zuiverheid van de batch waarmee het onderzoek werd uitgevoerd, bekend te zijn. Daarnaast zal, afhankelijk van de toedieningsweg het gedrag van de proefstof tijdens de blootstelling zo goed mogelijk vervolgd dienen te worden. Informatie over stabiliteit en homogene verdeling in de dragerstof (zoals voer of verdunningsvloeistoffen) zijn onontbeerlijk.

### Behandeling

De duur van de behandeling en de toedieningsroute dienen eenduidig te worden beschreven. Ook dient duidelijk te zijn in hoeverre blootstelling plaats vond tijdens de drachtigheid. Nauwkeurige vaststelling van de aanvang van de dracht (per dier) is hiervoor een vereiste. Ten aanzien van de dosering in ieder van de proefgroepen is het niet alleen van belang aan te geven welke dosering aan de dieren werd aangeboden (ppm's in het voer) maar tevens wat de werkelijke inname was (mg/kg lichaamsgewicht, berekend aan de hand van voedselopname).

### Proefopzet

Bij het aangeven van de proefopzet dient afgezien van het hierboven genoemde, in ieder geval te worden vermeld:

- diersoort
- aantal groepen en behandeling
- aantal dieren per groep bij aanvang van de studie
- aantal drachtige dieren per groep; aantal nesten
- huisvestingscondities en zoötechnische aspecten

Bij het beschrijven van de studieresultaten dienen in ieder geval exacte waarden te worden vermeld in plaats van of in aanvulling op relatieve waarden (zoals: "verhoogd" of "verlaagd"). Bovendien dienen naast de beschrijving van effecten op nakomelingen tevens effecten op ouderdieren te worden vermeld. Beide aspecten dienen dan ook bij de interpretatie van de resultaten te worden besproken.

### 3.4 Relevantie van dierproeven bij het vaststellen van risico's met betrekking tot voortplanting en nageslacht bij de mens

#### 3.4.1 Algemeen

Het reproductietoxiciteitsonderzoek met proefdieren zou antwoord dienen te geven op de volgende vragen:

- is de stof in staat een schadelijk effect ten aanzien van de voortplanting te veroorzaken;
- wat is de aard van het schadelijk effect;
- bij welke dosis (concentratie) treedt het schadelijk effect op;
- hoe komt het schadelijk effect tot stand.

In de meeste gevallen echter geeft het standaardonderzoek slechts antwoord op de eerste 2 vragen. Ofschoon de op deze wijze verkregen kwalitatieve en kwantitatieve informatie van groot belang is als basis voor de evaluatie van het risico voor de mens (Hart en Fishbein, 1985), dient voor de nog aanwezige onzekerheden gecorrigeerd te worden. Een antwoord op de vraag hoe het toxisch effect tot stand komt (werkingsmechanisme) zal een duidelijke bijdrage leveren aan het verminderen van de onzekerheden bij extrapolatie. Omdat extrapolatie in feite het overbruggen van verschillen tussen proefdier en mens inhoudt zullen de verschillen logischerwijs de meeste aandacht krijgen. Als daardoor de indruk zou ontstaan dat dierproefgegevens van weinig betekenis zijn is dit bepaald onjuist. Resultaten van dierproeven vormen een belangrijk deel van het fundament en vaak zelfs het hele of nagenoeg het hele fundament waarop de schatting van het gezondheidsrisico voor de mens is gebouwd (Feron, 1986).

#### 3.4.2 Overeenstemmen van dierproefgegevens en humane gegevens

Analyse van dierproefgegevens en humane gegevens ten behoeve van het opsporen van overeenkomsten wordt sterk bemoeilijkt door het feit dat beide soorten van gegevens een zeer verschillende oorsprong hebben.

Proefdiergegevens zijn afkomstig van experimenten waarin de proefstof vaak in hoge doseringen wordt toegediend gedurende een beperkte periode van de dracht en waarna zorgvuldige bestudering van de nakomelingen plaatsvindt. Humane gegevens zijn vaak afkomstig van case-studies of epidemiologisch onderzoek onder vrouwen die in het algemeen gedurende een periode van veelal onbekende duur aan lage concentraties zijn blootgesteld. Ook vindt blootstelling doorgaans aan meerdere stoffen tegelijkertijd plaats.

Onder voorbehoud dat de aard van de beschikbare mens- en diergegevens duidelijk verschillend is kunnen deze toch onderling worden vergeleken. Uit een door de FDA uitgevoerde analyse (US.FDA, 1980) blijkt dat van 38, algemeen als humane teratogenen beschouwde stoffen er 37 ook ontwikkelingsstoornissen in een of meer diersoorten te zien gaven. Aan de andere kant bleek dat van de 165 stoffen, waarvan wordt aangenomen dat ze niet teratogeen zijn voor de mens, slechts 28% ook daadwerkelijk in alle geteste diersoorten (5) niet teratogeen waren. Toch is het voorbarig om op basis hiervan te concluderen dat dierproeven te vaak vals-positief zijn.

Inmers:

- de kans op detectie van een effect is in dierproeven aanzienlijk groter;
- het staat niet vast dat de stoffen waarvan nu wordt aangenomen dat ze niet teratogeen zijn voor de mens, dit ook daadwerkelijk niet zijn: effecten zijn voor zover bekend nog nooit opgespoord;
- een groot gedeelte van de humane embryo's (tot 70%) overleeft de vroege post-implantatiefase niet. De vroege abortussen, welke door exogene factoren kunnen optreden, worden vaak niet als zodanig erkend (Brown en Fabro, 1983).

Naast het kwalitatieve aspect, is het ook van belang om het kwantitatieve risico te evalueren. Uit een vergelijkend onderzoek van 14 stoffen waarvan wordt aangenomen dat humane teratogeniteit overtuigend is aangetoond werden de laagste effect-concentraties uit dierproeven vergeleken met de laagste effect-concentraties uit humane studies (Council on Environmental Quality, 1981; Brown en Fabro, 1983). Het bleek dat de mens in al die gevallen gevoeliger was dan het gevoeligste proefdier. Wel dient hierbij te worden opgemerkt dat het verschil niet in alle gevallen erg groot was (varierend van een factor 8 tot een factor 50). Bovendien bleek de gevoeligheid van de verschillende diersoorten ook zodanig te variëren dat in voorkomende gevallen de mens zelfs minder gevoelig bleek dan één of meer diersoorten. Ofschoon dit vergelijkend onderzoek suggereert dat dierproefgegevens en humane gegevens goed correleren, dient wel te worden opgemerkt dat slechts werd vergeleken in hoeverre teratogeniteit, vastgesteld in dierproeven overeenkwam met humane teratogeniteit.

Voor een vergelijking van minder drastische effecten op het gebied van de fertiliteit en de voortplanting lijkt een beter overeenstemmen van het studieprotocol van de dierproef (met inbegrip van de parameter-keuze) met

de te verwachten humane situatie onontbeerlijk. Zo zal het vaststellen in dierproeven van concentraties van de proefstof of zijn metabolieten in bloed en moedermelk nadrukkelijk kunnen bijdragen aan een betere vergelijkbaarheid met humane onderzoeksgegevens. Ook kan in meerdere gevallen de toedieningsroute en het blootstellingsniveau beter worden aangepast aan de humane situatie.

### 3.4.3 Speciesverschillen

Er zijn ten minste 3 oorzaken aanwijsbaar voor de verschillen in gevoeligheid zowel tussen de verschillende diersoorten onderling als tussen proefdier en mens (Brown en Fabro, 1983):

- verschillen in intrinsieke gevoeligheid van de reproductiesysteem;
- verschillen in bouwplan en "timing" van specifieke ontwikkelingsaspecten;
- verschillen in toxicokinetiek en metabolisme.

Speciesverschillen in de fysiologie en anatomie van de placentatie zijn uitvoerig beschreven. Aanvankelijk werd het verschil in gevoeligheid tussen species voor een belangrijk deel toegeschreven aan verschillen in de placentatie. Volgens de meer moderne opvattingen speelt het verschil in placentatie echter slechts een zeer beperkte rol vooropgesteld dat er sprake is van een zoogdierplacenta systeem. (Brown en Fabro, 1983; Schardein, 1985; Wilson, 1978). In het algemeen zullen kleinere, lipophile moleculen alle barrières van de zoogdierplacenta moeiteloos passeren. Bovendien valt de meest gevoelige periode van de ontwikkeling bij de meeste species samen met de periode waarin de placenta-barrière nog maar ten dele functioneert.

Het is aannemelijk dat verschillen in toxicokinetiek en metabolisme voor een zeer groot deel verantwoordelijk zijn voor de speciesverschillen. Voor meerdere stoffen is dit ook aangetoond, zoals voor polycyclische aromatische koolwaterstoffen (Sherm et al., 1979), thalidomide (Gordon et al., 1981) en 2,4,5-T (NCTR, 1981).

Met betrekking tot de keuze van de meest ideale diersoort(en) lopen de meningen ver uiteen. Door Wilson (1975) werden de karakteristieken van de ideale species als volgt samengevat:

- absorbeert, metaboliseert en elimineert iedere teststof op dezelfde wijze als de mens;
- teststoffen en hun metabolieten passeren de placenta-barrière als bij de mens;

- embryonale en foetale ontwikkelingspatronen komen overeen met die van de mens maar spelen zich af in een korte drachtigheidsperiode;
- heeft grote nesten en plant zich zonder problemen onder laboratorium-omstandigheden voort;
- goedkoop in huisvesting en voeding;
- bijt, krabt, huult en schreeuwt niet!

Aangezien deze diersoort niet bestaat, lijkt het beste compromis om tenminste 2 diersoorten te selecteren welke tesamen aan zoveel als mogelijk van de ideale karakteristieken voldoen. Ondanks de vele verschillen van mening over de ideale combinatie, lijken het konijn (Schardein, 1983) en een der knaagdiersoorten (rat of muis) (Tuchmann-Duplessis, 1972; ECETOC, 1983) de beste keuze.

### 3.5 Conclusies

Er is geen aanleiding om de huidige richtlijnen/protocollen voor reproductietoxiciteitstoetsen drastisch aan te passen. Voor een betere vergelijkbaarheid met humane onderzoeksmethoden lijkt het echter raadzaam om bestaande voorschriften in voorkomende gevallen uit te breiden met parameters zoals toegepast in de humane situatie bij biologische monitoring t.w. concentraties van de te testen stof in bloed, urine en moedermelk. Uit alle tot dusver uitgevoerde vergelijkende studies blijkt dat elke humaan teratogene stof ook in tenminste een der dierproeven tot effecten leidt. Er is echter een duidelijk verschil in gevoeligheid tussen species, terwijl de meest ideale proefdiersoort geschikt voor het testen van meerdere stoffen niet is aan te geven.

De keuze van de diersoort(en) en van de meest aangewezen testmethoden is sterk afhankelijk van de aard van de te testen stof en zijn praktische toepassing. Ook gegevens van algemene toxiciteitstesten en bij voorkeur informatie over toxicokinetiek en metabolisme spelen een belangrijke rol bij de keuze van testmethoden en species-selectie. In het advies van de Gezondheidsraad (1985) worden hieromtrent reeds enige suggesties gedaan. Meerdere stoffen die tot dusver niet worden geassocieerd met effecten op de voortplanting bij de mens, zijn in staat gebleken dergelijke effecten wel bij proefdieren te induceren. Bij het beoordelen van de relevantie van deze

proefdierresultaten dienen de volgende aspecten nadrukkelijk in beschouwing te worden genomen:

- de omstandigheden waaronder de effecten werden waargenomen (maternale toxiciteit, blootstellingsregime, doseringsroute);
- de aard en incidentie van de waargenomen effecten;
- het aantal species waarbij de effecten optraden;
- de aanwezigheid van een dosis-respons relatie;
- toxicokinetiek en metabolisme van de stof bij de verschillende diersoorten.

Slechts na een deskundige weging van deze factoren kan het risico voor de mens voor wat betreft voortplanting en nageslacht worden geëvalueerd. Anderzijds kan worden gesteld dat, indien een stof, getest in de meest geëigende diersoorten en onder condities welke relevant zijn voor de mens, geen enkele aanwijzing geeft voor mogelijke effecten op voortplanting en nageslacht, een dergelijke stof mag worden beschouwd als relatief veilig voor de mens (ECETOC, 1983). Toch zal ook in die gevallen een veiligheidsfactor dienen te worden toegepast ter ondervanging van variaties in gevoeligheid voor de stof binnen één diersoort en tussen diersoorten, en van onzekerheden in uitkomsten en interpretatie van toxiciteitsgegevens. Voor een meer inhoudelijke discussie over veiligheidsfactoren wordt verwezen naar de voordracht van Feron, gehouden tijdens het symposium "Risicoschatten" georganiseerd door de Gezondheidsraad in 1986 (Feron, 1987).

### 3.6 Literatuur

Adams, J.; J. Buelke-Sam (1981)

Behavioural assessment of the post-natal animal: testing and methods development.

In: Developmental Toxicology. New York: Raven Press 1981

Adams, J.; Buelke-Sam; C.A. Kimmel; J. Nelson; L.W. Reiter; T.J. Sobotka; H.A. Tilson en B.K. Nelson (1985)

Collaborative behavioural teratology study: protocol design and testing procedures.

Neurobeh. Toxicol. Teratol 7:579-586

Axelsson, O. (1985)

Epidemiologic methods in the study of spontaneous abortions; source of data, methods and sources of error. In: Occupational hazards and reproduction.

Ed. Hemisphere. Publ. Corp. Washington, New York, London

Basler, A.; B. Buselmaier; G. Rohrborn (1976)

Elimination of spontaneous and chemically induced chromosome aberrations in mice during early embryogenesis.

Hum. Genet. 33:121-130

Brown, N.A. en S. Fabro (1983)

The value of animal teratogenicity testing for predicting human risk.

Clin. Obst. Gyn. 26:467-477

Butcher, R.E. (1976)

Behavioural testing as a method for assessing risk.

Environm. Hlth. Perspect. 18:75-81

Clermont, Y. (1972)

Kinetics of spermatogenesis in mammals: semiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal.

Physiol. Rev. 52:198-236

Collins, T.F.X. (1978)

Multigeneration reproduction studies

In: Handbook of Teratology, Volume 4. New York: Plenum Press 1978

Council on Environmental Quality (1981)

Chemical hazards to human reproduction.

Washington D.C. USA

Dym, M.; H.G. Raj and H.E. Chemes (1977)

Response of the testes to selective withdrawal of LH and FSH using antigonadotropic sera.

In: The testis in Normal and Infertile Men. Raven Press, New York. P 97



EC (1986)

Bijlage V, Richtlijn 79-831 EEG

Deel B, Toxicologische methoden van bijlage VIII, Juli 1986

ECETOC (1983)

Identification and assessment of the effects of chemicals on reproduction and development.

ECETOC Monograph no. 5

Feron, V.J. (1986)

Toxiciteitsonderzoek bij proefdieren ter evaluatie van gezondheidsrisico's voor de mens: verworvenheden en beperkingen.

Voordracht tijdens symposium "Risico's Schatten", georganiseerd door de Gezondheidsraad, Delft, 6 maart 1986.

Food and Drug Administration (1970)

Advisory committee on Protocols for Safety Evaluations: Panel of Reproduction Report on Reproduction Studies in the Safety Evaluation of Food Additives and Pesticide Residues.

Toxicol. App. Pharmacol. 16:264

Gezondheidsraad (1985)

Advies inzake teratogeniteit van chemische stoffen

Gordon, G.B.; S.P. Spielberg; D.A. Blake en V. Balasubramanian (1981)

Thalidomide teratogenesis: evidence for a toxic arene oxide metabolite.

Proc. Natl. Acad. Sci., USA 4:25-45

Grant, L.D. (1976)

Research strategies for behavioural teratology studies

Environ. Hlth. Persp. 18:85-94

Hart, R.W. en L. Fishbein (1985)

Interspecies extrapolation of drug and genetic toxicity data.

In: Toxicological Risk Assessment, Vol. I, Biological and Statistical Criteria.

CRC Press Inc., Boca Raton, p. 3-40

Koëter, H.B.W.M. (1983)

Gedragsteratologie

TCDD 6:48-58

Kolber, A.R. et al. (1983)

In vitro toxicity testing of environmental agents. Current and future possibilities, part A: Survey of test systems. Plenum Publ. New York,; 555

Mattison, D.R. and S.S. Thorgeirsson (1978)

Gonadal aryl hydrocarbon hydroxylase in rats and mice.

Cancer Res. 38:1368-1373

National Academy of Science (1970)

Food Protection Committee; Evaluating the Safety of Food Chemicals.

National Academy of Sciences, Washington, D.C.; 55

NCTR (1981)

Extrapolation models in teratogenesis

NCTR Techn. Rep. for Experiment no. 281

OECD (1981)

Guidelines for testing of chemicals

Section 4: Health effects

Palmer, A.K. (1981)

Regulatory requirements for reproductive toxicology: Theory and practice.

In: Developmental toxicology pp. 259-288

Raven Press, New York

Peters, P.W.J., J.L. Oud (1977)

De tijdsduur van de spermatogenese bij de rat en bij de muis.

Volksgesondheid. Verslagen, adviezen, rapporten, no. 17:147-9

Rodier, P.M. (1978)

Behavioural Teratology

In: Handbook of Teratology, Vol. 4, pp. 397-428

Plenum Press, New York, USA

Schardein, J.L. (1983)

Teratogenic risk assessment, Past, present and future.

In: Issues and reviews in teratology. vol. 1, pp 181-214

Plenum Press. New York, USA

Schardein, J.L. (1985)

Principles of Teratogenesis applicable to human exposure to drugs and chemicals.

In: Chemically induced birth defects pp 1-46

Marcel Dekker Inc., New York, USA

Sheikh, K. (1987)

Choice of control population in studies of adverse reproductive effects of occupational exposures and its effect on risk estimates.

Br. J. Ind. Med. 44:244;249

Sherm, S.; N.M. Jensen en D.W. Nebert (1979)

The murine Ah locus: in utero toxicity and teratogenesis associated with genetic differences in benzo(a)pyrene metabolism

Teratology 20: 365

Stein, Z., J. Kline en M. Kharrazi

What is a teratogen, Epidemiological criteria.

In: Kalter, H. (editor)

Issues and reviews in teratology, vol. 2, Plenum Press, New York/London, 1984, 2:23;66

Tuchmann-Duplessis, H. (1972)

Teratogenic drug screening. Present procedures and requirements.

Teratology 5:271-286

US.EPA (1985)

Rules and Regulations: Part 798 - Health effects Testing guidelines

Fed. Reg. 50: 39397-39471

US.FDA (1980)

Caffeine: deletion of GRAS status, proposed declaration that no prior sanction exists and use on an citation basis pending additional study.  
Fed. Reg. 45:69817

US.FDA (1982)

Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives and color additives used in food.  
Bureau of Foods

Vorhees, C.V.; R.E. Butcher (1982)

Behavioural Teratogenicity.  
In: Development Toxicology. London: Croom Helm

WHO (1967)

Principles for the testing of drugs for teratogenicity.  
WHO Technical Report Series nr. 364

WHO (1984)

Principles for evaluating health risks to progeny associated with exposure to chemicals during pregnancy.  
WHO (Geneva) IPCS

Wilson, J.G. (1965)

Embryological considerations in teratology.  
In: Teratology, principles and techniques.  
Chicago: University of Chicago Press; chapter 10:251-77

Wilson, J.G. (1973)

Environment and Birth Defects. New York-London.  
Academic Press

Wilson, J.G. (1975)

Reproduction and teratogenesis: current methods and suggested improvements.  
J. Assoc. Off. Anal. Chem. 58: 657-667

Wilson, J.G. (1978)

Review of in vitro systems with potential for use in teratogenicity screening.

J. Environm. Path. Toxicol. 2:149-167

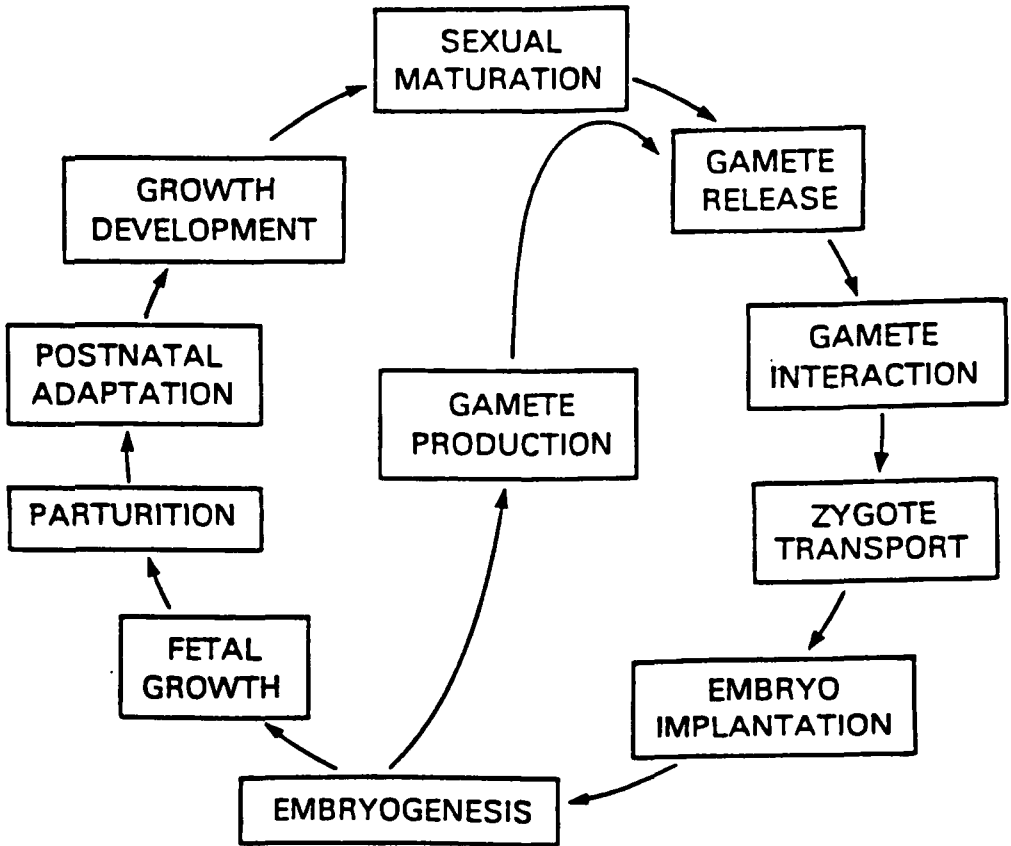
Wilson, J.G. (1979)

The evolution of teratological testing.

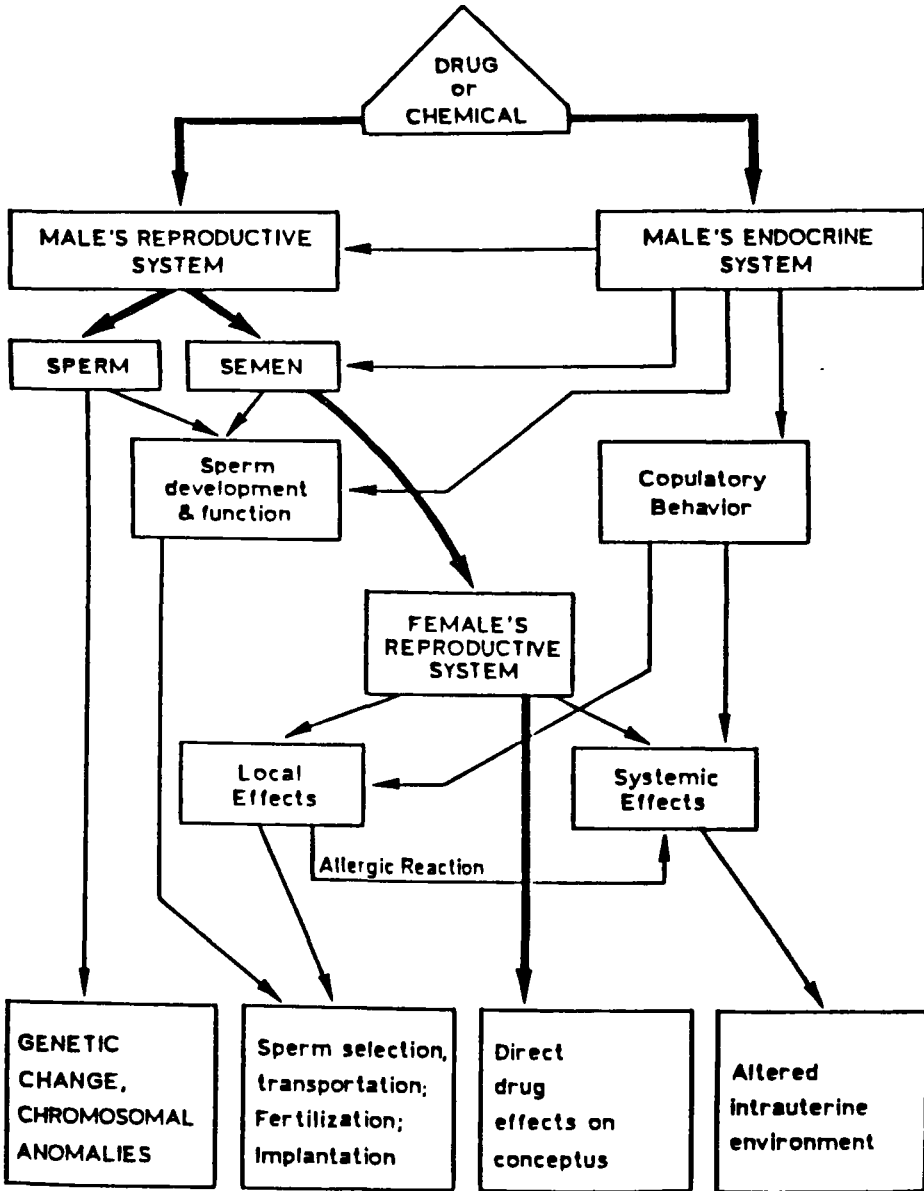
Teratology 20:205-12

FIGURE 1

## REPRODUCTIVE CYCLE

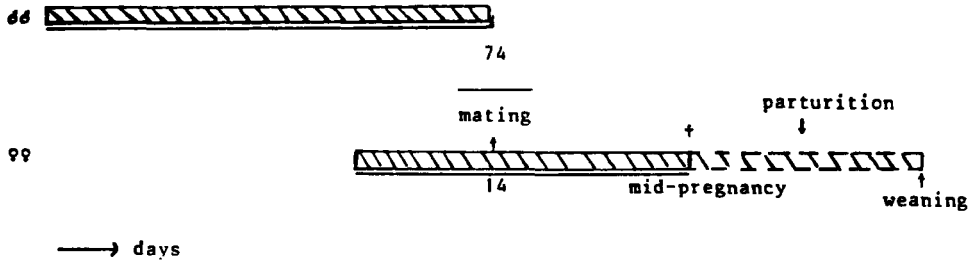


FIGUUR 2



FIGUUR 3

Fertility and General Reproduction Study  
Segment 1 study (rat)



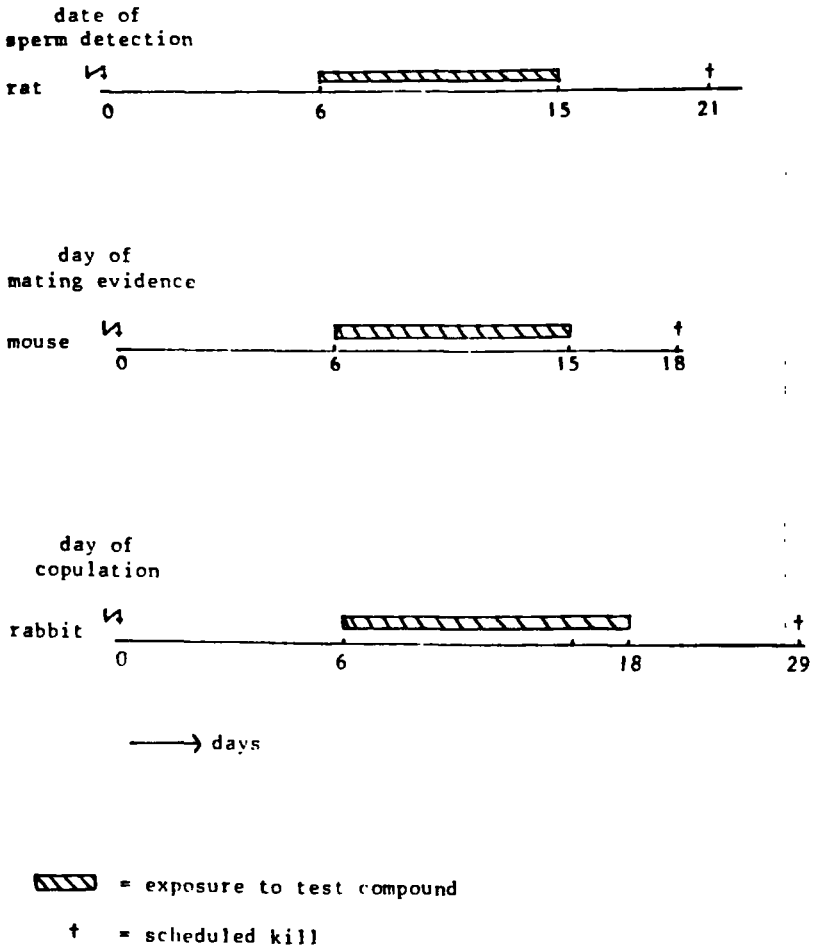
▨ = exposure to test compound

† = scheduled kill



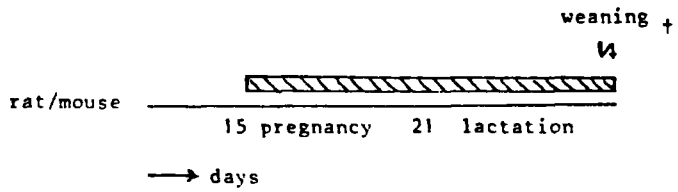
FIGUUR 4

Test for embryo toxicity and teratogenicity  
Segment 2 study



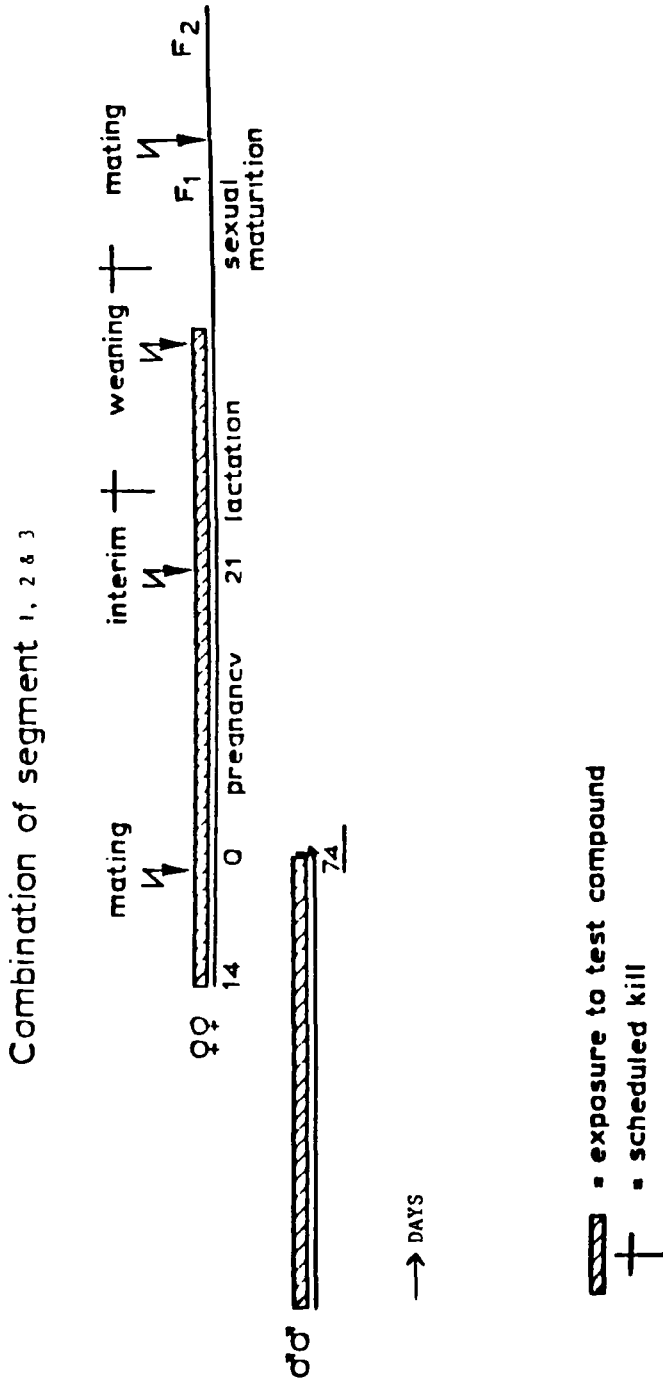
FIGUUR 5

Peri- and postnatal study  
Segment 3 study



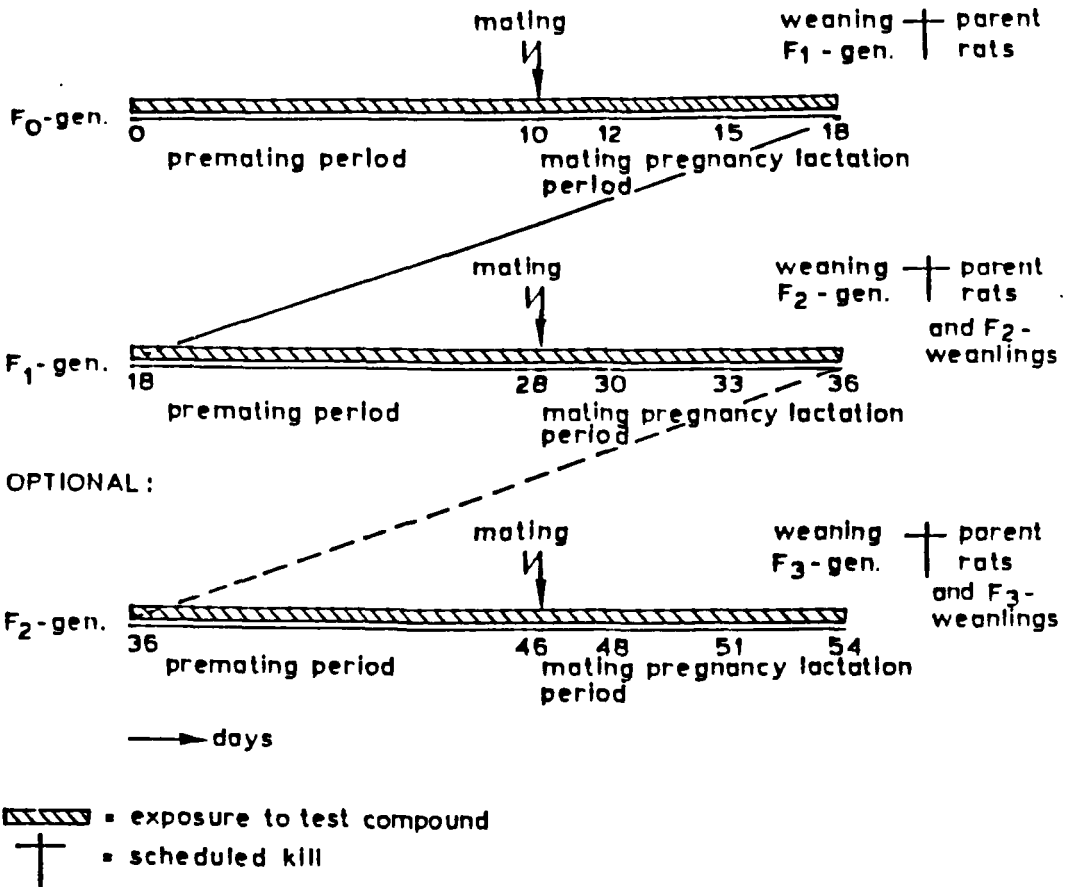
- ▨ = exposure to test compound
- † = scheduled kill

FIGUR 6



FIGUUR 7

### Multigeneration study



## Hoofdstuk 4: SAMENVATTING VAN SCHADELIJKE EFFECTEN VAN SPECIFIEKE STOFFEN OP VOORTPLANTING EN NAGESLACHT

### 4.1 Chloropreen

ISN 20644

#### 4.1.1 Inleiding

$\beta$ -chloropreen (2-chloro 1,3-butadien) is een vluchtige, kleurloze brandbare vloeistof die wordt gebruikt in de productie van synthetisch rubber (onder andere neopreen). Bij de productie ontstaan tussenproducten (butenen) en isomeren of dimeren die ten dele als verontreiniging in technisch chloropreen zijn terug te vinden. Van deze verbindingen wordt verondersteld dat deze vele malen toxischer zijn dan de zuivere stof. Bovendien is bekend dat  $\beta$ -chloropreen een zeer actieve verbinding is die bij kamertemperatuur spontaan kan polymeriseren. Om dit zoveel mogelijk tegen te gaan worden stabilisatoren toegevoegd. Bij de industriële polymerisatie in waterige oplossing die leidt tot polychloropreenlatex worden een aantal cyclische dimeren gevormd. De actuele blootstelling in Nederland is niet bekend.

In dit literatuuroverzicht wordt een aantal Russische studies beschreven die zijn uitgevoerd met  $\beta$ -chloropreen waarvan de zuiverheid niet bekend is. Het is mogelijk dat er aanzienlijke hoeveelheden reactieproducten kunnen zijn gevormd die de toxiciteit van de teststof hebben kunnen verhogen. De belangrijkste gevaren van chloropreen hangen samen met de inhalatie van de dampen en met huidcontact met de vloeistof.

De huidige MAC (1986) in Nederland bedraagt 36 mg/m<sup>3</sup> (10 ppm).

#### 4.1.2 Discussie dierproefgegevens

##### 4.1.2.1 Zuiverheid van de teststof

Bij de discussie over de toxiciteit van chloropreen speelt het probleem wat betreft de zuiverheid van de teststof een centrale rol. De verschillen in NAEL tussen oosteuropese en westerse studies zijn dermate groot dat welhaast aangenomen moet worden dat het uitgangsmateriaal niet vergelijkbaar is. Helaas ontbreken in de oosteuropese experimenten essentiële methodologische gegevens, zodat niet is na te gaan of de proefdieren al dan niet zijn blootgesteld aan toxische afbraakproducten van chloropreen. Wat

betreft de toxiciteit van de afbraakprodukten heeft Nystrom (1948) reeds aangetoond dat chloropreen dat enige dagen bij kamertemperatuur werd bewaard circa vier keer zo toxisch was als zuiver chloropreen (citaat Barlow en Sullivan, 1982).

Deze problematiek wordt nog gecompliceerder wanneer we de reële situatie op de werkplek als uitgangspunt nemen voor de evaluatie van het risico op de voortplanting. Er zal nadere informatie nodig zijn over de reproductie-toxicologie van afbraakprodukten van chloropreen en over de concentraties in de werksituatie.

#### 4.1.2.2 Soortspecificiteit

De meeste proeven zijn met ratten uitgevoerd, enkele met muizen. Er zijn te weinig gegevens om soortspecificiteit te kunnen herkennen.

#### 4.1.2.3 Effecten

Wat betreft de fertiliteit zijn er aanwijzingen dat bij mannelijke ratten sprake is van testis atrofie en effect op de spermatogenese, echter slechts aangetoond in Russische experimenten met waarschijnlijk onzuiver chloropreen. Ook dominant-letaaleffecten zijn alleen waargenomen in studies met chloropreen van onbekende zuiverheid. Embryoletaliteit, teratogeniteit en een nadelig effect op de post-natale groei en ontwikkeling werden waargenomen in Russische studies (dus met mogelijk onzuiver chloropreen). In studies met zuiver chloropreen werden geen teratogene effecten waargenomen, evenmin als embryotoxische effecten.

#### 4.1.2.4 $\beta$ -chloropreen in bloed, weefsels en melk

Geen gegevens bij proefdieren bekend.

#### 4.1.3 Conclusie dierproefgegevens

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van fertiliteit kan worden geconcludeerd dat op basis van de literatuur de NAEL voor fertiliteitseffecten in proefdieren is vast te stellen op tenminste 360 mg/m<sup>3</sup>, 6 uur per dag, 5 dagen per week (Appelman en Dreef-van der Meulen, 1979). Over risico's voor geslachtsorganen en endocrien systeem kan geen uitspraak worden gedaan bij gebrek aan adequate studies.

Met betrekking tot risico's bij blootstellen van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd dat teratogene effecten alleen in Russische literatuur zijn beschreven bij een dosering van 4 mg/m<sup>3</sup> gedurende enige dagen (4 uur/dag) tijdens de dracht. Bij lagere doseringen treedt embryonale sterfte op, wordt foetale gewichtsverlaging gezien en bij histopathologisch onderzoek worden weefselveranderingen gezien. Een dosering van 0.6 mg/m<sup>3</sup> induceert geen effecten, echter de zuiverheid van de teststof is niet bekend. In studies met zuiver chloropreen wordt bij 36 mg/m<sup>3</sup> en hoger een (discutabele) toename van het aantal resorpties gevonden en verlaagde of juist verhoogde foetgewichten bij doseringen van 90 mg/m<sup>3</sup> en hoger. De NAEL van zuiver chloropreen via inhalatie gegeven aan ratten kan worden vastgesteld op 36 mg/m<sup>3</sup> (diverse studies) voor "onzuiver" chloropreen op 0.6 mg/m<sup>3</sup> (Salnikova et al., 1973).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht wordt in Russische experimenten postnatale sterfte en groeivertraging waargenomen. De dosis waarbij geen effecten meer worden gezien bedraagt 0.056 mg/m<sup>3</sup>. Vanwege het ontbreken van relevante gegevens met betrekking tot de proefopzet en zuiverheid van de toegediende chloropreen wordt de waarde van deze experimenten als zeer betrekkelijk beschouwd.

Bij toediening van zuiver chloropreen wordt eveneens groeivertraging gezien. De NAEL kan vastgesteld worden op 36 mg/m<sup>3</sup>, 6 uur/dag, 5 dagen/week (Appelman en Dreef-van der Meulen, 1979).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit blijkt in Russische proeven (zuiverheid chloropreen niet bekend) testes atrofie en een effect op de spermatogenese op te treden bij concentraties van 0.15 mg/m<sup>3</sup> en daarboven. Bij een concentratie van 0.051 mg/m<sup>3</sup> worden geen effecten gezien. De NAEL voor zuiver chloropreen is niet vast te stellen door gebrek aan adequate studies.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van vruchtbaarheid van de partner, prenatale ontwikkeling en ten aanzien van het nageslacht wordt vastgesteld dat de intra-uteriene sterfte verhoogd is bij concentraties van  $0.14 \text{ mg/m}^3$  en daarboven (onzuiver chloropreen). De proeven met muizen zijn inadequaat. Op basis van studies met zuiver chloropreen is de NAEL vastgesteld op  $36 \text{ mg/m}^3$ , 6 uur/dag, 5 dagen per week (Appelman en Dreef-van der Meulen, 1979).

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat met betrekking tot alle genoemde risico's de NAEL van zuiver chloropreen voor proefdieren aan de hand van "westerse" literatuur kan worden vastgesteld op  $36 \text{ mg/m}^3$ . Op basis van Russische literatuur zou echter moeten worden geconcludeerd dat met betrekking tot alle risico's de NAEL van chloropreen voor proefdieren lager zou zijn dan  $0.05 \text{ mg/m}^3$ . De zuiverheid van de in de Russische experimenten gebruikte chloropreen is echter niet bekend. Het is dan ook zeer wel mogelijk dat zich in het Russische chloropreen dusdanige hoeveelheden reactieproducten hebben gevormd dat de toxiciteit van de teststof hierdoor significant kan zijn toegenomen.

Adequate studies met zuiver chloropreen op het gebied van risico's ten aanzien van geslachtsorganen ontbreken.

#### 4.1.4 Discussie en conclusies humane gegevens

Humane toxiciteitsgegevens van chloropreen zijn schaars; van de studies die er zijn laat de kwaliteit ten aanzien van onderzoeksopzet, blootstellingsgegevens en onderzochte parameters te wensen over.

Indien er al humane gegevens met betrekking tot chloropreen bestaan, is het mogelijk dat de gevonden effecten samenhangen met blootstelling aan andere stoffen dan chloropreen (alleen). Chloropreen wordt immers veel gebruikt in de rubberindustrie. Bovendien kan de zuiverheid van chloropreen sterk verschillen van situatie tot situatie. In geen van de hier vermelde studies is melding gemaakt van de zuiverheid van chloropreen. Alle studies, met uitzondering van één Franse studie, waren afkomstig uit Oost-Europa.

De beschikbare gegevens hebben betrekking op relatief lage blootstelling:  $1-7 \text{ mg/m}^3$ , respectievelijk  $13-36 \text{ mg/m}^3$ . De MAC in Nederland is momenteel  $36 \text{ mg/m}^3$ .



Enkele studies geven hoogstens zwakke aanwijzingen voor verstoringen van de seksuele functies bij vrouwen en bij mannen; evenzo is er een hoogstens zwakke aanwijzing dat blootstelling van de man aan chloropreen de zwangerschap negatief zou kunnen beïnvloeden. In één studie zijn zowel de blootstellingen hoger, als ook de aanwijzingen van effecten ten aanzien van reproductie en zwangerschapsuitkomsten sterker.

#### 4.1.5 Samenvatting en evaluatie

Samenvattend kan gesteld worden dat zowel uit humane gegevens als uit dierexperimenteel werk blijkt dat er (zwakke) aanwijzingen zijn voor een verstoring van de seksuele functies. De evaluatie wordt echter bemoeilijkt doordat  $\beta$ -chloropreen snel afbreekt onder vorming van toxische produkten. Dit mogelijk onzuivere, meer toxisch materiaal zou schadelijk kunnen zijn voor de testes en zou teratogene effecten bij ratten kunnen induceren na inhalatie van concentraties rond  $4 \text{ mg/m}^3$ . Zuiver chloropreen induceert zulke effecten niet, zelfs niet bij  $360 \text{ mg/m}^3$ . De NAEL voor zuiver  $\beta$ -chloropreen is vastgesteld op  $36 \text{ mg/m}^3$ .

De MAC van  $\beta$ -chloropreen is volgens de Nationale MAC-lijst 1986  $36 \text{ mg/m}^3$  (10 ppm). Deze is gelijk aan de in dit rapport beredeneerde NAEL. Er bestaat dan geen veiligheidsmarge tussen de huidige MAC en deze NAEL. Aanbevolen wordt om bij inventariserend onderzoek naar de omvang en de mate van blootstelling aan  $\beta$ -chloropreen tevens de zuiverheidsgraad van de stof waaraan medewerkers worden blootgesteld, te onderzoeken.

#### 4.1.6 Literatuur

Appelman, L.M. and H.C. Dreef-van der Meulen (1979)

Reproduction study with  $\beta$ -chloroprene vapour in rats.

Central Institute for Nutrition and Food Research, Report No. R 6225

Barlow, S.M. and F.M. Sullivan

Reproductive hazards of industrial chemicals.

Academic Press, 1982, pp 610

D.G.-Arbeid van het Ministerie van Sociale Zaken en Werkgelegenheid (1986)

Nationale MAC-lijst 1986

P145

Salnikova, L.S. and V.N. Fomenko (1973)

Experimental investigation of the influence produced by chloroprene on the embryogenesis.

Gigiena Truda i Professional 'nye Zabolevaniya 8:23;26

ISN 20645

## 4.2 PCB's (technisch mengsel)

### 4.2.1 Inleiding

Er zijn vele chloorbiphenylen, variërend van enkelvoudig gechloreerd (chloorbiphenyl) tot tienvoudig gechloreerd (decachloro-biphenyl).

De meeste commercieel verkrijgbare PCB's, die in toxiciteitsproeven worden gebruikt zijn samengesteld uit isomeren, waarvan er in theorie 209 mogelijk zijn.

De handelsnamen die in dit literatuuronderzoek vaak ter sprake komen zijn Aroclor (USA), Clophen (Duitsland) en Kanechlor (Japan).

Aroclor heeft een identificatiecode om de chemische samenstelling aan te geven: 4 cijfers waarvan de voorste twee cijfers het molecuultype aangeven en de laatste twee het gemiddeld gewichtspercentage chloor. Kanechlor 400 bevat voornamelijk tetra- en pentachloorbiphenylen, Kanechlor 500 voornamelijk penta- en hexachloorbiphenylen.

Slechts een deel (met name de lager gechloreerde verbindingen) is redelijk goed biologisch afbreekbaar; de hoger gechloreerde PCB's zijn zeer persistent. Als verontreinigingen komen herhaaldelijk met name PC-dibenzofuranen (PCDF's), PC-dibenzodioxine (PCDD's), PC-quatrophenylen (PCQ's) en PC-naphthalenen (PCN's) voor, in concentraties afhankelijk van de toepassing. Althans een deel der eertijds aan PCB toegeschreven verschijnselen kan op deze verontreinigingen berusten. PCDF's ontstaan onder andere onder inwerking van zonlicht; dit zal bij blootstelling in het beroep echter geen grote rol spelen. Momenteel is nog circa 600 ton PCB's in gesloten systemen aanwezig in Nederland; het huidig verbruik is minder dan één ton per jaar (Coörd. Comm., 1985).

### 4.2.2 Discussie dierproefgegevens

#### 4.2.2.1 Kwaliteit van de experimenten

Er zijn zeer veel studies uitgevoerd met vele PCB's, waaronder ook langdurende reproductiestudies. De kwaliteit van de experimenten was over het algemeen voldoende. Meestal werd via orale weg gedoseerd, in een enkel geval subcutaan. Er zijn geen studies bekend met inhalatoire blootstelling. Helaas was van enkele studies slechts een samenvatting beschikbaar.

#### 4.2.2.2 Zuiverheid van de PCB's

Bij proefdieren is gewerkt met een grote verscheidenheid aan isomerenmengsels PCB. Er zijn geen studies bekend met een enkele isomeer of met een metaboliet daarvan. Ook is er geen melding gemaakt van mogelijke verontreiniging van PCB-mengsels, terwijl zeker verwacht kan worden dat met name de hoger gechloroerde dibenzofuranen als verontreiniging aanwezig zullen zijn geweest. Met name deze verontreiniging zou verantwoordelijk zijn voor het Yusho-syndroom.

#### 4.2.2.3 PCB gehalten in bloed, melk en weefsels en de overdracht via placenta en melk

In moederdieren en nakomelingen zijn PCB-gehalten in bloed, melk en diverse weefsels bepaald voornamelijk in rat, aap en nerts.

##### in bloed

rhesusaap (moeders)	0,027 mg/l in serum	(dosis 0,05 mg/kg/dag)
zeugen	< 0,5 mg/l	(dosis 20 ppm)
big	< 0,5 mg/l	(dosis 20 ppm zeug)

##### in melk

rhesusaap	0,4 mg/l	(dosis 0,25 mg/kg/dag)
rat	100 mg/l	(dosis 50 mg/kg/dag)

##### in melkvet

rhesusaap	16,4 mg/kg	(dosis 0,2 mg/kg/dag)
rhesusaap	3,92 mg/kg	(dosis 0,05 mg/kg/dag)

##### in weefsels

rhesusaap (moeder)	2,9 mg/kg	(dosis 0,05 mg/kg/dag)
rhesusaap (baby)		
- bij geboorte	3,4 mg/kg	(dosis 0,05 mg/kg/dag)
- na 4 mnd	27,5 mg/kg	(dosis 0,05 mg/kg/dag)
rat lever (moeder)	3,0 mg/kg	(controle)
rat lever (moeder)	6,7 mg/kg	(dosis 30 mg/kg/dag)
rat lever (pup)	2,6 mg/kg	(controle)
rat lever (pup)	14 mg/kg	(dosis 30 mg/kg/dag)
nerts (moeder)	4-11 mg/kg	(dosis 4,5 mg/kg/dag)

Overdracht van PCB's via de placenta vindt bij vele diersoorten plaats (muis, rat, konijn, aap). Deze overdracht is echter beperkt, in het algemeen minder dan 0,2 % van de toegediende dosis. Er zijn aanwijzingen dat de mate van passage afhangt van de chloorsamenstelling van de PCB's: hoe hoger gechlloreerd, hoe meer er passeert.

Overdracht via de melk op de jonge dieren is een belangrijke route, de hoge vetoplosbaarheid van PCB's bij de moederdieren resulteert in lage excretie via andere wegen. Het is een snelle manier om van PCB's af te komen. Daarom lijkt de postnatale blootstelling veel belangrijker dan de prenatale. In muizen was het totale PCB-gehalte zo'n 100 keer hoger in zogende pups dan in pas geboren dieren; in ratten werd een 20-voudige toename gezien en in rhesusapen nam de PCB-concentratie toe van 1-5 mg/kg bij de geboorte tot 86-137 mg/kg in de derde maand na de geboorte.

#### 4.2.2.4 Verschillen tussen de PCB's in effecten op de reproductie

Omdat ten aanzien van de reproductie-effecten van verschillende PCB's de verschillende studies onderling in het algemeen niet goed vergelijkbaar zijn, is het derhalve niet mogelijk om hierover een uitspraak te doen. Wel kunnen verschillende PCB's vergeleken worden wanneer zij binnen één experiment zijn gebruikt:

- Tetrachloorbiphenyl is toxischer voor de foetus dan hexachloorbiphenyl (Lucier et al., 1978). Deze auteurs zagen een structuur-werkingsrelatie; hoe hoger gechlloreerd, hoe meer transport door de placenta (citaat uit Barlow en Sullivan, 1982).
- Aroclor 1254 induceert foetale sterfte, Aroclor 1260 niet (Linder et al., 1974).
- Clophen A50 induceert foetale sterfte, HCB niet (Brunström et al., 1982).
- Aroclor 1016 is minder toxisch voor moederapen dan Aroclor 1248, maar Aroclor 1016 accumuleert gemakkelijker in het moederdier en er vindt meer transport plaats via placenta en melk met nadelige effecten op het gewicht van de foetus (Barsotti et al., 1984).

Op grond van bovenstaande gegevens lijkt het niet zonder meer mogelijk om een verband te leggen tussen foetotoxiciteit en het aantal chlooratomen van de stof. Barsotti et al., 1984, vermelden in hun discussie het volgende: Uit de literatuur is van oudsher bekend dat de mate van toxiciteit die door een PCB-mengsel geïnduceerd wordt positief gecorreleerd is met het aantal chlooratomen; hoe hoger gechlloreerd, hoe toxischer. Daarom zijn de lager gechlloreerde PCB's belangrijker geworden voor industriële doeleinden.

Echter, recente studies hebben aanwijzingen gegeven dat voor de toxiciteit het substitutiepatroon van de chlooratomen van belang is. Terwijl men eerst aannam dat de lager gechloreerde PCB's gemakkelijker gemetaboliseerd en uitgescheiden worden, is nu gebleken dat zij in de weefsels accumuleren, dat zij gemakkelijk de placenta passeren en ook via de melk bij de nakomelingen terecht komen.

#### 4.2.2.5 Speciesverschillen

De meeste studies zijn uitgevoerd met muizen en ratten, daarnaast ook verschillende met konijnen, varkens, honden, apen en nertsen. Met name de laatste twee diersoorten lijken zeer gevoelig voor de schadelijke werking van PCB's.

#### 4.2.2.6 Effecten

Hoge doseringen PCB's kunnen bij muizen de functie van het mannelijk geslachtsapparaat nadelig beïnvloeden; mogelijk staat dit in verband met een oestrogene werking van PCB's. Bij vrouwelijke dieren kan bij veel lagere doseringen reeds een verlenging van de oestrogene cyclus (rat en muis) of de menstruatiecyclus (aap) geïnduceerd worden. Dit kan gepaard gaan met een verlaagde hormoonspiegel zoals bij apen is gezien, waardoor de ovulatie geblokkeerd kan worden. Ook histologische veranderingen van de ovaria zijn waargenomen.

Vrouwelijke dieren blijken gevoeliger dan mannelijke voor schadelijke effecten ten aanzien van de fertiliteit; bij mannen is alleen schade gezien bij algemene toxiciteit, bij vrouwelijke dieren ook bij overigens niet-toxische doses.

Duidelijk teratogeen lijken PCB's niet, alhoewel in enkele studies teratogeniteit is waargenomen bij muizen, varkens en honden (bij de laatste 2 diersoorten was helaas het oorspronkelijk artikel niet beschikbaar). In een studie met muizen (na orale toediening) werd hydronephrose en cryptorchidisme (niet ingedaalde testes) gezien, in een andere studie (na subcutane toediening) werd gespleten verhemelte, brachydactylie en syndactylie gemeld.

In zeer veel studies wordt een combinatie van embryotoxische effecten gezien, bestaande uit hoge peri- en postnatale sterfte, laag geboortegewicht en vertraagde postnatale groei. Blootstelling gedurende zeer vroege dracht kan een vertraging van de implantatie teweeg brengen. Een specifiek neurologisch effect werd gezien bij de muis, het zogenaamde "spinning syndroom". Pre- en postnatale blootstelling kon bij rhesusapen een Yusho-achtige aandoening induceren, zoals ook bij mensen is waargenomen.

#### 4.2.3 Conclusie dierexperimenten

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit, blijkt op basis van de beschikbare literatuur dat verstoring van de oestruscyclus bij rhesusapen reeds bij zeer lage concentraties (0,12 mg Aroclor 1248/kg/dag) kan optreden (Barsotti et al., 1976). Ook blijken progesteronspiegels van ratten en oestrogeenspiegels van apen onder invloed van PCB's te verlagen en zijn er aanwijzingen dat bij apen een verminderde ovulatie of anovulatie kan optreden.

Geconcludeerd kan worden dat de NAEL voor fertiliteitseffecten is vast te stellen op minder dan 0,12 mg Aroclor 1248/kg/dag (aap, Barsotti et al., 1976). Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en de prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd dat PCB's in het algemeen prenatale sterfte en verlaging van foetusgewichten kunnen induceren.

Teratogeniteit (gespleten verhemelte, brachydactylie, syndactylie, hydronephrose en niet ingedaalde testikels) werd in enkele studies met muizen waargenomen. Aangezien na orale toediening van Kanechlor 400 gedurende de dracht van ratten verlaagde foetusgewichten werden waargenomen bij een dosering van 0,67 mg/kg/dag, zal de NAEL van Kanechlor 400 als lager dan deze dosering dienen te worden beschouwd (Mizunoya et al., 1974).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht kan geconcludeerd worden dat PCB's in het algemeen verhoogde sterfte van de nakomelingen en groeivertraging van het nageslacht kunnen induceren. Minder algemene effecten werden ook waargenomen, zoals een neurologische afwijking, het zogenaamde "spinning syndroom" bij muizen, een verminderde reproductie en effecten op de mannelijke reproductieorganen bij nakomelingen van ratten die intrauterien waren blootgesteld aan PCB's en effecten bij apen bestaande uit een combinatie van laag

geboortegewicht en hyperpigmentatie van de huid, oedeem en haarverlies zoals ook gezien bij "Yusho" kinderen.

Bij varken en hond zijn gespleten verhemelte gevonden, waarover echter slechts in een abstract werd gerapporteerd. Apen blijken zeer gevoelig; Aroclor 1016 oraal gegeven gedurende 18 maanden resulteerde in lage geboortegewichten bij 0,05 mg/kg.

De laagst waargenomen NAEL bedraagt 0,01 mg Aroclor 1016/kg lichaamsgewicht (studie met apen, Barsotti et al., 1984).

Ofschoon PCB's het nageslacht kunnen bereiken via de placenta lijkt deze toch redelijk als barriere te functioneren: blootstelling gedurende de dracht met inbegrip van de pre-implantatiefase resulteerde vrijwel altijd in lagere NAEL's dan wanneer blootstelling alleen tijdens die periode in de dracht had plaatsgevonden waarin de placenta functioneel is.

Overigens lijkt blootstelling via de moedermelk tijdens de lactatieperiode de meest effectieve route.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit kan de NAEL worden gesteld op 7 mg/kg/dag: een effect op de testis bij muizen bleek op te treden bij 14 mg/kg/dag (Sanders et al., 1977).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van vruchtbaarheid van de partner blijkt dat zelfs bij zeer hoge doseringen geen effecten op de reproductie bij de partner geïnduceerd werden.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren blijken duidelijke effecten van PCB's op de reproductie op te treden. Verhoogde sterfte van de nakomelingen en groeivertraging zijn waargenomen bij ratten en nertsen. De NAEL voor Aroclor 1254 kon voor nertsen worden vastgesteld op 0,15 mg/kg/dag, gevoerd gedurende 10 maanden (Auerlich et al., 1977).

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat met betrekking tot alle genoemde risico's een NAEL voor PCB's in het algemeen niet is aan te geven; er blijken grote verschillen in toxiciteit te bestaan tussen de diverse commerciële PCB-preparaten. Toxiciteit van PCB's lijkt toe te nemen naarmate de verbinding hoger gechloreerd is. Op basis van de thans beschikbare literatuur bedraagt de laagst waargenomen NAEL 0,01 mg/kg lichaamsgewicht (studie met Aroclor 1016 in apen, Barsotti et al., 1984).



#### 4.2.4 Discussie humane gegevens

##### 4.2.4.1 Met betrekking tot de blootstelling aan PCB's en gecombineerde blootstelling aan andere OCI's

In principe bestaan er 209 PCB's, die onderling kunnen verschillen in toxicokinetische en eventueel ook toxicodynamische eigenschappen. Slechts in enkele onderzoeken is dit onderzocht. Het feit dat dit met name bij onderzoek naar reproductie-effecten bij de niet-beroepshalve blootgestelde bevolking het geval is, laat niet toe de oorzakelijke betekenis van de PCB's zelf, eventueel van de PCB-isomeren, als zodanig aan te tonen. Er bestaat zeker aanleiding het onderzoek van de aanwezigheid van PCB's (en OCI's) in follikelvocht bij de vrouw en in sperma van de man voort te zetten, waarbij zoveel mogelijk ook de mogelijke relatie met reproductie-effecten in de opzet betrokken wordt.

##### 4.2.4.2 Met betrekking tot de analyse kwaliteit

Zoals hiervoor reeds aangeduid en meer in detail is uitgewerkt door de Gezondheidsraad (1985) en de WHO (1985), moet bij vergelijking van concentraties in biologische media niet strikt uitgegaan worden van de absolute waarde, maar van de orde van grootte. Gegevens over juistheid en precisie van de analysemethoden werden niet of nauwelijks vermeld. Dit geldt voor de analyse van totaal PCB's en sterker nog voor die van PCB-isomeren en verontreinigers. Er bestaat dringende behoefte aan vergelijkend analyse-onderzoek (zie ook linaan en dieldrin).

##### 4.2.4.3 Met betrekking tot het Yusho-syndroom

Pas in het laatste decennium is duidelijk geworden dat het Yusho-syndroom niet hoofdzakelijk veroorzaakt wordt door opname van PCB's, maar voor een aanzienlijk deel of voornamelijk berust op gelijktijdige opname van verontreinigers. Sommige verschijnselen van het PCB-syndroom komen er wel mee overeen, maar deze zijn bij beroepshalve blootstelling aan PCB's minder ernstig van aard en sneller reversibel dan bij Yusho.

##### 4.2.4.4 Met betrekking tot de blootstelling in het beroep

Er zijn slechts drie onderzoeken gevonden met gegevens over reproductierisico's bij blootstelling van vrouwen in het beroep, en wel dat van Yakushiji et al. (1984b), Hara (1985) en Taylor (1984); er is geen onderzoek gevonden

over effecten op de reproductie na blootstelling van mannen. Kreiss (1985) kwam in de VS met gemiddelde PCB-concentraties in serum bij werknemers op waarden tussen 33 en bijna 400  $\mu\text{g}/\text{l}$ , met een spreiding tot zelfs 2530  $\mu\text{g}/\text{l}$ . Dit is gemiddeld een factor 10 tot 100 maal hoger dan bij de niet-*visetende* en tevens niet-beroepshalve blootgestelde bevolking. Wolff (1985) gaf voor de VS waarden op tot 500  $\mu\text{g}/\text{l}$ , meestal echter lager dan 50  $\mu\text{g}/\text{l}$ ; voor Nederland zijn geen gegevens bekend over beroepshalve blootgestelde werknemers.

Yakushiji et al. (1984<sup>a</sup>) onderzochten moeders ongeveer 3 jaar na afloop van blootstelling vooral aan Kanechlor 300 in het beroep; de blootstellingsduur bedroeg maximaal 12 jaar; de gemiddelde concentratie in bloed was 32,3 + 20,6  $\mu\text{g}/\text{l}$ , derhalve met een grote spreiding. In een ander Japans bedrijf (Hara, 1985) werden concentraties van ongeveer 100  $\mu\text{g}/\text{l}$  gemeten in bloed bij enkele vrouwen tot boven de 200  $\mu\text{g}/\text{l}$ . De werknemers zelf hadden hierbij lichte verschijnselen. In het eerste bedrijf bleken bij de kinderen die borstvoeding hadden gehad lichte Yusho-achtige verschijnselen op te treden. Iets dergelijks was ook het geval bij het tweede bedrijf, met name bleek steeds lactatie de belangrijkste blootstellingsfactor te zijn voor de kinderen. Taylor et al. (1984) onderzochten reproductierisico's in een Amerikaans bedrijf; de maximale blootstellingsduur was 8 jaar; geen gegevens werden vermeld over de uitwendige en inwendige blootstelling anders dan processen met hoge blootstelling (H) 10 maal hoger dan die met lage (L) blootstelling. Dit verschil was negatief gerelateerd aan geboortegewicht en zwangerschapsduur.

Om twee redenen verdient biologische monitoring de voorkeur boven omgevings-monitoring:

- 1) ten aanzien van de risico's voor het nageslacht is de inwendige belasting bepalend
- 2) de belangrijkste blootstelling voor het nageslacht vindt plaats via de lactatie, waarbij de PCB-concentratie in de moedermelk direct gerelateerd is aan die in het bloed van de moeder.

#### 4.2.4.5 Met betrekking tot risico's t.a.v. de voortplanting

De PCB-concentratie in bloed kan door blootstelling in het beroep gemiddeld oplopen tot gemiddeld 200 à 300  $\mu\text{g}/\text{l}$ . De concentratie in bloed blijkt gecorreleerd te zijn met die in placenta en navelstrengbloed. De placenta geeft een zekere bescherming, waarbij de ratio tussen moederlijk en foetaal

bloed gemiddeld ongeveer 2 is. Tengevolge van blootstelling van de moeder tijdens de zwangerschap komt het kind al met een zekere body burden ter wereld. In een Japans onderzoek (Nishimura et al., 1977) bleek dat de gehalten in organen bij pasgeboren kinderen een factor 1 (lever) tot 9 (kind) maal hoger waren dan bij volwassenen (overigens was het aantal onderzochten zeer klein).

Van het grootste belang is de opname door de zuigeling via borstvoeding. Bij niet-beroepshalve blootgestelde vrouwen is de PCB-concentratie gemiddeld 20  $\mu\text{g}/\text{l}$  in de moedermelk, bij beroepshalve blootgestelde vrouwen kan deze vele malen hoger worden. De met moedermelk gevoede zuigeling staat aan de top van de bioconcentratie; naarmate de borstvoeding langer wordt voortgezet, neemt de concentratie in het bloed van de zuigeling toe; bij Japanse kinderen van 0-13 jaar van in het beroep blootgestelde moeders bleek het PCB-gehalte in het bloed ongeveer 6 maal hoger te zijn dan bij die van niet blootgestelde moeders, terwijl bij de moeders het verschil gemiddeld een factor 2 à 3 bedroeg (Kuwabara et al., 1980).

Bij onderzoek van de kinderen bleken wel enkele Yusho-achtige klachten en/of verschijnselen aanwezig te zijn, zij het minder ernstig van aard dan bij Yusho; de prevalentie nam toe met de duur van de lactatieperiode. Uit onderzoek bij niet-beroepshalve blootgestelde, maar wel verontreinigde vis etende vrouwen in de VS resulteerden aanwijzingen van een nadelige invloed op geboortegewicht, hoofdomtrek en spierrijping. Voorts werd een invloed op de neurologische ontwikkeling gesuggereerd. Helaas werden in Japan essentieel andere klachten en verschijnselen onderzocht dan in de VS; de Gezondheidsraad (1985) betwijfelde overigens terecht de betekenis van de bevindingen uit het onderzoek bij de visetende vrouwen in de VS. Wel kwam zowel in Japan als de VS een invloed op de groei (geboortegewicht, lengte/ hoofdomtrek) naar voren.

#### 4.2.4.6 Met betrekking tot de MAC-waarden

De ACGIH-TLV (1985, VS) bedraagt 0,5  $\text{mg}/\text{m}^3\text{-H}$ ; in Nederland is nog geen MAC voor PCB's vastgesteld. Er bestaan geen gegevens over de relatie tussen de totale dagelijkse opname en het gehalte in bloed van de moeder en/of de moedermelk.

Indien men uitgaat van een ADI voor volwassenen uit de algemene bevolking van 2,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  per dag (150  $\mu\text{g}/\text{dag}$ ) en men voor werknemers een totale opname van 10 maal deze ADI aanvaardbaar acht (relatief korte expositieduur, geselecteerd op redelijke gezondheid, minder interindividuele variatie), dan

zou voor werknemers de totale opname per week inclusief achtergrond-blootstelling 10500  $\mu\text{g}$  mogen bedragen.

Uitgaande van een lineair verband tussen de totale opname én het gehalte van PCB in bloed op evenwichtsniveau, zou althans voor werkende vrouwen in de vruchtbare leeftijd de concentratie in de lucht op de werkplek aanzienlijk lager dienen te zijn dan 0,5-0,7  $\text{mg}/\text{m}^3$ ; zelfs zonder blootstelling op het werk wordt de ADI voor zuigelingen al overschreden en de ADI voor volwassenen al ongeveer bereikt.

#### 4.2.5 Samenvatting en evaluatie

Samenvattend kan gesteld worden dat PCB's in het algemeen geen ontwikkelingsstoornissen bij dieren induceren, slechts in enkele studies is teratogeniteit waargenomen (muis hydronephrose, cryptorchidisme, gespleten verhemelte en skeletafwijkingen; varken: gespleten verhemelte; hond: gespleten verhemelte). Zij hebben wel een nadelige werking op pre- en postnatale sterfte en groei. Ook hebben zij een nadelige invloed op fertiliteit en endocrien systeem, mogelijk veroorzaakt door een oestrogene werking. Het is niet mogelijk om een enkele NAEL aan te geven voor alle PCB's. De laagste NAEL is gevonden bij rhesusapen gevoerd met Aroclor 1025, namelijk 0,01  $\text{mg}/\text{kg}/\text{dag}$  (Barsotti et al., 1984).

Duidelijke reproductie-effecten bij de mens tengevolge van blootstelling aan PCB's zijn niet aan te tonen, er zijn echter wel aanwijzingen in de richting van nadelige invloed op geboortegewicht, hoofdomtrek en spierrijping bij pasgeboren kinderen. Ook lichte Yusho-achtige verschijnselen zijn gevonden bij beroepshalve blootgestelden, hoewel het Yusho-syndroom voor een groot deel moet worden toegeschreven aan gelijktijdige opname van verontreinigers. Zowel uit humane als dierexperimentele gegevens blijkt dat grote hoeveelheden PCB's via de moedermelk bij de zuigeling terecht kunnen komen. Concentraties PCB's in de moedermelk van rhesusapen die aantoonbare toxiciteit bij de nakomelingen konden induceren (ca. 400  $\mu\text{g}/\text{l}$ ) bleken dicht in de buurt te liggen van de waarden die in humane moedermelk zijn gevonden bij blootstelling in het beroep (200-300  $\mu\text{g}/\text{l}$ ). Indien vrouwen in de vruchtbare leeftijd aan PCB's worden blootgesteld op de werkplek, dient de concentratie op de werkplek beperkt te worden tot waarden die aanzienlijk

lager zijn dan 0,5 mg/m<sup>3</sup> en wel op grond van het feit dat zuigelingen via moedermelk aan PCB's worden blootgesteld. Hoeveelheden PCB die via de moedermelk door de baby worden opgenomen lopen op tot een niveau, aanzienlijk hoger dan de "acceptable daily intake" voor zuigelingen.

#### 4.2.6 Literatuur

Auerlich, R.J. and R.K. Ringer (1977)

Current status of PCB toxicity to mink, and effect on their reproduction.  
Arch. Environ. Contam. Toxicol. 6:279-292

Barlow, S.M. and F.M. Sullivan

Reproductive hazards of industrial chemicals; an evaluation of animal and human data.

London, N. York Acad. Press, 1982

Barsotti, D.A., R.J. Marlar and J.R. Allen (1976)

Reproductive dysfunction in rhesus monkeys exposed to low levels of polychlorinated biphenyls (Aroclor 1248).

Food Cosm. Toxicol. 14 (2):99-103

Barsotti, D.B. and J.P. van Miller (1984)

Accumulation of a commercial poly-chlorinated biphenyl mixture (Aroclor 1016) in adult rhesus monkeys and their nursing infants.

Toxicol. 30:31-44

Brunström, B., I. Kihlström and U. Lundkvist (1982)

Studies on foetal death and foetal weight in guinea pigs fed polychlorinated biphenyls (PCB).

Acta Pharmacol. Tox. 50:100

Coördinatie Commissie voor de metingen van radioactiviteit en xenobiotische stoffen in het biologisch milieu in Nederland, 1984, 's-Gravenhage, Min. VROM, 1985

Gezondheidsraad. Interim advies inzake de kwaliteit van moedermelk  
I. Verontreiniging van moedermelk met polygechloreerde biphenylen (PCB's).  
's-Gravenhage, 1985.

Hara, I. (1985)

Health status and PCB's in blood of workers exposed to PCB's and of their children.

Environ. Health Perspect. 59:85-90

Kreiss, K. (1985)

Studies on populations exposed to polychlorinated biphenyls.

Environ. Health Perspect. 60:193-199

Kuwabara, M., T. Yakushiji & I. Watanabe et al. (1978)

Relationship between breast feeding and PCB residues in blood of the children, whose mothers were occupationally exposed to PCB's.

Int. Arch. Occup. Environ. Health 41:189-197

Linder, R.E., T.B. Gaines and R.D. Kimbrough (1974)

The effect of polychlorinated biphenyls on rat reproduction

Food Cosm. Toxicol. 12:63-77

Lucier, G.M., C.J. Davis and J.A. McLachlan (1978)

Transplacental transfer of the polychlorinated and polybrominated biphenyls.

Developm. Toxicol. 47:188-203 (citaat Barlow en Sullivan, 1982)

Mizunoya, Y., S. Taniguchi, A. Kusumoto, S. Morita, A. Yamada, T. Baba and S. Ogaki (1974)

Effects of polychlorinated biphenyls on fetuses and offspring in rats.

J. Food Hygiene Soc. Japan 15 (4):252-260 (Samenvatting van Japans artikel)

Nishimura, H., K. Shiota and T. Tanimura et al. (1977)

Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human embryos and fetuses.

Paediatrician 6:45-57

Sanders, O.T., R.L. Kirkpatrick and P.E. Scanlon (1977)

Polychlorinated biphenyls and nutritional restriction: their effects and interactions on endocrine and reproductive characteristics of male white mice.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 40:91-98

Taylor, P.C., C.E. Lawrence and H.L. Hwang et al. (1984)

Polychlorinated biphenyls: influence on birth weight and gestation.

Publ. Health Report 74:1153-1155

Wolff, M.S. (1985)

Occupationally exposure to polychlorinated biphenyls (PCB's).

Environ. Health Perspect. 60:135-138

World Health Organization

Organohalogen compounds in human milk and related hazards.

Report on a WHO consultation. WHO-Eur. ICP/CEH 501/no5, 76191, 1985

Yakushiji, T., I. Watanabe and K. Kuwabara et al. (1984a)

Rate of decrease and half life of polychlorinated biphenyls (PCB's) in the blood of mothers and their children occupationally exposed to PCB's.

Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13 341-345

Yakushiji, T., I. Watanabe and K. Kuwabara et al. (1984b)

Postnatal transfer of PCB's from exposed mothers to their babies: influence of breast-feeding.

Arch. Environ. Health 39:368-375

4.3 Dieldrin

4.3.1 Inleiding

4.3.1.1 Toxicokinetiek en body burden

Het technisch product dieldrin bevat voor minstens 95% HEOD (1,2,3,4,-10,10,hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4,5,8-dimethanonaphthalene). Dieldrin is het epoxyde van Aldrin. In mens en dier wordt Aldrin omgezet in Dieldrin; daarom wordt maar zelden Aldrin in menselijk weefsel gevonden.

Dieldrin is sterk lipofiel; het hoopt zich daarom met name op in onderhuids vet, hersenen en in (vet van) moedermelk.

In onderzoek bij vrijwilligers (14,24,64 en 225 µg/dag gedurende 2 jaar, inclusief achtergrond inneming via voedsel) is het verband tussen de dagelijkse opname en de concentraties in bloed en onderhuids vet onderzocht door Hunter et al. (1967, 1969):

dagelijkse opname oraal (µg/dag) =

$$= \frac{\text{conc. HEOD in bloed in } \mu\text{g/l}}{0,086}$$

0,086

$$= \frac{\text{conc. HEOD in onderhuids vet (} \mu\text{g/kg)}}{0,0185}$$

0,0185

wanneer het evenwichtsniveau na 9-12 maanden bereikt is. Bij een dagelijkse opname van 211 µg (oraal toegediend) + 14 µg (achtergrond opname) is derhalve de concentratie in bloed 20 µg/l op evenwichtsniveau. De biologische halfwaardetijd (t½) in bloed bleek ongeveer één jaar op basis van de eerste 8 maanden na de blootstelling, wat overeen zou komen met de t½ in ratten en honden. Jager (1970) kwam tot een wat kortere halfwaardetijd: 0,73 jaar, d.i. 266 dagen (17 personen).

Op basis van onderzoek door De Vlieger et al. (1968) in Nederland en aangepast met gegevens uit het onderzoek van Hunter et al. (1969) werd de volgende ratio vastgesteld tussen de concentraties in enkele weefsels en die in het bloed:

totaal bloed = 1; lever = 22,7; onderhuids vet = 136; hersenen-witte massa = 4,2; hersenen-grijze massa = 2,8 (zoals gemodificeerd door Jager, 1970).



Fiserova-Bergerova et al. (1967) vonden in Florida in 71 autopsieën (ongevallen) dat de concentratie van organische gechloreerde insecticiden (OCI's) in vet ongeveer 10 maal die in de lever en 100 maal die in nier, hersenen, en gonaden was. Indien dit overgebracht wordt naar de gegevens van De Vlieger et al. (1968) (0,2 mg/kg in vet) dan zou dit voor de gonaden neerkomen voor Dieldrin op 2  $\mu\text{g}$  HEOD/kg.

Volgens Wolff (1983) is de ratio tussen de concentraties van Dieldrin in moedermelk en in bloed ongeveer 6 (zie 3.3).

Trapp et al. (1984) onderzochten het d.m.v. punctie verkregen follikelvocht bij 15 niet-beroepshalve blootgestelde vrouwen die in vitro fertilisatie ondergingen. Het gehalte bleek voor de diverse OCI's overeen te komen met het gehalte in serum; dit was voor Dieldrin gemiddeld 0,13  $\mu\text{g}/\text{l}$  (spreiding 0,1-0,4). Hoewel dit onderzoek geen inzicht geeft in het gezondheidsrisico, wordt hier een weg geopend voor verder onderzoek. Men mag verwachten dat bij blootstelling in het beroep de concentratie in het follikelvocht met het serumgehalte zal stijgen.

#### 4.3.1.2 Achtergrondblootstelling in Nederland

In 1977/1978 bleek bij twee maal 100 personen het mediane Dieldrin gehalte in 24-uurs-voedsel 0,02-0,03 mg/kg te bedragen, wat neerkomt op ongeveer 2  $\mu\text{g}$  per persoon per dag.

Het gehalte in onderhuids vet nam geleidelijk af van 0,26 mg/kg in 1968/69 (n = 32) tot ongeveer 0,10 mg/kg in 1983 (CCRX, 1985). Volgens de beschreven formule zou 0,10 mg/kg in vet overeenkomen met een dagelijkse opname van ongeveer 6  $\mu\text{g}$ , wat hoger is dan het resultaat van het onderzoek van de voeding in dezelfde periode (niet bij dezelfde personen).

In moedermelk werd in Nederland in 1969 en 1979 respectievelijk 2,3 en 3,4  $\mu\text{g}/\text{l}$  gevonden met als maximum 11  $\mu\text{g}/\text{l}$ . In 1983 werd in 278 monsters als mediaan 0,03 mg/kg op vetbasis gemeten (Greve en Wegman, volgens WHO, 1985); uitgaande van een vetgehalte in moedermelk van 3%, komt dit neer op ongeveer 1  $\mu\text{g}/\text{l}$ , wat wijst op een verlaging in de laatste jaren. Bij een dergelijk gehalte in de moedermelk zal de concentratie in moederlijk bloed lager zijn dan 1  $\mu\text{g}/\text{l}$ , wat aansluit bij de waarneming in de VS (NHANES-onderzoek, Murphy et al., 1983) waarin slechts bij 9% van 4200 monsters Dieldrin in bloed aangetoond kon worden (detectielimiet 1-3  $\mu\text{g}/\text{l}$ ). In

Nederland werd in 1978, 1980, 1981 en 1982 steeds < 0,5 µg/l in bloed gevonden (Greve en Wegman, volgens WHO, 1985).

Het rapport van Stijkel et al. (1983) besprak reeds het onderzoek van Eckenhausen et al. (1981) in Stadskanaal. Zij onderzochten bij niet-beroepshalve blootgestelde zwangeren, pasgeborenen en zuigelingen in de peri- en postnatale periode de gehalten van OCI's in bloed van zuigelingen, zowel indien gevoed met borstmelk als met flesvoeding (postnataal: 10 dg, 6 wk en 3 mnd); voorts ook in placenta en meconium (éérste ontlasting). De voornaamste resultaten zijn samengevat in de volgende tabel.

Tabel 1. Gehaltes (geom. gem. en spreiding) aan Dieldrin in moeder, neonatus en zuigeling in bloed, moedermelk, placenta en meconium (Eckenhausen et al., 1981)

moederlijk bloed (µg/l)		navelstreng- bloed (µg/l)	zuigeling* bloed (µg/l)	moedermelk (µg/l) dag 1-11 pp	placenta (µg/kg)	meconium (µg/kg)
prenataal	postnataal					
0,8 (0,3-3,5) n=47	0,4 (<0,1-4,1) n=73	0,5 (<0,1-2,6) n=40	0,3 (<0,1-4,6) n=87	2,3 (1,4-3,3) n=59	1,9 n=30	3,1 n=18
			waarvan 54 positief			

\* geom. gemiddelde van alle waarden 10 d - 3 mnd post partum.

Het gehalte in het bloed van de zuigelingen met borstvoeding verschilde niet van die op flesvoeding.

Een schatting werd gemaakt in hoeverre borstvoeding leidde tot een extra uitscheiding bij de moeders op basis van een geschatte opname met de voeding van 10 µg Dieldrin/dag. De extra eliminatie van Dieldrin zou neerkomen op 12% bij de geboorte tot 21% op 3 mnd post partum, relatief lager dan voor DDT (resp. 36 en 61%). De zuigeling nam aan Dieldrin gem. 0,35 µg/kg lichaamsgewicht op (d.i. 3 maal de ADI), aan DDT 5 µg/kg lichaamsgewicht.

Vrouwen die succesvol aan vermageren deden, hadden gemiddeld hogere concentraties in bloed vergeleken met niet-vermagerende vrouwen (met borstvoeding, 2 mnd p.p.): resp. 0,8 (n = 3) en 0,4 (n = 11) µg/l; voor de

zuigelingen resp. 1,4 (n = 2) en 0,4 (n = 17)  $\mu\text{g}/\text{l}$ ; de zuigelingen van vermagerende moeders hadden dus gemiddeld een hogere concentratie in bloed. In dit onderzoek was de ratio tussen de concentraties in moedermelk en bloed 5,7 overigens met een grote individuele variatie.

Enkele gegevens over concentraties in gonaden (vermoedelijk de testes) van niet-beroepshalve blootgestelde personen zijn (Fiserova-Bergerova et al. (1967), Cassarett et al. (1968); Kadis et al. (1970)) in de V.S. bij 36 personen gem. 0,009 mg/kg (1967) en bij 42 personen 0,035 mg/kg (1966); voorts in Canada bij 39 personen 0,06 mg/kg (uitgedrukt per kg extraheerbare lipiden). Overigens betrof dit gegevens meestal uit de 60-er jaren: de analysemethoden zullen toen wellicht minder betrouwbaar geweest zijn dan in de 80-er jaren.

Bij gezonde aan Dieldrin blootgestelde werknemers zijn in bloed gehalten gevonden van gem. ( $\bar{x}_g$ ) 27,1  $\mu/\text{l}$ , 29  $\mu\text{g}/\text{l}$  (maximum 430), 120  $\mu\text{g}/\text{l}$  (maximum 209  $\mu\text{g}/\text{l}$ ), 55  $\mu\text{g}/\text{l}$  en 20 (4,5-54)  $\mu\text{g}/\text{l}$ .

#### 4.3.1.3 De 'Acceptable Daily Intake' (ADI)

Het Contaminanten boekje (1984) refereert aan een beoordeling door een Joint Meeting on Pesticide Residues (WHO en FAO) uit 1977, waarin de ADI gesteld werd op 0,1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , uitgaande van een NEL van 1 ppm bij rhesusapen en honden, en van 0,5 ppm (overeenkomend met 25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) bij ratten.

#### 4.3.2 Conclusie dierproefgegevens

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke en mannelijke dieren ten aanzien van de fertiliteit, geslachtsorganen en endocriene systeem kan worden geconcludeerd dat op basis van de bestudeerde literatuur de NAEL voor effecten op de fertiliteit in proefdieren is vast te stellen op 0,25 mg/kg/dag (Harr et al, 1970). Over risico's voor geslachtsorganen en endocrien systeem kan bij gebrek aan specifieke literatuur geen uitspraak worden gedaan.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke en bij blootstelling aan zowel vrouwelijke als mannelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd dat teratogene effecten slechts bij relatief hoge doseringen worden geïnduceerd

(>15 mg/kg). Bij lagere doseringen worden minder ernstige orgaanafwijkingen of foetale groeiretardatie waargenomen. De NAEL voor proefdieren kan worden vastgesteld op 1,5 mg/kg (Chernoff et al, 1975). Over effecten op drachtigheid en prenatale ontwikkeling, geïnduceerd door blootstelling van alleen mannelijke dieren, werd geen literatuur gevonden.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van nageslacht werd vastgesteld dat verhoogde pupsterfte gedurende de lactatie het meest frequent optredende effect was. Op basis van de geraadpleegde literatuur blijkt de NAEL voor knaagdieren lager te zijn dan 0,31 mg/kg (Virgo en Bellward, 1975). In de reeen-studie bleek de NAEL zelfs lager dan 0,125 mg/kg (Murphy en Korschgen, 1970).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht kan worden geconcludeerd dat op basis van de geraadpleegde literatuur de NAEL: 0,063 mg/kg bedraagt (Harr et al., 1970).

Samenvattend wordt geconcludeerd dat met betrekking tot alle genoemde risico's de NAEL voor proefdieren kan worden vastgesteld op 0,063 mg Dieldrin/kg.lich.gew./dag (op basis van een experiment met mannelijke en vrouwelijke muizen welke geruime tijd voorafgaande aan paring alswel gedurende de dracht en lactatie werden blootgesteld aan Dieldrin). Er blijkt overigens geen wezenlijk verschil in de gevoeligheid van de verschillende species. Ook de aard van de beschreven effecten is niet sterk species-afhankelijk.

#### 4.3.3 Discussie en conclusies humane gegevens

##### 4.3.3.1 Beschikbare literatuur

Er zijn geen gegevens gevonden over onderzoek naar reproductierisico's bij blootstelling van mannen of vrouwen in het beroep. Daarom moest volledig gevaren worden op onderzoek bij niet-beroepshalve blootgestelde personen (2 studies). De meeste literatuur had betrekking op de uitscheiding van Dieldrin met de moedermelk.

#### 4.3.3.2 Blootstelling

Er bestaan gegevens uit experimenteel onderzoek bij mannelijke vrijwilligers over de relatie tussen de dagelijks oraal opgenomen hoeveelheid en de concentratie in het bloed en vet tot in de fase van het evenwicht. Hiermee kan een extrapolatie gemaakt worden van de te verwachten orde van grootte van de totale opname, er evenwel van uitgaande dat er tussen mannen en vrouwen geen verschil bestaat in kinetiek (tabel 2).

Tabel 2. Verband tussen totale opname per dag en concentraties in bloed; de geëxtrapolerde waarden zijn onderstreept

	opname in $\mu\text{g}/\text{dag}$	conc. in $\mu\text{g}/\text{l}$ bloed
basisformule in bloed (Hunter et al., 1967, 1969)	$0,086 \times \text{dagdosis} = \text{conc. in bloed}$	
	225	20
Eckenhansen et al. (1981)	<u>3,7</u>	0,4 (praenataal)
Saxena et al. (1981)		
- controles	<u>130</u>	11,1
- onvoldragen zwangerschap	<u>350</u>	30,1
- abortus	<u>390</u>	33,1
Saxena et al. (1983)		
- controles	<u>45</u>	3,9
- doodgeboren vrucht	<u>208</u>	17,9
MAC = 0,25 mg/m <sup>3</sup> ;	<u>975</u>	<u>84</u>
aannames: blootstelling voor en tijdens zwangerschap, ademvolume 6 m <sup>3</sup> /8u, depositie 65%, resorptie 100% orale opname: 10 $\mu\text{g}$ per dag (250 x 6 x 0,65 + 10)		

Hieruit blijkt dat de verwachte concentratie in bloed van mannelijke en vrouwelijke werknemers ongeveer ligt bij de NAEL die door Jager (1970) is aangegeven voor het voorkomen van enzyminductie, althans voorzover in

onderzoek bij mannelijke werknemers is nagegaan.

Overigens waren de concentraties van andere OCI's in het bloed van de niet-beroepshalve geëxponeerde vrouwen ook verhoogd.

Het is niet geoorloofd de formule van Hunter et al. toe te passen op zuigelingen, daar deze door sterke groei en ontwikkeling niet in een evenwichtssituatie verkeren.

Indien de moeder vóór en tijdens de zwangerschap beroepshalve is blootgesteld, dan zal het kind reeds voor de geboorte Dieldrin opgenomen hebben. Indien op basis van het onderzoek van Eckenhausen et al. (1983) en van Saxena et al. (1983) ervan wordt uitgegaan dat de concentraties in moederlijk bloed en navelstrengbloed ongeveer gelijk zijn, dan zou de zuigeling ter wereld komen met een concentratie in navelstrengbloed van ook ongeveer 100  $\mu\text{g/l}$  en zou reeds een zekere body burden opgebouwd hebben.

#### 4.3.3.3 Effecten

Met betrekking tot effecten ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit. Hierover werden geen gegevens gevonden.

Met betrekking tot effecten ten aanzien van zwangerschap en nageslacht

Een eventueel effect kan in principe zowel berusten op blootstelling van de man als van de vrouw, hoewel gezien de potentiële blootstelling tijdens de zwangerschap de kans op een hogere dosis via de vrouw zelf groter is dan die via de man. De thans beschikbare gegevens, uitsluitend afkomstig van onderzoek bij niet-beroepshalve blootgestelde bevolkingsgroepen kunnen hoogstens dienen als een signaal voor verder onderzoek, en niet als een aanwijzing dat verhoogde blootstelling aan Dieldrin de oorzaak zou zijn van vroeggeboorte, abortus en/of doodgeboorte. Wel moet gewezen worden op het feit dat de geëxtrapoleerde waarden voor de orale dagelijkse opname aanzienlijk hoger waren dan de werkelijke dosis in het humaan experiment van Hunter et al.

Overigens is het de vraag in hoeverre de analysemethode in het onderzoek in Groot-Britannië, Nederland en India (Saxena et al.) vergelijkbare analyse-resultaten opleverden; in dit verband is het ook niet duidelijk waarom de controlewaarden in bloed tussen het eerste en het tweede onderzoek van Saxena et al. met een factor van ongeveer 3 verschilden.

#### Met betrekking tot effecten via de lactatie

Er is veel onderzoek verricht naar de concentratie van Dieldrin in moedermelk; voorzover die opgegeven waren op vet-basis, zijn deze omgerekend naar de concentratie in moedermelk uitgaande van een vetgehalte van 3%. Het blijkt dat de ratio tussen de concentraties in moedermelk varieert van ongeveer 5 tot 6 (Wolff, 1983; Mes et al., 1984; Eckenhausen et al., 1981), althans op basis van groepsgemiddelde waarden. Individueel kan het percentage vet en daarmee ook de concentratie Dieldrin per liter melk aanzienlijk verschillen.

Uit het onderzoek van Greve en Wegman (1984) in Nederland is afgeleid dat de gemiddelde concentratie in moedermelk van Nederlandse vrouwen ongeveer 1  $\mu\text{g/l}$  bedraagt. Dit zou voor een zuigeling van 5 kg, die 0,7 l melk per dag drinkt, neerkomen op een opname van 0,7  $\mu\text{g/dag}$ , d.i. 0,14  $\mu\text{g/kg}$  lichaamsgewicht, wat juist boven de ADI van 0.1  $\mu\text{g/kg}$  ligt. Uit het onderzoek van Eckenhausen et al. (1981) komt men tot 0,35  $\mu\text{g/kg}$  lichaamsgewicht. Het gaat ook hier weer om gemiddelde schattingen met een grote individuele spreiding. Overigens bleek bij de zuigelingen tijdens de borstvoeding het gehalte in bloed niet te stijgen, en niet te verschillen van dat bij zuigelingen op flesvoeding; of bij zuigelingen met borstvoeding de concentratie in vet of andere biologische media wel hoger was dan bij zuigelingen met flesvoeding is overigens niet onderzocht.

Indien de moeder tijdens blootstelling in het beroep onder condities van de huidige MAC-waarde een concentratie in bloed van 84  $\mu\text{g/l}$  bereikt, zal de concentratie in moedermelk gemiddeld ongeveer 500  $\mu\text{g/l}$  worden, wat tot een dagelijkse opname door de zuigeling leidt van ongeveer 400  $\mu\text{g/dag}$ .

#### 4.3.3.4 Conclusies

Uit de gegevens van onderzoek bij de mens is het niet mogelijk ten aanzien van de reproductierisico's, no-adverse effect levels aan te geven. Evenmin zijn dosis-niveaus bekend waarbij aanwijzingen bestaan voor reproductie-effecten.

Er is geen onderzoek gevonden naar de reproductierisico's bij beroepshalve blootgestelde mannen en/of vrouwen. Daarbij zullen echter concentraties in bloed en in moedermelk verwacht mogen worden die de concentraties bij de niet-beroepshalve blootgestelde bevolking enkele honderden malen kunnen overschrijden. Afwezigheid van relevante onderzoekgegevens zegt dan ook niets over het al dan niet aanwezig zijn van risico's.

De huidige in Nederland gemeten gemiddelde concentraties in moedermelk leiden er toe dat de ADI voor zuigelingen al wordt overschreden. Dit zal nog veel sterker het geval zijn indien de moeder voor en tijdens de zwangerschap en eventueel tijdens de lactatieperiode beroepshalve wordt blootgesteld aan concentraties overeenkomend met de huidige MAC (0,25 mg/m<sup>3</sup>).

Uit enkele onderzoeken naar reproductierisico's bij niet-beroepshalve blootgestelde vrouwen komen signalen over een verhoogde kans op vroeggeboorte, abortus en doodgeboorte. Deze kunnen echter hoogstens als aanleiding dienen voor verder onderzoek. Op basis van deze summier gegevens met betrekking tot de mens, is vooralsnog geen uitspraak te doen over mogelijke risico's voor de reproductieorganen en/of het nageslacht bij blootstelling aan Dieldrin bij de huidige MAC.

#### 4.3.4 Discussie

Er werden geen gegevens gevonden over risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van drachtigheid van de partner en ten aanzien van het nageslacht. De meeste literatuur had betrekking op blootstelling van vrouwelijke dieren en de gevolgen daarvan voor de fertiliteit, drachtigheid, en pre- en postnatale ontwikkeling. In dit literatuuronderzoek werden studies met ratten, muizen, hamsters, konijnen en honden, alsmede een enkele studie met reeën en zeugen betrokken. Opvallend was dat de aard van de beschreven effecten niet species-afhankelijk bleek te zijn. Ook bleek geen van de in het onderzoek betrokken species duidelijk gevoeliger dan de andere. Verminderde fertiliteit, retardatie van de foetale ontwikkeling en pupsterfte waren de meest voorkomende effecten. Aard en ernst van de waargenomen effecten waren sterk afhankelijk van de duur van de blootstelling en de hoogte van de gekozen doseringen. De in het onderzoek betrokken teratogeniteitsstudies, waarbij blootstelling in het algemeen plaats vindt gedurende een zeer beperkte periode van de dracht maar dan wel aan relatief hoge concentraties, droegen niet wezenlijk bij aan de vaststelling van blootstellingsniveaus welke voor de mens als relatief onschadelijk worden beschouwd. Wel verschaften deze studies een beter inzicht in de toxicologische potentie van de stof.



De op basis van dierproeven vastgestelde NAEL van  $63 \mu\text{g}/\text{kg}$  lich. gew./dag voor wat betreft reproductie-effecten, kan worden beschouwd als goed gedocumenteerd.

Gegevens van onderzoek bij de mens zijn schaars en bovendien uitsluitend afkomstig van onderzoek bij niet-beroepshalve blootgestelde bevolkingsgroepen. Deze kunnen derhalve nauwelijks bijdragen aan het vaststellen van een NAEL voor wat betreft effecten op voortplanting en nageslacht. Wel kan, uitgaande van vastgestelde concentraties in bloed, een extrapolatie worden gemaakt van de orde van grootte van de totale opname.

Bij blootstelling aan de huidige MAC-waarde van  $0,25 \text{ mg}/\text{m}^3$  zal derhalve de geëxtrapolerde concentratie in moedermelk en dientengevolge de dagelijkse opname door de zuigeling de huidige ADI van  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$  met een factor van meerdere honderden overschrijden.

De huidige ADI van  $0,1 \mu\text{g}/\text{kg}$  is enige honderden malen lager dan de NAEL vastgesteld op basis van dierproeven, terwijl de totale opname bij blootstelling aan de MAC-waarde (geëxtrapolerde waarde) een faktor 5 lager is dan deze NAEL, vastgesteld op basis van dierproeven. Mede doordat ook op basis van humane gegevens met betrekking tot blootstelling van volwassenen geen aanwijzingen voor reproductierisico's werden gevonden, is het aannemelijk dat er ten aanzien van blootstelling van volwassenen aan de huidige grenswaarde geen verhoogde risico's te verwachten zijn voor wat betreft voortplanting en nageslacht.

Vanwege de opbouw van een sterk verhoogde body burden die tijdens de lactatie voor een deel wordt uitgescheiden, zal de blootstelling van zuigelingen van beroepshalve blootgestelde moeders de vastgestelde grenswaarde (ADI) nadrukkelijk overschrijden.

#### 4.3.5 Literatuur

Cassarett, L.J., G.C. Fryer, W.L. Yanger and H. Wiklemmer (1968)  
Organochlorine pesticide residues in human tissues.  
Hawaii. Arch. Environ. Health 17:306-311

Chernoff, N., R.J. Kavlock, J.R. Kathrein, J.M. Dunn and J.K. Haseman  
(1975)  
Prenatal effects of dieldrin and photodieldrin in mice and rats.  
Toxicol. Appl. Pharmacol. 31:302-308

Coördinatie-commissie voor de metingen van radioactiviteit en xenobiotische  
stoffen in het biologisch milieu.  
CCRK, Min. VROM, 1985

Eckenhansen, F.W., D. Bennett, K.I. Beynon et al. (1981)  
Organochlorine pesticide concentrations in perinatal samples from mothers  
and babies.  
Arch. Environ. Health 36:81-92

Fiserova-Bergerova, V., J.L. Radomski, J.E. Davies et al. (1967)  
Levels of chlorinated hydrocarbon pesticides in human tissues.  
Ind. Med. Surg. 36:65-70

Harr, J.R., R.R. Claeys, J.F. Bone and T.W. McCorcle (1970)  
Dieldrin toxicosis: Rat reproduction.  
Am. J. Vet. Res. 31:181-191

Hunter, C.G. and J. Robinson (1967)  
Pharmacodynamics of dieldrin (HEOD).  
Arch. Environ. Health. 15:614-626

Hunter, C.G., J. Robinson and M. Roberts (1969)  
Pharmacodynamics of dieldrin (HEOD) Part II: Ingestion by human subjects  
for months 18-24 and post-exposure for 8 months.  
Arch. Environ. Health. 18:12-21

Jager, K.W. (1970)

Aldrin, dieldrin, endrin and telodrin, an epidemiological and toxicological study of long-term occupational exposure.

Amsterdam, Elsevier, 1970. Proefschrift UVA

Kadis, V.M., W.E. Breitzkreitz, O.J. Jonasson (1970)

Insecticide levels in human tissues in Alberta residents.

Canad. J. Publ. Hlth. 61:413-416

Mes, J., J.A. Doyle, B.R. Adams et al. (1984)

Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in milk and blood of Canadian women during lactation.

Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13:217-223

Murphy, D.A. and L.J. Korschgen (1970)

Reproduction, growth and tissue residues of deer fed dieldrin.

J. Wildlife Managem. 34:887-903

Murphy, R.S., F.W. Kurtz and S.C. Strassman (1983)

Selected pesticide residues or metabolites in blood and urine specimens from a general population survey.

Environ. Health Perspect. 48:81-86

Saxena, M.C., M.K.J. Siddiqui, A.K. Bhargava et al. (1981)

Placental transfer of pesticides in humans.

Arch. Toxicol. 48:24-32

Saxena, M.C., M.K.J. Siddiqui, V. Agarwal and D. Kuntty (1983)

A comparison of organochlorine insecticide contents in specimens of maternal blood, placenta and umbilical cord blood from still born and live-born cases.

J. Toxicol. Environ. Health 11:71-79

Stijkel, A., R.L. Zielhuis, M.M. Verberk en M. van de Poel-Bot

Risico's van chemische stoffen voor vrouwen in het beroep.

Literatuurstudie.

Den Haag, Min. Sociale Zaken en Werkgelegenheid, Stafafd. Externe Betrekkingen, 1983

Trapp, M., V. Baukloh, H.G. Bohnet et al. (1984)

Pollutants in human follicular fluid.

Fertility and sterility 42:146-148

Virgo, B.B. and G.D. Bellward (1975)

Effects of dietary dieldrin on reproduction in the Swiss-Vancouver (SWV) mouse.

Environ. Physiol. Biochem. 5:440-450

Vlieger, M. de, J. Robinson and M.K. Baldwin et al. (1968)

The organochlorine insecticide content of human tissues.

Arch. Environ. Health. 17:759-767

Wolff, M.S. (1983)

Occupationally derived chemicals in breast milk.

Am. J. Ind. Med. 4:259-281

#### 4.4 Lindaan

##### 4.4.1 Inleiding

In 1982 publiceerde de WHO een voorstel voor een zogenaamd Recommended Health-Based Occupational Exposure Limit voor lindaan. Aan deze publicatie worden enkele fysisch-chemische en toxicologische kenmerken ontleend. Lindaan is de naam voor het gamma-isomeer van 1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexaan ( $\gamma$ -HCH); technisch lindaan bevat hiervan minstens 99% (onzuiverheden; met name isomeren van HCH). Soms wordt abusievelijk de naam  $\gamma$ -benzeen hexachloride gebruikt ( $\gamma$ -BHC). Het is een der organische gechloreerde insecticiden (OCI). Naast het  $\gamma$ -isomeer komen ook  $\alpha$ - en  $\beta$ -isomeren voor.

##### 4.4.2 Discussie dierproefgegevens

###### 4.4.2.1 Speciesverschillen

De meeste studies zijn uitgevoerd met ratten, enkele met konijnen, hamsters, honden of zeugen. De dosering geschiedde steeds oraal. Er zijn te weinig gegevens om een duidelijke soortspecificiteit ten aanzien van effecten als gevolg van de toediening van lindaan te kunnen herkennen.

###### 4.4.2.2 Kwaliteit van de experimenten

Van enige studies, vooral Oosteuropese, ontbreken essentiële gegevens. Een van deze studies (Naishtein en Leibovitch, 1971) geeft een zeer lage NAEL aan; factor 100 lager dan in de min of meer vergelijkbare studies van Palmer et al. 1978 werd vastgesteld. De resultaten van dit experiment zijn moeilijk te evalueren en zullen dan ook buiten beschouwing gelaten worden bij het vaststellen van de NAEL.

###### 4.4.2.3 Lindaangehalte in bloed, melk en weefsels bij zeugen

In een reproductiestudie met zeugen zijn lindaangehaltes bepaald in bloed, melk en enige weefsels zoals onderhuids vet. Uit deze studie bleek dat bij een inname van 3,5 of 7 mg/kg lindaan tijdens de dracht het lindaangehalte in het moederlijk bloed respectievelijk 10 of 44  $\mu\text{g/l}$  bedroeg (controlewaarde 3  $\mu\text{g/l}$ ) en bij de nakomelingen respectievelijk 16 of 112  $\mu\text{g/l}$

(controlewaarde  $<1 \mu\text{g/l}$ ). Tijdens een lactatieperiode van 10 dagen bedroeg het linaangehalte in moederlijk bloed bij een inname van 1,4 of 14 mg/kg respectievelijk 12 of 106  $\mu\text{g/l}$  en in de melk respectievelijk 22 of 227 mg/l op vetbasis.

Bij een vetgehalte van 5,6% komt dit neer op respectievelijk 1,2 of 12,7 mg/l in totale melk. De ratio bloed/moedermelk is dus bij zeugen circa 1/100. Bij de mens wordt een factor 5 aangegeven.

Lindaan hoopt zich vooral op in onderhuids vet, zo is bij zeugen gebleken. De halfwaardetijd in vet is langer dan in andere weefsels, zoals hersenen, spier en lever.

#### 4.4.2.4 Effecten

In de moederdieren zijn effecten gezien zoals sterfte, verminderde fertiliteit, groeivertraging en resorpties. In de nakomelingen werd foetale sterfte, verlaagd foetgewicht, prematuur geopende ogen, vertraging in de ontwikkeling van de schedelbeenderen, verlate menarche en verlengde anoestrus waargenomen.

#### 4.4.3 Conclusie dierexperimenten

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit kan geconcludeerd worden dat op basis van de literatuur de NAEL voor fertiliteitseffecten is vast te stellen op 5 mg/kg per dag (rat, 90 dagen oraal, Trifonova et al., 1970).

Wat betreft risico's voor geslachtsorganen en endocrien systeem kan geen uitspraak gedaan worden wegens gebrek aan gegevens.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd dat bij doseringen van 7,5 mg/kg/dag en hoger, effecten optreden variërend van foetale sterfte tot verlaagd foetgewicht en vertraging in de ontwikkeling van de foeten. De NAEL kan vastgesteld worden op 5 mg/kg/dag (rat, dag 6-16 van de dracht, oraal, Palmer et al., 1978). Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht blijkt dat effecten kunnen optreden zoals verlate menarche, langere anoestrus en groeivertraging van de nakomelingen.

Echter, aangezien de gegevens afkomstig zijn uit een summier citaat in de EPA kan op basis hiervan geen betrouwbare NAEL ten aanzien van risico's voor het nageslacht vastgesteld worden.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren ten aanzien van drachtigheid blijkt dat de NAEL hoger is dan 4 mg/kg lichaamsgewicht (drie generatieproef, rat, 3 keer 60 dagen oraal, Palmer et al., 1978).

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat op basis van de thans beschikbare literatuur een NAEL van lindaan in ratten op 5 mg/kg lichaamsgewicht geplaatst kan worden. Hierbij dient dan echter wel aangetekend te worden dat er wat betreft de evaluatie van de risico's na blootstelling van vrouwelijke dieren te weinig gegevens beschikbaar zijn ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en nageslacht; voor wat betreft de risico's bij blootstelling van alleen mannelijke dieren kan geen uitspraak worden gedaan, aangezien hier geen gegevens over gevonden zijn.

#### 4.4.4 Discussie en conclusie humane gegevens

##### 4.4.4.1 Met betrekking tot de analyse kwaliteit

Met name de bij de niet-beroepshalve blootgestelde personen gaat het vaak om lage concentraties. Er bleken soms onverklaarbare verschillen in de zogenaamde controlewaarden te bestaan bij onderzoeken door dezelfde groep in hetzelfde land. Door het ontbreken van gegevens over de juistheid en de precisie van de analysemethoden moeten de gegeven waarden met reserve beschouwd worden. Wellicht geven vooral de relatieve resultaten per onderzoek enig inzicht in de eventuele gezondheidsrisico's. Er bestaat zeker behoefte aan vergelijkend analyse-onderzoek (zie ook PCB).

##### 4.4.4.2 Met betrekking tot de blootstelling

In vergelijking met dieldrin en PCB's is de halfwaardetijd van lindaan in bloed en weefsels aanzienlijk korter. Dit leidt tot geringe cumulatie en tot lagere concentraties in weefsels, bloed en moedermelk bij gelijke dagelijkse opname dan bij dieldrin en PCB.

Er bestaan enkele gegevens over concentraties in weefsels, bloed en moedermelk, en dan slechts bij beroepshalve blootgestelde mannen (bij expositie aan  $0,15 \text{ mg/m}^3$ ,  $64 \pm 54 \text{ } \mu\text{g/l}$  bloed) en/of niet-beroepshalve blootgestelde vrouwen. De ratio tussen de concentratie in moedermelk en bloed is voor lindaan niet bekend, vermoedelijk zal deze 4 à 5 zijn.

De huidige MAC in Nederland is  $0,5 \text{ mg/m}^3$ . Er is geen onderzoek gevonden zoals bij dieldrin naar het verband tussen de dagelijkse inneming en het gehalte in bloed. Tijdens de arbeid bij een blootstelling beneden de MAC werden bij werknemers gehalten gemeten van gemiddeld  $64 \text{ } \mu\text{g/l}$ , met een spreiding tot boven de  $100 \text{ } \mu\text{g/l}$ . Uitgaande van een gelijke waarde bij vrouwen als bij mannen en van een factor 5 tussen de concentratie in moedermelk en bloed van 5 zal bij een gemiddeld gehalte in bloed van  $50 \text{ } \mu\text{g/l}$  (blootstelling beneden de MAC-waarde) het gehalte in moedermelk gemiddeld  $250 \text{ } \mu\text{g/l}$  bedragen. Dit komt voor een zuigeling van 5 kg, die 700 ml melk per dag drinkt, neer op  $175 \text{ } \mu\text{g}$  per dag, dat is  $35 \text{ } \mu\text{g/kg}$  lichaamsgewicht. Een ADI bestaat er momenteel niet; de dosis van  $35 \text{ } \mu\text{g/kg}$  is overigens 7 maal hoger dan de ADI in 1972 door de Gezondheidsraad voorgesteld, welke overigens niet meer wordt aangehouden.

#### 4.4.4.3 Met betrekking tot het onderzoek naar effecten

Onderzoek naar reproductierisico's bij beroepshalve blootgestelde mannen of vrouwen is niet gevonden, behalve één onderzoek naar de invloed op het reproductiesysteem bij vrouwen (menstruatiestoornis) waaruit geen verantwoorde conclusies getrokken konden worden. Uit onderzoek bij niet-beroepshalve blootgestelde vrouwen werd geconcludeerd dat, indien er al een nadelige invloed op zwangerschapsverloop en nageslacht bij blootstelling aan OCI's zou bestaan, lindaan hier waarschijnlijk hoogstens een bijrol zou spelen.

Volgens onderzoek in Zweden zou bij werknemers met gemiddeld  $15 \text{ } \mu\text{g/l}$  bloed reeds enzyminductie opgetreden zijn. In hoeverre zo'n enzyminductie de hormonale balans bij mannen en vrouwen verstoort, is niet bekend.

#### 4.4.5 Samenvatting en evaluatie

Er is duidelijk aangetoond dat zowel bij dier als mens lindaan in de moedermelk terecht kan komen. De bloed-melk ratio zou tussen mens en dier aanmerkelijk kunnen verschillen. Er zijn zwakke aanwijzingen dat lindaan



effect zou kunnen hebben op het endocriene systeem, zoals is gebleken uit verschillende Oosteuropese dierexperimentele studies. Uit de zeer beperkte gegevens betreffende humane studies zijn geen verantwoorde conclusies te trekken.

Lindaan kan relatief gemakkelijk de placenta passeren, zoals is gebleken uit zowel dierproeven als uit humane studies.

Lindaan kan bij proefdieren embryotoxisch zijn, hetgeen tot uiting komt in een laag geboortegewicht, verhoogde peri- en postnatale sterfte, en verminderde postnatale groei. Van een teratogene werking is in dierexperimenten niets gebleken. Er zijn te weinig gegevens om een NAEL vast te stellen voor alle risico's, ten aanzien van dracht en nageslacht; er zijn echter een aantal, deels langdurige studies op grond waarvan uitgegaan mag worden van een (voorlopige) NAEL van 5 mg/kg lichaamsgewicht per dag.

Ten aanzien van de ADI (5  $\mu$ g/kg lichaamsgewicht per dag) zoals in 1972 werd voorgesteld door de Gezondheidsraad is er geen aanleiding tot wijziging. Uitgaande van een NAEL van 5 mg/kg, zou de MAC uitkomen op 0.4 mg/m<sup>3</sup>, wat ongeveer gelijk is aan de huidige MAC (1986) van 0.5 mg/m<sup>3</sup>.

#### 4.4.6 Literatuur

Naishtein, S.Y. and D.L. Leibovich (1971)

Effect of small doses of DDT and lindane and their mixture on sexual function and embryogenesis in rats.

Hyg. Sanit. 36:190-195

Palmer, A.K., D.D. Cozens, E.J.F. Spicer et al. (1978)

Effects of lindane upon reproductive function in a 3-generation study in rats.

Toxicol. 10:45-54

Trivonova, T.K. (1970)

Role of pesticides in animal sterility.

Veterinariya (Moscow) 4:73-75

#### 4.5 2,4-D en 2,4,5,-T

##### 4.5.1 Inleiding

2,4-D (2,4-dichloorfenoxyazijnzuur) en 2,4,5-T (2,4,5-trichloorfenoxyazijnzuur) zijn herbicides. Uitgangspunt voor de synthese van 2,4,5-T is trichloorfenol. Bij de produktie wordt TCDD (2,3,7,8-tetrachloordibenzo-dioxine) als contaminant gevormd. De concentratie TCDD in 2,4,5-T kan nogal variëren (tot 80 ppm), afhankelijk van de wijze van produktie. Sinds TCDD berucht is geworden om zijn hoge acute toxiciteit heeft men geprobeerd de concentratie TCDD sterk terug te dringen (concentraties nu < 0.1 ppm). Vaak is 2,4,5-T in een combinatiepreparaat verwerkt. Het bekendste is "Agent Orange", toegepast als ontbladeringsmiddel in de oorlog in Vietnam. Dit preparaat bestond voor 50% uit 2,4,5-T en voor 50% uit 2,4-D, waarbij 2,4,5-T gecontamineerd was met 0.05-47 ppm TCDD (Hay, 1979) afhankelijk van de producent. Uitgangspunt voor de synthese van 2,4-D is 2,4-dichloorfenol. 2,4-D (dichloorfenoxyazijnzuur) is niet gecontamineerd met TCDD, wel met di- en tri-PCDD en PCDF (mate van contaminatie niet bekend. Zie voor de toxiciteit van PCDF bij PCB's). 2,4-D wordt in het milieu vrij snel afgebroken door hydrolyse, fotolyse en biologische processen. Er vindt geen bioconcentratie plaats (WHO, 1984). Bij de afbraak van 2,4-D ontstaat dichloorfenol. Gezien de onaangename geur bij lage concentraties zal consumptie van verontreinigd drinkwater niet snel plaats vinden. De WHO geeft ook een overzicht van residu gegevens van 2,4-D. Zij concludeert dat in commercieel verbouwd voedsel minder dan 1 mg residuen van 2,4-D per kg voedsel zal voorkomen, met uitzondering van lever en nieren (maar lever en nieren dragen weinig bij aan het totale voedselpakket van de algemene bevolking. Grant (1979) vermeldt dat tussen 1962 en 1971 ongeveer 40.000.000 kg Agent Orange is besproeid over meer dan 10% van het totale landoppervlak van Vietnam. De meeste toepassing vond plaats tussen 1967 en 1969. Het aantal blootgestelde Amerikaanse Vietnamsoldaten schatte hij op 2,4 tot 2,8 miljoen. Het aantal werkelijk blootgestelden Vietnamsoldaten zou echter onbekend zijn.

Bij de selectie van de literatuur hebben we ons beperkt tot gegevens over 2,4-D en 2,4,5-T al dan niet gecontamineerd en al dan niet voorkomend in een combinatiepreparaat, zoals "Agent Orange". Niet meegenomen zijn de gegevens over TCDD, trichloorfenol of dichloorfenol als er geen sprake was van blootstelling aan 2,4-D of 2,4,5-T.

De humane toxiciteitsgegevens hebben ten dele betrekken op blootstelling van de algemene bevolking en ten dele op blootstelling tijdens beroepsarbeid. Bij de gegevens over de algemene bevolking is niet duidelijk of de eventuele effecten op het nageslacht via de man of via de vrouw kunnen zijn veroorzaakt. Een belangrijke beperking bij het gebruik van gegevens van de algemene bevolking ook ten aanzien van militairen is dat betrouwbare gegevens over blootstellingsniveaus ontbreken, nodig voor het opstellen van expositie-effect relaties en voor een nauwkeurige afbakening van de risicogroep. Ook ontbreekt vaak een goed vergelijkbare controlegroep.

In de literatuurstudie naar de risico's van 2,4-D en 2,4,5-T op basis van dierproeven zijn alleen die studies beschreven die minder dan 0,5 ppm TCDD verontreiniging bevatten. Buiten beschouwing zijn gebleven de studies met > 0.5 ppm TCDD of met onbekende hoeveelheden TCDD. Ook die experimenten waarin esters van 2,4-D of 2,4,5-T zijn onderzocht zijn buiten beschouwing gebleven.

De huidige MAC (1986) voor 2,4,5-T bedraagt 10 mg/m<sup>3</sup>. Overigens is sinds 1978 de productie en het gebruik van 2,4,5-T verboden.

De MAC voor 2,4-D bedraagt eveneens 10 mg/m<sup>3</sup>. 2,4-D wordt veel gebruikt in de Nederlandse landbouw.

#### 4.5.2 Discussie dierproefgegevens

##### 4.5.2.1 Zuiverheid van de teststof

Bij de discussie over de effecten op de reproductie van 2,4,5-T speelt de contaminatie met TCDD van de geteste monsters bij proefdieren een belangrijke rol. Deze verontreiniging is meestal bekend en kan variëren van 0,03 ppb tot ca. 30 ppm. In het hier weergegeven literatuuroverzicht zijn studies met contaminatie > 0,5 ppm buiten beschouwing gebleven. Het is echter niet uitgesloten dat ook concentraties TCDD < 0,5 ppm reproductie-effecten kunnen induceren.

Illustratief hiervoor is vooral de studie van Neubert en Dillman (1972), waarin minder frequent gespleten verhemelte gezien werd in een monster met 0,02 ppm TCDD dan in een monster met 0,05 ppm TCDD.

#### 4.5.2.2 Kwaliteit van de experimenten

Alhoewel de kwaliteit van de studies in de meeste gevallen acceptabel werd bevonden, bleek dat ten aanzien van langdurige blootstellingen duidelijk een leemte bestond ten aanzien van het aantal beschikbare studies.

Bij de meeste proeven is de blootstellingsperiode beperkt tot de periode van organogenese tijdens de dracht. In de literatuur wordt zowel voor 2,4,5-T als voor 2,4-D melding gemaakt van slechts één 3-generatieproef met ratten (Smith et al., 1981). Het merendeel van de proeven geschiedde door middel van orale toediening, vaak door middel van een maagsonde. In enkele studies werd sub-cutaan of intraperitoneaal gespoten. Studies waarbij blootstelling via inhalatie werd toegepast, werden niet gevonden. Er werden geen gegevens vermeld betreffende de gehalten van 2,4-D of 2,4,5-T in bloed, weefsels en moedermelk.

#### 4.5.2.3 Soortspecificiteit

Er zijn veel proeven uitgevoerd met muizen, verschillende met ratten en enkele met apen, konijnen of hamsters.

Bij muizen en hamsters zijn naast verschillende embryotoxische effecten ook teratogene effecten gesignaleerd. Bij ratten zijn wel embryotoxische effecten gezien, maar geen teratogene effecten. Bij konijnen en apen werden geen schadelijke effecten waargenomen.

#### 4.5.2.4 Effecten

Uit de schaarse gegevens wat betreft de fertiliteit blijkt geen duidelijk effect van 2,4,5-T, van 2,4-D zijn geen fertiliteitsstudies bekend. Met 2,4,5-T wordt embryotoxiciteit zoals embryoletaliteit, vermindering van het aantal implantaties, kleinere nesten en verlaagde foetgewichten veelvuldig waargenomen bij diverse species. Ook 2,4-D kan dergelijke effecten induceren, zoals in enige studies is gezien. Vooral bij muizen wordt ook teratogeniteit waargenomen voornamelijk bestaande uit gespleten verhemelte, abnormale sternebrae en andere skeletafwijkingen. Het is niet goed mogelijk om de schadelijke effecten op voortplanting en nageslacht van 2,4-D en 2,4,5-T te vergelijken omdat er weinig studies met 2,4-D zijn uitgevoerd.

#### 4.5.3 Conclusie dierproefgegevens

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan.

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid kan worden geconcludeerd dat 2,4,5-T groeivertraging van de moederdieren induceert na toediening van 90 mg/kg/dag en meer. Gedurende de prenatale ontwikkeling worden zowel met 2,4-D als met 2,4,5-T embryotoxische effecten gezien, zoals foetale sterfte en verlaagde foetgewichten. Bij muizen en hamsters zijn ook teratogene effecten waargenomen, met name gespleten verhemelte, abnormale sternbrae en andere skeletafwijkingen. De NAEL voor 2,4,5-T kan worden vastgesteld op 8 mg/kg/dag toegediend gedurende dag 6-15 van de dracht bij de muis (Neubert en Dillman, 1972). Voor 2,4-D kan deze worden vastgesteld op 12.5 mg/kg/dag, rat, dag 6-15 van de dracht (Khera en McKinley, 1972).

Met betrekking tot risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht kan worden geconcludeerd dat bij hoge doseringen postnatale sterfte kan optreden. De NAEL van 2,4,5-T is vastgesteld op 20 mg/kg/dag toegediend gedurende de organogenese bij de muis. (Beck, 1981). Gegevens over 2,4-D ontbreken.

Met betrekking tot de risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit en ten aanzien van drachtigheid bij de partner en prenatale ontwikkeling is er bij gebrek aan gegevens geen NAEL vast te stellen.

Wat betreft de risico's bij blootstelling van zowel mannelijke als vrouwelijke dieren (mating partners) ten aanzien van het nageslacht kan worden geconcludeerd dat 2,4,5-T (met zeer geringe contaminatie TCDD van 0,03 ppb) pupsterfte induceert bij doseringen van 10 mg/kg/dag en hoger. De NAEL kan worden vastgesteld op 3 mg/kg lichaamsgewicht per dag in een 3-generatieproef met ratten (Smith et al., 1981). 2,4-D veroorzaakt eveneens verhoogde pupsterfte, de NAEL bedraagt 37.0 mg/kg in een drie-generatieproef (Smith et al., 1981).

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat met betrekking tot alle genoemde risico's op basis van de thans beschikbare literatuur de NAEL voor 2,4,5-T kan worden vastgesteld op 3 mg/kg/dag op basis van een studie met ratten na orale blootstelling gedurende drie generaties. Voor 2,4-D kan een NAEL worden vastgesteld op 12.5 mg/kg op basis van een studie met ratten blootgesteld gedurende dag 6-16 van de dracht. Echter, voor wat betreft risico's voor geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit kan geen NAEL worden vastgesteld vanwege het ontbreken van adequate studies.

#### 4.5.4 Discussie en conclusie humane gegevens

##### 4.5.4.1 Beschikbare literatuur

Voor het merendeel hadden we de beschikking over omgevingsstudies waarbij zowelde man als de vrouw blootgesteld is (3.8, n=16). Daarnaast had een aantal studies betrekking op blootstelling van de man en effecten op de zwangerschap en het nageslacht (3.6/3.7 n=13). Geen gegevens zijn gevonden over beroepsmatige blootstelling van vrouwen aan 2,4,5-T of 2,4-D.

##### 4.5.4.2 Blootstellingsgegevens

###### kwalitatief

Een deel van de literatuur had betrekking op blootstelling aan herbiciden, met name 2,4,5-T, een ander deel op Agent Orange (50% 2,4,5-T, 50% 2,4-D en contaminaties TCDD en PCDF). Geen studies zijn gevonden over 2,4-D apart in relatie tot reproductieeffecten.

Zo er al een relatie te vinden is tussen bovengenoemde gecombineerde blootstellingen en de zwangerschapsuitkomst dan kan men nog niets zeggen over de effecten van de afzonderlijke stoffen oftewel: is 2,4,5-T, 2,4-D, TCDD of PCDF verantwoordelijk voor het effect, of juist de combinatie?

Overigens is de contaminatie van 2,4,5-T met TCDD sinds de Vietnamoorlog in de meeste landen aanzienlijk teruggedrongen door een gewijzigd productieproces (80 ppm naar < 0.1 ppm). Voor de Nederlandse situatie zouden studies over 2,4-D apart het meest informatief zijn aangezien voor 2,4,5-T zowel een verbod op productie als op gebruik geldt.

### kwantitatief

In geen enkele studie is de mate van blootstelling bekend. In een aantal gevallen is die geschat. In een studie is een vergelijking gemaakt tussen de door personen zelf geschatte blootstelling en de schatting van het leger. Door het ontbreken van betrouwbare blootstellingsgegevens is het goed mogelijk dat cohort en controles niet duidelijk af te bakenen zijn. In slechts enkele studies is het tijdstip van blootstelling in relatie tot de conceptie en de zwangerschap betrokken.

#### 4.5.4.3 Onderzoeksopzet

Sommige studies vormen een bundeling van mensen (cases) met klachten ten aanzien van hun eigen gezondheid of die van hun nageslacht. Deze studies laten op zich geen conclusies toe vanwege selectiebias.

Relatief weinig is gebruik gemaakt van de case-control opzet, hoewel die ten aanzien van aangeboren afwijkingen de meest geschikte is.

#### 4.5.4.4 Effecten

In de meeste studies ontbreken scherpe diagnostische criteria voor effecten. Vaak is gebruik gemaakt van verschillende en oude registratiesystemen, waarin nog niet gewerkt is met ICD codes.

Vermoedelijk vanwege de slechte expositiegegevens is in geen van de studies een dosis-effect relatie aangetoond. Hierdoor verliezen de gevonden effecten aan zeggingskracht als het gaat om gesuggereerde verbanden.

Externe inconsistentie voor de beschreven studies is groot. Dit betekent in dit geval waarschijnlijk echter niets anders dan dat onvergelijkbare situaties en groepen met elkaar vergeleken worden.

#### 4.5.4.5 Conclusies

Op grond van de gegevens bij mensen zijn geen algemene conclusies te trekken vanwege bovengenoemde tekortkomingen met betrekking tot blootstelling, effect en onderzoeksopzet en de mogelijk daaruit voortkomende tegenstrijdige bevindingen. Epidemiologisch onderzoek naar de effecten van 2,4-D bij mensen is noodzakelijk.

#### 4.5.5 Samenvatting en evaluatie

##### 4.5.5.1 2,4,5-T

Samenvattend kan worden gesteld dat 2,4,5-T beschouwd moet worden als een embryotoxische en teratogene stof bij proefdieren.

Ook zuiver 2,4,5-T (contaminatie < 0,03 ppb TCDD) is in staat om bij ratten effecten ten aanzien van de reproductie te veroorzaken.

Teratogeen lijkt de stof vooral bij muizen waar het onder andere gespleten verhemelte, abnormale sternbrae en andere skeletafwijkingen veroorzaakt.

De NAEL is vastgesteld op 3 mg/kg/dag, voornamelijk op grond van een 3-generatieproef in ratten, uitgevoerd door Smith et al., 1981.

Er zijn geen gegevens bij mensen gevonden over blootstelling aan zuiver 2,4,5-T. Het merendeel van de gegevens heeft betrekking op combinatiepreparaten. Contaminatie met (onbekende) hoeveelheden TCDD zal steeds aanwezig zijn. Momenteel is de mate van contaminatie van 2,4,5-T met TCDD veel lager dan in de aangehaalde literatuurstudies; in Nederland < 0,1 ppm, waardoor extrapolatie naar de huidige situatie niet zonder meer mogelijk is. Overigens zijn de literatuurgegevens summier. Dienstverband in Vietnam is niet gecorreleerd met een hogere incidentie van geboortedefecten. Er is echter geen uitspraak te doen over het al dan niet bestaan van een relatie tussen 2,4,5-T en ontwikkelingsstoornissen of tussen 2,4,5-T en overige reproductiestoornissen.

De huidige MAC waarde van 10 mg/m<sup>3</sup> ligt duidelijk boven de waarde die op grond van de hierboven genoemde NAEL vastgesteld zou kunnen worden.

##### 4.5.5.2 2,4-D

Uit de vrij beperkte literatuurgegevens blijkt dat ook 2,4-D in staat is om bij proefdieren embryotoxische en teratogene effecten, waaronder vooral skeletafwijkingen, te veroorzaken. De NAEL is vastgesteld op 12.5 mg/kg/dag, voornamelijk op grond van een teratologiestudie met ratten.

Er zijn geen gegevens bij de mens bekend over blootstelling aan zuiver 2,4-D in relatie tot reproductieeffecten. Daarom zijn geen algemene conclusies te trekken met betrekking tot effecten; epidemiologisch onderzoek is noodzakelijk.

De huidige MAC waarde van 10 mg/m<sup>3</sup> ligt dicht bij de waarde die op grond van de genoemde NAEL vastgesteld zou kunnen worden.



#### 4.5.6 Literatuur

Beck, S.L. (1981)

Assessment of adult skeletons to direct prenatal exposure to 2,4,5-T or Trifluralin in mice.

Teratology 23:33-55

Grant, W.F. (1979)

The genotoxic effects of 2,4,5-T.

Mut. Res. 65:83-119

Khera, K.S. and W.P. McKinley (1972)

Pre- and postnatal studies on 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and their derivatives in rats.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 22:14-28

Neubert, D. and J. Dillmann (1972)

Embryotoxic effects in mice treated with 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 272:234-264

Smith, F.A., F.J. Murray, J.A. John et al. (1981)

Three-generation reproduction study of rats ingesting 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid in the diet.

Fd. Cosmet. Toxicol. 19:41-45

WHO

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D).

Environmental Health Criteria 29, WHO, Geneva, 1984, 151 blz.

## 4.6 Organische oplosmiddelen

### 4.6.1 Inleiding

Organische oplosmiddelen worden in veel beroepen toegepast en ook geregeld thuis gebruikt. Veel werknemers worden dan ook op het werk en thuis aan organische oplosmiddelen blootgesteld.

In dit overzicht worden styreen en zwavelkoolstof niet besproken, omdat zij maar beperkt als oplosmiddelen worden toegepast.

Meestal zijn de werknemers blootgesteld aan mengsels van oplosmiddelen. Bovendien bestaat er dan vaak ook blootstelling aan de opgeloste stof, bv. in verf en lijm.

Blootstelling vindt vooral plaats via inademing; sommige stoffen kunnen door de huid naar binnen dringen, vooral wanneer ze er als vloeistof op terecht komen. Biologische monitoring van de blootstelling via het meten van de concentratie van het oplosmiddel zelf en/of van de stofwisselingsproducten er van in uitademingslucht en/of bloed en/of urine is voor betrekkelijk veel oplosmiddelen mogelijk.

De organische oplosmiddelen worden in enkele klassen ingedeeld. De belangrijkste zijn aliphatische, alicyclische, aromatische en gechloroerde koolwaterstoffen, alcoholen, esters en ethers. Blootstelling vindt vaak plaats aan verschillende middelen met name uit een zelfde groep.

Alle organische oplosmiddelen oefenen een narcotisch effect uit op het centraal zenuwstelsel, voorts werken sommigen prikkelend op ogen en luchtwegen en allen ontvetten de huid. Deze drie typen werking worden de specifieke genoemd. Enkele oplosmiddelen oefenen echter daarnaast ook een specifieke werking uit, bv. op het perifere zenuwstelsel (met name hexaan, methyl butylketon), op bloedvormende organen (benzeen), op lever en/of nier (chloroform, tetrachloorkoolstof). Ze passeren de placenta en kunnen zodoende een direct effect op de ongeboren vrucht uitoefenen. Er wordt wel verondersteld - hoewel nog onvoldoende aangetoond -, dat er een directe en/of een indirecte werking op het endocrien systeem zou bestaan; ten gevolge van de specifieke werking op het centrale zenuwstelsel, die dan de functie van de hypofyse en indirect weer de bijnier kan beïnvloeden; op deze wijze zouden dan de functies van de geslachtsorganen en/of de ontwikkeling van de ongeboren vrucht kunnen worden verstoord. Voorts kunnen de narcotische effecten leiden tot verminderde libido en potentie. Bovendien

worden oplosmiddelen uitgescheiden met (het vet van) de moedermelk, met althans potentiële risico's van de zuigeling op borstvoeding.

#### 4.6.2 Resultaten, discussie en conclusies humane gegevens

De literatuur werd beoordeeld naar de mate van oorzakelijk verband in vier graden, volgens Hemminki en Vineis (1985):

- sterke aanwijzingen ("high level evidence")
- beperkte aanwijzingen ("limited level evidence")
- zwakke aanwijzingen ("low level evidence")
- onvoldoende aanwijzingen ("inadequate evidence")

De sterkte van het oorzakelijk verband is per kenmerk van gestoorde reproductie samengevat in Tabel 1. Beperkte aanwijzingen voor een verhoogde kans op met name menstruatiestoornissen en ontwikkelingsstoornissen bestonden er wanneer de vrouwen beroepshalve thuis aan oplosmiddelen blootgesteld waren geweest vóór respectievelijk of tijdens de eerste drie maanden van de zwangerschap. Er is vrijwel geen onderzoek verricht naar een mogelijke invloed op de zuigeling die met oplosmiddelen verontreinigde moedermelk drinkt; een mogelijke invloed op de ontwikkeling van de zuigeling is echter niet uitgesloten. Enkele malen werd vermeld dat de zuigeling de moedermelk weigerde.

Er zijn geen aanwijzingen gevonden voor effecten op de reproductieorganen en/of het nageslacht bij beroepshalve blootgestelde mannen, al kunnen bij hoge blootstelling de libido en de potentie wellicht nadelig beïnvloed worden.

Meestal waren de werknemers blootgesteld aan mengsels van oplosmiddelen, in verscheidene studies ook aan andere chemische stoffen; de gegevens over de hoogte en de duur van blootstelling waren nog al eens deficient, maar met name recente onderzoeken lieten wel een semikwantitatieve schatting van de blootstelling toe, waardoor een afschatting t.o.v. blootstelling rondom de MAC mogelijk was.

Redelijk goed uitgevoerde onderzoeken wezen op een verhoogd risico op ontwikkelingsstoornissen; het bestaan van een verhoogde kans op menstruatiestoornissen werd geconcludeerd uit 10 studies, die weliswaar grotendeels niet aan de criteria voor goed epidemiologische onderzoek voldeden, maar die toch vrijwel alle in dezelfde richting wezen.

De meerderheid van de onderzoeken was retrospectief; er is dringend behoefte aan prospectief onderzoek, waarin zowel de blootstelling als het optreden van een effect op de voortplanting eenduidig worden vastgelegd.

De meeste onderzoeken waren gericht op het opsporen van één of slechts enkele kenmerken van gestoorde reproductie. Er bestaat dringende behoefte aan (prospectief) onderzoek, waarin alle potentiële effecten op de reproductieorganen, de ongeboren vrucht en de zuigeling worden vastgelegd.

#### 4.6.3. Overzicht van de dierproefgegevens

##### Conclusie dierproefgegevens betreffende aceton

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling suggereert het enige beschikbare artikel (Nizyaeva, 1982), dat aceton embryotoxisch is, maar de beschikbare gegevens zijn onvoldoende voor een goede evaluatie. Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke en of mannelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, drachtigheid van de partner en het nageslacht kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan.

##### Conclusie dierproefgegevens betreffende tertiäre butanol

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke en of mannelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, drachtigheid, prenatale ontwikkeling, en het nageslacht kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan. Een NAEL kon niet worden vastgesteld.

##### Conclusie dierproefgegevens betreffende methylethylketon

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling zijn er aanwijzingen voor een geringe toename in het aantal ontwikkelingsstoornissen en voor een vertraging in botvorming bij foetussen van ratten, die waren blootgesteld aan 8940 mg/m<sup>3</sup> methylethylketon (Deacon, 1981). Overige beschreven waar-

nemingen met betrekking tot embryotoxiciteit en teratogeniteit bij blootstelling aan 2980 mg/m<sup>3</sup> en 8940 mg/m<sup>3</sup> zijn moeilijk te evalueren, daar de resultaten van de twee beschikbare studies tegenstrijdig zijn en de waargenomen effecten niet dosis gerelateerd bleken te zijn. Uit de schaarse gegevens, welke over methylethylketon beschikbaar zijn, blijkt dat in ratten de NAEL tenminste 1192 mg/m<sup>3</sup> is, welke waarde duidelijk hoger is dan de huidige MAC (590 mg/m<sup>3</sup>).

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke en of mannelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, en het nageslacht kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan.

#### Conclusie dierproefgegevens met betreffende tetrachloorkoolstof

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het endocrien systeem kan worden geconcludeerd dat tetrachloorkoolstof het oestogeen metabolisme beïnvloedt. Hoewel er nauwelijks voldoende gegevens zijn om een NAEL vast te stellen, lijkt voor ratten de NAEL <0.17 ml/kg en <0.5 ml/kg na respectievelijk orale en intraperitoneale toediening.

Wat betreft de risico's ten aanzien van de fertiliteit werden geen literatuur gegevens gevonden.

Slechts enkele gegevens zijn beschikbaar over de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling. Bij de enige geteste diersoort, de rat, lijkt tetrachloorkoolstof niet teratogeen, maar is mogelijk wel embryo- en foetotoxisch bij doseringen die tevens toxisch zijn voor het moederdier. Als mechanisme met betrekking tot de vastgestelde embryotoxiciteit kan mogelijk de inductie van placenta beschadiging aangemerkt worden (Barlow e.a. 1982).

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht werden geen gegevens gevonden.

Slechts één artikel werd gevonden over de risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit. Na een i.p. injectie van 3 ml/kg en een behandelingsperiode van 10 dagen werd geen significante schade op de spermatogenese geconstateerd. Echter bij een behandelingsperiode van 15 en 20 dagen konden significante effecten op de spermatogenese worden aangetoond. Bij alle drie de behandelingsperioden was het gewicht van de testis en de secundaire geslachtsorganen verminderd.

Wat betreft de risico's ten aanzien van de drachtigheid en het nageslacht na blootstelling van mannelijke dieren waren geen literatuur gegevens beschikbaar.

Wat betreft de risico's bij blootstelling van zowel vrouwelijke als mannelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en het nageslacht lijkt een dosering van 10 mg/kg lichaamsgewicht/dag, hetgeen equivalent is aan 100 ppm in het voer aanvaardbaar (Alumot e.a., 1976).

Uitgaande van een NAEL van 10 mg/kg lichaamsgewicht/dag zou de berekende opname dicht in de buurt komen van de huidige MAC waarde die 12.6 mg/m<sup>3</sup> bedraagt.

#### Conclusie dierproefgegevens betreffende cyclohexanol

Wat betreft de risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van fertiliteit kan worden geconcludeerd dat cyclohexanol door het afremmen van de spermatogenese op het niveau van de spermatocyten en spermatiden testiculaire atrofie alsmede onvruchtbaarheid veroorzaakt. De conclusie is dat de NAEL lager zal zijn dan 15 mg/kg/dag en 25 mg/kg/dag bij respectievelijk injectoire (s.c.) en orale toediening. Deze waarden liggen ver onder de huidige MAC (200 mg/m<sup>3</sup>).

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke en of mannelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, drachtigheid, prenatale ontwikkeling en het nageslacht kan bij gebrek aan voldoende gegevens geen uitspraak worden gedaan ten aanzien van de NAEL.

#### Conclusie dierproefgegevens betreffende methanol

Inhalatoire dosering van 26500 mg/m<sup>3</sup> methanol aan vrouwelijke ratten induceerde teratogene effecten (één studie). De ontwikkelingsstoornissen bestonden voornamelijk uit extra of rudimentaire ribben en urologische en cardiovasculaire defecten. De NAEL voor wat betreft fertiliteit en voortplanting kan worden vastgesteld op 6625 mg/m<sup>3</sup> (5000 ppm) (Nelson e.a. 1985).

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht kan worden vastgesteld dat in de nakomelingen blootstelling aan 2.5 g methanol/kg/dag gedurende dag 15-17 of dag 17-19 van de dracht resulteert in gedagsafwijkingen (Infurna e.a. 1986).

Beide bovengenoemde effectwaarden liggen ruim boven de huidige MAC (260 mg/m<sup>3</sup>).

### Conclusie dierproefgegevens betreffende tetrachloorethyleen

Bij gebrek aan voldoende gegevens kan geen goed onderbouwde NAEL worden vastgesteld.

De beschikbare gegevens suggereren mogelijke embryo- en fetotoxiciteit bij muizen en ratten bij een concentratie welke ook hepatotoxiciteit induceert bij de moederdieren (muis, 2055 mg/m<sup>3</sup>). Vertraagde groei van de foetus en teratogene effecten werden waargenomen bij ratten, welke blootgesteld waren aan hogere doseringen (6852 mg/m<sup>3</sup>). Verder zijn er postnatale effecten gerapporteerd bij ratten blootgesteld aan 6166 mg/m<sup>3</sup>. Deze effecten werden niet waargenomen bij een blootstelling aan 685 mg/m<sup>3</sup>. De huidige MAC bedraagt 240 mg/m<sup>3</sup>, duidelijk onder de NAEL.

De conclusie is dat ten aanzien van de fertiliteit en de voortplanting de NAEL lager zal zijn dan 2055 mg/m<sup>3</sup> (300 ppm).

### Conclusie dierproefgegevens betreffende trichloorethyleen

Literatuur gegevens ontbreken voor wat betreft de risico's ten aanzien van de geslachtsorganen en het endocrien systeem na blootstelling van vrouwelijke dieren.

Er zijn geen indicaties dat blootstelling aan trichloorethyleen de fertiliteit beïnvloedt (inhalatie studie met 9630 mg/m<sup>3</sup>, en een 3 weken orale studie met maximaal 1000 mg/kg/dag; beide in de rat).

De beschikbare gegevens voor wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling zijn tegenstrijdig. Schwetz e.a. (1975) konden geen enkel ongunstig effect aantonen bij ratten en muizen, welke waren blootgesteld aan 1605 mg/m<sup>3</sup> gedurende dag 6-15 van de dracht. Healy e.a. (1982) echter rapporteerde dat bij ratten (niet bij muizen), blootgesteld aan 535 mg/m<sup>3</sup> gedurende dag 8-21 van de dracht, een reductie in het gewicht van de foetus en een toename in het aantal resorpties voorkwam. Door Dorfmueller e.a. (1979) werd geen enkel effect gerapporteerd met betrekking tot het gewicht van de foetus of de mate van intra-uteriene sterfte na blootstelling van ratten aan 9630 mg/m<sup>3</sup> gedurende dag 1-20 van de dracht.

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het nageslacht rapporteerden Dorfmueller e.a. (1979) effecten op de postnatale groei na inhalatoire blootstelling van ratten aan 9630 mg/m<sup>3</sup> gedurende 22 dagen voorafgaande aan de paring en/of gedurende de dracht,

terwijl Manson e.a. (1984) een toename in neonatale sterfte hebben gerapporteerd na toediening van een orale dosis van 1000 mg/kg/dag.

De beschikbare gegevens doen veronderstellen dat trichloorethyleen bij doseringen die (beperkte) toxiciteit bij de moederdieren induceren geen nadelig effect uitoefent op de fertiliteit en de worp-grootte.

Wat betreft risico's bij blootstelling van mannelijke dieren duiden de drie beschikbare studies erop, dat trichlooroethyleen (bij een dosering van 1000 mg/m<sup>3</sup>) minimale effecten heeft op de spermatogenese.

Verder onderzoek is noodzakelijk om een goed onderbouwde NAEL voor trichloorethyleen te kunnen vaststellen.

De huidige MAC waarde bedraagt 190 mg/m<sup>3</sup>. De concentraties die effecten in proefdieren induceren liggen hier ver boven.

#### Conclusie dierproefgegevens betreffende xyleen

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van drachtigheid en prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd dat xyleen embryotoxisch is bij inhalatoire toediening: xyleen induceert pre- en postimplantatieverlies, verlaging van het foetusgewicht en vertraging in de foetale groei. Verder zijn na orale toediening in de muis ook teratogene verschijnselen (o.a. gespleten verhemelte) waargenomen.

Inhalatoire blootstelling aan 50 mg/m<sup>3</sup> xyleen bleek reeds in staat te zijn de ontwikkeling van de F1-generatie te vertragen (Mirkova e.a. 1983). Hoewel van de drie isomeren van xyleen, paraxyleen het minst toxisch voor drachtige dieren lijkt te zijn, induceert het embryotoxiciteit bij lagere doseringen dan de twee andere isomeren (ortho- en metaxyleen) (Ungvary e.a. 1979; Barlow e.a. 1982). Er zijn niet voldoende literatuurgegevens aanwezig om een goed onderbouwde NAEL te geven voor elk van de drie afzonderlijke isomeren. Voorlopig kan de NAEL voor orthoxyleen worden vastgesteld op ongeveer 300 mg/kg/dag (bij orale toediening) of minder dan 150 mg/m<sup>3</sup>/24h (bij inhalatoire toediening). Voor metaxyleen kan de NAEL mogelijk vastgesteld worden op 7500 mg/kg/dag (bij orale toediening) of op ongeveer 1500 mg/m<sup>3</sup>/24h (bij inhalatoire toediening). Voor paraxyleen kan de NAEL mogelijk worden vastgesteld op 300 mg/m<sup>3</sup>/dag (bij orale toediening) of minder dan 150 mg/m<sup>3</sup>/24h (bij inhalatoire toediening). Voor een mengsel van de drie xyleen isomeren lijkt de NAEL bij s.c. injectie 0.15 g/kg te zijn. Deze waarde is echter twijfelachtig gezien de gebrekkige wijze van rapportage van de betreffende studie. Bij orale, respectievelijk inhalatoire toediening



lijkt de NAEL voor een mengsel van de drie xyleen isomeren respectievelijk 1030 mg/kg/dag, en 10 mg/m<sup>3</sup>/dag te zijn.

Daar er echter niet voldoende gegevens werden gevonden om een goed onderbouwde NAEL vast te stellen voor elk van de drie xyleen isomeren afzonderlijk, maar ook niet voor een xyleen mengsel, en bovendien blootstelling op de werkplek zal plaats vinden aan mengsels, waarvan de samenstelling onbekend is, lijkt het aanvaardbaar de NAEL voor xyleen vast te stellen op de laagst mogelijk waarde, welke in de literatuur wordt genoemd: bij orale toediening 300 mg/kg/dag, en bij inhalatoire toediening 10 mg/m<sup>3</sup>/dag. Deze waarden liggen onder de huidige MAC (435 mg/m<sup>3</sup>). Daarom is er dringend behoefte aan aanvullend onderzoek. Het verdient aanbeveling om de huidige MAC te heroverwegen.

#### 4.6.4 Samenvattende conclusies betreffende de humane en diergegevens

Hoewel de beschikbare dierproefgegevens zowel kwalitatief als kwantitatief nauwelijks geschikt zijn om een zorgvuldige evaluatie te kunnen maken voor wat betreft de risicoschatting ten aanzien van de fertiliteit en voortplanting van de mens, kunnen de volgende opmerkingen worden gemaakt:

1. Bij de evaluatie van de humane gegevens met betrekking tot vrouwen blootgesteld aan oplosmiddelen wordt geconcludeerd dat er onvoldoende gegevens zijn om aan te tonen dat er een toegenomen risico bestaat voor onvruchtbaarheid. Ook het vóórkomen van endocriene effecten na blootstelling aan oplosmiddelen kon niet worden vastgesteld. Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van het endocriene systeem en fertiliteit bleken er zeven studies beschikbaar. Eén studie met paraxyleen en drie studies met tetrachloorkoolstof tonen effecten op het endocriene systeem aan, terwijl een beperkte studie met tetrachloroethyleen dit niet kon bevestigen. De resultaten van twee studies met trichloorethyleen geven geen aanwijzingen, dat trichloorethyleen invloed heeft op de fertiliteit. Echter, de beschikbare dierproefgegevens zijn niet voldoende om enige conclusies te trekken met betrekking tot een mogelijk toename van verstoringen in het endocriene systeem of fertiliteit na blootstelling van vrouwelijke dieren aan oplosmiddelen.

2. De beschikbare dierproefgegevens over xyleen, tetrachloorkoolstof, trichloorethyleen, tetrachlooroethyleen, en de nog bescheidener gegevens over 2-butanone, methanol en aceton duiden erop dat blootstelling aan oplosmiddelen kan leiden tot pre- en postimplantatie verlies, vertraagde groei van de foetus en zelfs tot teratogene effecten. De resultaten van de dierproefgegevens komen vrij redelijk overeen met de humane gegevens over spontane abortus en congenitale misvormingen.
3. De aanwezige gegevens tonen voldoende duidelijk aan, dat oplosmiddelen worden uitgescheiden in de moedermelk. Helaas zijn er geen betrouwbare gegevens aanwezig over de mogelijke gezondheidsrisico's voor de zuigeling. Meer studie onder zuigelingen is dan ook noodzakelijk. Ook zijn er over dit onderwerp helaas geen dierproefgegevens bekend.
4. Daar er slechts enkele studies werden gevonden met betrekking tot de gevolgen van blootstelling van mannelijke dieren aan oplosmiddelen voor wat betreft de fertiliteit en de voortplanting kunnen de risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van geslachtsorganen, endocriene systeem, fertiliteit, drachtigheid van de partner en het nageslacht niet voldoende worden geëvalueerd.
5. Blootstelling op de werkplek geschiedt doorgaans niet aan één enkel oplosmiddel, maar aan mengsels van onbekende samenstelling. De oplosmiddelen welke het meest worden genoemd in de humane literatuur zijn xyleen, aceton, butyl acetate (geen dierproefgegevens beschikbaar), methanol, ethylacetate, (geen dierproefgegevens beschikbaar) en butanol. Uit deze literatuur studie is gebleken, dat er een aanzienlijk gebrek aan informatie bestaat ten aanzien van de effecten van genoemde oplosmiddelen, op de fertiliteit en voortplanting van de mens zowel als het proefdier. Van de genoemde oplosmiddelen is alleen xyleen redelijk onderzocht in dierproeven. Aangezien humane blootstelling aan een aantal organische oplosmiddelen zeer algemeen is, en er op basis van humane- en dierproefgegevens tenminste aanwijzingen bestaan, dat blootstelling aan oplosmiddelen mede de oorzaak kan zijn van prenatale sterfte (abortus) en ontwikkelingsstoornissen, wordt aanbevolen om additioneel dierexperimentele onderzoek te laten uitvoeren met een aantal algemeen gebruikte oplosmiddelen. Ook de effecten van blootstelling aan een combinatie van oplosmiddelen zal op fertiliteit en voortplanting bij proefdieren dienen te worden onderzocht.

#### 4.6.5 Literatuur

Alumot, E., E. Nachtomi, E. Mandel and P. Holsten (1976)

Tolerance and acceptable daily intake of chlorinated fumigants in the rat diet.

Food and Cosmetics Toxicology 14:105-111

Barlow, S.M. and F. Sullivan (1982)

Reproductive hazards of industrial chemicals; an evaluation of animal and human data.

London, Academic Press

Contaminantenboekje

Een overzicht van stoffen die drink- en eetwaren verontreinigen.

"s-Gravenhage, Staatsuitgeverij (1984)

Deacon, M.M., M.D. Pilny, J.A. John, B.A. Schwetz, F.J. Murray, H.O. Yakel en R.A. Kuna (1981)

Embryo- and fetotoxicity of inhaled methylethylketone in rats.

Tox. Appl. Pharmacol. 59: 620-622

Dorfmueller, M.A., S.P. Henne, R.G. York, R.L. Bornschein and J.M. Manson (1979)

Evaluation of teratogenicity and behavioral toxicity with inhalation exposure of maternal rats to trichloroethylene.

Toxicology 14:153-166

Healy, T.E.J., T.R. Poole and A. Hopper (1982)

Rat fetal development and maternal exposure to trichloroethylene 100 p.p.m..

Br. J. Anaesth 54:337-341

Hemminki, K. and P. Vineis (1985)

Extrapolation of the evidence of teratogenicity of chemicals between humans and experimental animals: chemicals other than drugs.

In: Teratogenesis, carcinogenesis and mutagenesis.

New York, Alan Liss Inc., p. 251-318

Infurna, R. and B. Weiss (1986)

Neonatal behavioral toxicity in rats following prenatal exposure to methanol.  
Teratology 33:259-265

Little, R.E., R.L. Asker, P.D. Sampson et al. (1986)

Fetal growth and moderate drinking in early pregnancy.  
Am. J. Epidemiol. 123:270-278

Mamelle, N., B. Loumon and P. Lasser (1984)

Prematurity and occupational activity during pregnancy.  
Am. J. Epidemiol. 119:309-322

Manson, J.M., M. Murphy, N. Richdale and M.K. Smith (1984)

Effects of oral exposure to trichloroethylene on female reproductive function.  
Toxicology 32, 229-242

Mirkova, E., Chr. Zaikov, G. Antov, A. Mikhailova, L. Khinkova and  
I.V. Benchev (1983)

Prenatal toxicity of xylene.  
Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology 27 (3):337-343

Nizyaeva, I.V. (1982)

On hygienic assessment of acetone (in Russian).  
Gig. Tr. Zabo. 6:24-28

Nelson, B.K., W.S. Brightwell, D.R. MacKenzie, A. Khan, J.R. Burg, W.W. Weigel  
and P.T. Goad (1985)

Teratological assessment of methanol and ethanol at high inhalation levels in  
rats.  
Fundamental and Applied Toxicology 5:727-736

Schwetz, B.A., B.K.J. Leong and J. Gehring (1975)

The effect of maternally inhaled trichloroethylene, perchloroethylene, methyl  
chloroform and methylene chloride on embryonal and fetal development in mice  
and rats

Toxicology and Applied Pharmacology 32, 84-96

Slob, B.

Zwangerschap en arbeidsbelasting (Pregnancy and work load).

Voorburg, Directoraat-Generaal van de Arbeid, 1986; report S-26, in Dutch

Ungvary, G., E. Tatrai, A. Hudak, G. Barcza and M. Lorincz (1979)

Study on the embryotoxic effect of para-xylene.

Egeszsegtudomány 23 (2):152-158

WHO

Organohalogen compounds in human milk.

WHO-Eur. ICP/CEH/nr. 05/76191 (1985)

Tabel 1 - Aanwijzingen voor een causaal verband tussen risico's t.a.v. ferti-  
liteit en reproductie en blootstelling aan organische oplosmiddelen  
in concentraties rond en/of lager dan de huidige MAC

reproductie kenmerken	n	sterke aanwijzingen	beperkte aanw.	zwakke aanw.	onvoldoende aanw.
<u>Risico's van blootstelling van vrouwen t.a.v.:</u>					
- menstruatiesstoornissen	10		↑		
- andere gynaecologische stoornissen					
- effecten op het endocriene systeem	2			↑	X
- fertiliteit	3				X
- kanker van reproductie organen en mammae	3				X
- spontane abortus	13			↑	
- ontwikkelingsstoornissen	11		↑	↑	
- C25					
- orofaciale afwijkingen					
- gastrointestinale afwijkingen					X
- geboortegewicht/lengte vroeggeboorte	7				X
- doodgeboren, perinatale mortaliteit	5			↑	
- nakomelingen (via de lactatie)	2				X
<u>Risico's van blootstelling van mannen t.a.v.:</u>					
- voortplantingsorganen endocriene systeem	6				X
- fertiliteit			=		
- spontane abortus	3				X
- ontwikkelingsstoornissen	2				X
- geboortegewicht/lengte	1				X
<u>legenda</u>					
↑ toegenomen		X	onvoldoende aanwijzing		
= geen effect		n	aantal in het onderzoek betrokken epidemiologische studies		

## 4.7 Ethyleenglycol

### 4.7.1 Inleiding

Ten aanzien van de fertiliteit en voortplanting van de mens, zijn geen relevante studies werden gevonden, is de evaluatie alleen gebaseerd op proefdiergegevens.

### 4.7.2 Conclusie dierproefgegevens

Wat betreft de toxiciteit bij moederdieren kan worden geconcludeerd dat in 2 studies met de rat de NAEL was vast te stellen op 1000 mg/kg/dag, en in één studie met de muis op 750 mg/kg/dag.

Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, en fertiliteit kan bij gebrek aan voldoende gegevens geen uitspraak worden gedaan. Wat betreft de risico's bij blootstelling van vrouwelijke dieren ten aanzien van de drachtigheid en prenatale ontwikkeling kan worden geconcludeerd, dat ethyleenglycol embryotoxisch is bij orale toediening: ethyleenglycol induceert postimplantatieverlies en verlaging van het foetusgewicht. Verder blijkt ethyleenglycol teratogeen te zijn. De waargenomen misvormingen bestonden uit gespleten lip, gefuseerde ribben, niet normaal ontwikkelde wervels en verkorte neusbeenderen. De NAEL voor ethyleenglycol lijkt lager dan 750 mg/kg/dag (orale toediening).

Wat betreft de risico's bij blootstelling van mannelijke dieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, drachtigheid van de partner, en het nageslacht kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan. De huidige MAC waarde bedraagt 125 mg/m<sup>3</sup>. De doseringen die effecten veroorzaken liggen niet ver boven deze concentratie. Er is daarom duidelijk behoefte aan onderzoek teneinde een NAEL vast te kunnen stellen.

### 4.7.3 Literatuur

WHO

Recommended health -based occupational exposure limits.

Techn. Rep. Series 677, Geneva, WHO (1982)

## 4.8 Formamide en N,N-dimethylformamide

### 4.8.1 Inleiding

In 1982 werd een zeer uitgebreide literatuurstudie uitgevoerd door Barlow en Sullivan gepubliceerd over de schadelijke effecten van formamide en N,N-dimethylformamide op voortplanting en nageslacht. Sinds 1982 is de beschikbare literatuur over deze 2 stoffen nauwelijks toegenomen.

### 4.8.2 Conclusie humane gegevens

Ten aanzien van de fertiliteit en voortplanting van de mens kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan.

### 4.8.3 Conclusie dierproefgegevens

Barlow en Sullivan (1982) kwamen na een zeer gedetailleerde literatuurstudie tot de conclusie, dat formamide, toegediend via verschillende doseringsroutes aan ratten en muizen (alleen over inhalatie zijn geen gegevens in de literatuur gevonden), embryotoxisch en teratogeen is bij hoge doseringen (2 gr/kg oraal; 200 mg/kg percutaan; 0.076 ml/kg i.p.).

N,N-dimethylformamide lijkt in ratten via verschillende doseringsroutes embryotoxisch maar niet teratogeen te zijn bij doseringen, welke dicht liggen bij die doseringen waarbij sterfte van de moederdieren wordt waargenomen. Omdat bij konijnen foetus afwijkingen reeds werden gevonden bij doseringen van N,N-dimethylformamide, welke niet-toxisch waren voor de moederdieren, lijkt deze diersoort het meest gevoelig voor N,N-dimethylformamide te zijn (Merkle e.a., 1980). Effecten op de voortplanting werden reeds waargenomen bij doseringen die lager waren dan 10% van de huidige MAC-waarde (30 mg/m<sup>3</sup>).

### 4.8.4 Samenvattende conclusies met betrekking tot de humane en diergegevens

Op grond van de beschikbare dierproefgegevens kan worden geconcludeerd, dat formamide teratogeen en sterk embryotoxisch is. N,N-dimethylformamide lijkt



embryotoxisch maar niet teratogeen te zijn. Effekten op de voortplanting zijn waargenomen bij doseringen lager dan 10% van de huidige MAC-waarde (30 mg/m<sup>3</sup>). De beschikbare humane gegevens zijn onvoldoende om de dierproef gegevens te bevestigen.

#### 4.8.5 Literatuur

Barlow, S.M. and F.M. Sullivan (1982)

Reproductive Hazards of Industrial Chemicals, an evaluation on animal and human data

Academic Press, pag. 347-359

Merkle, J. von and H. Zeller (1980)

Untersuchungen von Acetamiden und Formamiden auf embryotoxische und teratogene Wirkung bei Kaninchen

Arzneim.-Forsch/Drug Res. 30 (II), 1557-1562

## 4.9 Pentachlorophenol

### 4.9.1 Inleiding

Na orale toediening van 14C-pentachlorophenol (60 mg/kg lichaamsgewicht) aan ratten op dag 15 van de dracht bleek de hoeveelheid specifieke radioactiviteit na 8 uur het hoogst (1.1% van de toegediende dosis per gram weefsel) te zijn in het bloed plasma van de moederdieren. De hoeveelheden in de placenta en de foetus waren respectievelijk niet hoger dan 0.3% en 0.1%.

Er kan dus gesteld worden, dat de hoeveelheid pentachloorphenol, die de placenta passeert vrij gering is (Larsen e.a., 1975).

### 4.9.2 Conclusie humane gegevens

Ten aanzien van de fertiliteit en voortplanting van de mens kan bij gebrek aan relevante studies geen uitspraak worden gedaan.

### 4.9.3 Conclusie dierproefgegevens

Volgens de enige beschikbare gedetailleerde studie, is zowel het zuivere als wel het commerciële pentachloorphenol embryotoxisch en teratogeen (Schwetz e.a., 1974). Het gezuiverde produkt lijkt meer toxische en teratogene eigenschappen te bezitten dan het commerciële produkt. In de genoemde studie bleek de "No-Effect-Level" van het commerciële produkt bij orale toediening aan ratten 5 mg/kg/dag te zijn, en voor het gezuiverde produkt minder dan 5 mg/kg/dag. Volgen de WHO (1985) is het mogelijk dat de verhoogde foetotoxiciteit van het gezuiverde pentachloorphenol ten opzichte van het commerciële produkt veroorzaakt wordt door de aanwezigheid van verontreinigingen, zoals polychloordibenzodioxinen en polychloordibenzofuranen.

Wat betreft de risico's bij blootstelling van proefdieren ten aanzien van de geslachtsorganen, endocrien systeem, fertiliteit, drachtigheid, prenatale ontwikkeling, en het nageslacht werden geen relevante gegevens gevonden. Er kan daarom worden geconcludeerd, dat een NAEL niet kan worden vastgesteld, en dat meer onderzoek noodzakelijk is.

#### 4.9.4 Samenvattende conclusies met betrekking tot de humane en diergegevens

Volgens de enige gedetailleerde studie, welke in de literatuur is gevonden, is pentachloorphenol embryotoxisch en teratogeen voor de rat. Verdere diergegevens zijn niet aanwezig. Relevante humane gegevens werden niet gevonden. De huidige MAC-waarde is 0.5 mg/m<sup>3</sup>; bij blootstelling aan pentachloorphenol gedurende 8 uur, zal bij uitsluiting van huid-resorptie de maximale ingeademde hoeveelheid overeenkomen met de orale NAEL; bij deze berekening wordt echter nog geen rekening gehouden met eventuele verschillen in soort-specifieke gevoeligheden. Bovendien lijkt op de werkplek absorptie via de huid de meest waarschijnlijk blootstellingsroute, en deze is niet in de MAC verdisconteerd.

#### 4.9.5 Literatuur

Larsen, R.V., G.S. Born, W.V. Kessler, S.M. Shaw and D. van Sickle (1975)  
Placental transfer and teratology of pentachlorophenol in rats  
Environmental letters, 10 (2), 121-128

Schwetz, B.A., P.A. Keeler and P.J. Gehring (1974)  
The effect of purified and commercial grade pentachlorophenol on rat embryonal and fetal development  
Toxicology and applied pharmacology 28, 151-161

WHO

Environmental Health Criteria For Pentachlorophenol - first draft-,  
6 may 1985.

#### 4.10 Vinylchloride

##### 4.10.1 Inleiding

Omdat vinylchloride carcinogene eigenschappen bleek te bezitten is in 1974 de MAC-waarde voor vinylchloride verlaagd van 200 ppm naar 1 ppm (2 mg/m<sup>3</sup>). In 1982 is door Barlow en Sullivan, en door Zielhuis e.a. (1984) een zeer uitgebreide literatuurstudie gepubliceerd over de schadelijke effecten van vinylchloride op voortplanting en nageslacht. Sindsdien is de beschikbare literatuur over deze stof nauwelijks toegenomen.

##### 4.10.2 Conclusie dierproefgegevens

De meeste studies (9) werden uitgevoerd met de rat of de muis. Er werd slechts één konijnenstudie gevonden. Bovendien werden in alle studies exposities toegepast welke aanzienlijk hoger zijn dan de huidige blootstellingslimieten op de werkplek.

In geen der studies kon teratogeniteit of embryotoxiciteit van vinylchloride worden aangetoond.

##### 4.10.3 Samenvattende conclusies met betrekking tot de humane en diergegevens

Zowel de dierproef- als de humane gegevens zijn onvoldoende om ten aanzien van de risico's voor geslachtsorganen, endocrien systeem en fertiliteit een uitspraak te doen. Beperkte dierstudies hebben aangetoond, dat vinylchloride niet teratogeen noch embryotoxisch is, zelfs niet bij doseringen welke toxisch zijn voor de ouderdieren. Een NAEL kon niet worden vastgesteld.

De beschikbare humane literatuur over beroepsexpositie aan vinylchloride is niet relevant voor de huidige werkomstandigheden, omdat de MAC-waarde is verlaagd van 200 ppm naar 1 ppm (2 mg/m<sup>3</sup>).

Omdat na de vaststelling van de carcinogeniteit van vinylchloride, de MAC-waarde is verlaagd tot 1 ppm, worden nieuwe studies op het gebied van de voortplanting niet als opportuun beschouwd.

#### 4.10.4 Literatuur

Barlow, S.M. and F.M. Sullivan (1982)

Reproductive Hazards of Industrial Chemicals, an evaluation on animal and human data.

Academic Press, pag. 347-359

Zielhuis, R.L., A. Stijkel, M.M. Verberk and M. van de Poel-Bot (1984)

Health risks to female workers in occupational exposure to chemical agents.

Springer Verlag, 120 pp. (42-43)