



1,1'-Azodi(formamid) – frakcja wdychalna

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

1,1'-Azobis(formamide) – inhalable fraction

Documentation of proposed values of occupational exposure limits (OELs)

MAŁGORZATA KUPCZEWSKA-DOBECKA

<https://orcid.org/0000-0001-9633-9428>

e-mail: malgorzata.dobacka@imp.lodz.pl

MAREK DOBECKI

<https://orcid.org/0000-0002-8083-5686>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera [MKD]

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland

NDS 0,02 mg/m³

NDSch 0,04 mg/m³

NDSP nie ustalono

DSB nie ustalono

A substancja o działaniu uczulającym

Data zatwierdzenia przez Zespół Ekspertów: 18-20.10.2023 r.

Data zatwierdzenia przez Komisję ds. NDS i NDN: 26.03.2024 r.

Streszczenie

1,1'-Azodi(formamid) (azodikarbonamid, ADCA) jest żółtym organicznym ciałem stałym. W Unii Europejskiej ma klasyfikację zharmonizowaną jako substancja o działaniu uczulającym na drogi oddechowe kategorii 1. Od 19 grudnia 2012 r. na mocy decyzji ED/169/2012 ADCA znalazł się na liście kandydackiej substancji stanowiących bardzo duże zagrożenie, oczekujących na pozwolenie z powodu swoich właściwości uczulających na drogi oddechowe. Zgodnie z opinią ACSH w sprawie chemikaliów priorytetowych dla nowych lub zmienionych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego w 2021 r. ADCA został wytypowany jako substancja priorytetowa, dla której istnieje pilna potrzeba przygotowania opinii naukowych i/lub badań określających OEL. ADCA ma szerokie zastosowanie jako porofor w spienionych tworzywach sztucznych, szczególnie piankach winylowych i wyrobach gumowych. Jest też stosowany w leczeniu HIV. Po przyjęciu bezprogowego działania uczulającego na drogi oddechowe za skutek krytyczny, a za wartość LOAEC – stężenia 36 µg/m³ (0,036 mg/m³) wyznaczonego przez NIOSH w badaniach z udziałem ludzi zatrudnionych przy wtryskiwaniu tworzywa

¹ Wartości NDS i NDSch 1,1'-azodi(formamidu) zostały w dniu 26.03.2024 r. przyjęte na 107. posiedzeniu Międzyresortowej Komisji do spraw Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy i następnie zostały przedłożone ministrowi właściwemu ds. pracy (wniosek nr 123) w celu ich wprowadzenia do rozporządzenia w załączniku nr 1 w części A wykazu najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych w środowisku pracy.

² Opracowano i wydano na podstawie wyników VI etapu programu wieloletniego pn. „Rządowy Program Poprawy Bezpieczeństwa i Warunków Pracy”, finansowanego w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju. Projekt nr IL.PB.03 pt. „Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”. Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

z ADCA oraz uwzględnieniu obiektywnych pomiarów wartości funkcji płuc (niewielkie, ale statystycznie istotne obniżenia średniej wielkości FVC i FEV₁ w ciągu zmiany roboczej w badaniu przed zmianą roboczą i po jej zakończeniu u 17 operatorów form wtryskowych) i skutków, na które badani się uskarżali (nieżyt nosa, zapalenie spojówek, świszczący oddech, kaszel, po których następują objawy takie jak: ucisk w klatce piersiowej, duszność i nocne objawy astmy w postaci kaszlu napadowego) zaproponowano przyjęć wartość NDS dla 1,1'-azodi(formamidu) na poziomie 0,02 mg/m³ oraz NDSC na poziomie 0,04 mg/m³ dla frakcji wdychalnej. Ze względu na działanie uczulające substancji proponuje się oznakowanie: „A” – substancja o działaniu uczulającym. Nie należy oczekiwać istotnego udziału wchłaniania przezskórnego i ogólnoustrojowej toksyczności substancji.

Słowa kluczowe: 1,1'-azodi(formamid), narażenie zawodowe, środowisko pracy, wartość NDS.

Abstract

1,1'-Azobis(formamide) (azodicarbonamide, ADCA) is a yellow organic solid. It is classified in the European Union as a substance that is respiratory sensitizing, category 1. As of December 19, 2012, by decision ED/169/2012, ADCA has been placed on the candidate list of substances of very high concern awaiting authorization due to its respiratory sensitizing properties. According to the ACSH opinion on priority chemicals for new or revised occupational exposure limits, in 2021, ADCA was identified as a priority substance for which there is an urgent need to prepare scientific opinions and/or studies determining OELs. ADCA has wide applications as a blowing agent in foamed plastics, particularly vinyl foams and rubber products. It is also used in the treatment of HIV. Considering the respiratory sensitizing effects as a critical outcome, and using the LOAEC value of 36 µg/m³ (0.036 mg/m³) determined by NIOSH in studies on workers exposed to ADCA during plastic injection molding, and taking into account objective measurements of lung function (small but statistically significant decreases in mean FVC and FEV1 during a work shift in a study before and after the shift in 17 injection mold operators) and reported symptoms (rhinitis, conjunctivitis, wheezing, coughing, followed by symptoms such as chest tightness, shortness of breath, and nocturnal asthma symptoms in the form of paroxysmal coughing), it has been proposed to adopt an OEL value for 1,1'-azobis(formamide) at the level of 0.02 mg/m³ and a STEL at 0.04 mg/m³ for the inhalable fraction. Due to the sensitizing effects of the substance, it is recommended to label it as: “A” – sensitizing substance. Significant dermal absorption and systemic toxicity of the substance are not expected.

Keywords: 1,1'-azobis(formamide), occupational exposure, working environment, MAC/OEL.

Adres do korespondencji/Contact details: Małgorzata Kupczewska-Dobecka, Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, 91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8, e-mail: małgorzata.dobecka@imp.lodz.pl

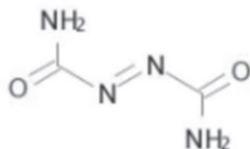
CHARAKTERYSTYKA SUBSTANCJI, ZASTOSOWANIE, NARAŻENIE ZAWODOWE

Ogólna charakterystyka substancji

1,1'-Azodi(formamid) (ADCA) jest żółtym organicznym ciałem stałym, niepalnym i niewybuchowym (20°C, 1013 hPa), (ECHA 2023a).

Ogólna charakterystyka 1,1'-azodi(formamidu):

- nazwa chemiczna 1,1'-azobis(formamid)
- wzór sumaryczny C₂H₄N₄O₂
- wzór strukturalny



- masa cząsteczkowa 116,1
- numer CAS 123-77-3
- numer WE 204-650-8
- numer indeksowy 611-028-00-3
- nazwa w rejestrze CAS 1,2-diazenedicarboxamide
- nazwy handlowe: ADC-130, ADC FC1, Mikrofine Z14A, ADC Z25, ADC-21, ADC-SE, ADC-T, Mikrofine 2A12SS/2A11SS, Mikrofine ADC F1/F2/F3/H2/L2/L5, AZDC CBA1/ADC, 3202/ADC, 3072/Mikrofine, 2A26SS/Mikrofine, 2A22SS/Mikrofine,

<p>– synonimy:</p>	<p>2A30SS/Mikrofine, 2A3M/ADC, 2A12M/ADC, Z40/ADC 4075, ADC 3838, Azodicarbonamide, CELLCOM-AC5000, CELLCOM-AC7000F, CELLCOM-OAC/E, EVERFOAM 1822, EVERFOAM 35 ES, Mikrofine ADC 3202, Mikrofine ADC General ADCA, azodicar- bonamide, C,C'-azodi- (formamide), 1,1'-azodi(formamid), 1,1'-azobis(formamid),</p>	<p>1,2-diazenedicarboxamide, (E)-(carbamoylimino)urea, (Z)-(carbamoylimino)urea, 1,1'-azobiscarbamide dikarbamoilodiazen (ECHA 2023a).</p> <p>– nazwa wg IUPAC</p> <p>W tabeli 1 i na rycinie 1 zamieszczono zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie ADCA zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 z dnia 31 grudnia 2006 r. (Dz. Urz. WE L 353, 1–1355 ze zm.), zwanego rozporządzeniem CLP.</p>
--------------------	--	---

Tabela 1. Klasyfikacja i oznakowanie 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) wg kryteriów rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 (tabela 3 załącznika VI do rozporządzenia WE nr 1272/2008 ze zm.)

Table 1. Classification and labelling of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) according to the criteria of Regulation (EC) No 1272/2008 of the European Parliament and of the Council (Table 3 of Annex VI to Regulation (EC) No 1272/2008 as amended)

Numer indeksowy	Nazwa chemiczna (oraz synonimy)	Numer WE	Numer CAS	Klasyfikacja		Oznakowanie			Specyficzne stężenia graniczne, współczynniki „M” oraz ATE	Uwagi
				klasa zagrożenia i kody kategorii	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	piktogram, kody haseł ostrzegawczych	kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia	dodatkowe kody zwrotów wskazujących rodzaj zagrożenia		
611-028-00-3	C,C'-azodi(formamid)	204-650-8	123-77-3	Resp. Sens. 1	H334	GHS08 Dgr	H334	–	–	–

Objaśnienia:

Resp. Sens. – Działanie uczulające na drogi oddechowe lub skórę.

H334 – Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

Dgr – hasło ostrzegawcze: „Niebezpieczeństwo”.



GHS08

Rycina 1. Piktogram wskazujący rodzaj zagrożenia

Figure 1. Hazard pictogram

Właściwości fizykochemiczne

Właściwości fizykochemiczne 1,1'-azodi(formamid):

- temperatura topnienia 204°C (101 325 Pa), (ECHA 2023a)
- temperatura wrzenia 284,78°C (760 mm Hg; rozkłada się), (PubChem 2023)
- gęstość względna 1,61 (20°C), (ECHA 2023a)
- prężność par $2 \cdot 10^{-8}$ Pa (20°C), (ECHA 2023a), $3,2 \cdot 10^{-8}$ hPa (50°C), (PubChem 2023), $1,3 \cdot 10^{-7}$ hPa (60°C), (PubChem 2023), $2,53 \cdot 10^{-11}$ hPa (20°C), (CICADS 1999)
- rozpuszczalność w wodzie 33 mg/l (20°C i pH 7,3 ÷ 7,6), (ECHA 2023a)
- temperatura zapłonu niepalny (ECHA 2023a)
- współczynnik podziału oktanol-woda (log Pow) 1 (25°C), (ECHA 2023a), -1,70 (PubChem 2023).

ADCA nie ma właściwości utleniających. Ulega hydrolizie ($t_{1/2} = 48$ h, 25°C). Jest łatwo biodegradowalny (w 100%), rozpuszczalny w *N,N*-dimetyloformamidzie i dimetylosulfotlenku. W temperaturze >200°C rozkłada się, emitując tlenki azotu, chlorowódor i amoniak (PubChem 2023).

Niektórzy dostawcy zwracają uwagę na możliwość wybuchu pyłu ADCA w środowisku pracy w wyniku uderzenia, tarcia, ognia lub innych źródeł (Acros Organics BVBA 2013; Alfa Aesar 2015). Wskazują, że w dużych ilościach jest to substancja samonagrzewająca się, może się więc zapalić (Sigma-Aldrich 2018).

Wielkość cząstek (określona zgodnie z zasadami DPL i przy użyciu metody badawczej OECD Guideline 110 dotyczącej materiału w stanie, w jakim został wyprodukowany) wynosi 10 ÷ 105 µm.

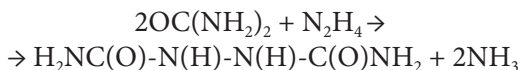
Współczynniki przeliczeniowe dla 1,1'-azodi(formamid) w temperaturze 20°C i pod ciśnieniem 101,3 kPa są następujące (ECHA 2023a):

- $1 \text{ mg/m}^3 = 0,21 \text{ ppm}$
- $1 \text{ ppm} = 4,8 \text{ mg/m}^3$.

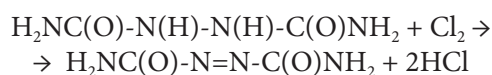
Otrzymywanie, zastosowanie i narażenie zawodowe

Otrzymywanie

ADCA otrzymuje się w dwóch etapach (Arts, Kimber 2017; CICADS 1999). W pierwszym zachodzi reakcja mocznika z hydrazyną w celu wytworzenia bimocznika i amoniaku wg równania:



W drugim etapie w wyniku utleniania chlorem lub kwasem chromowym powstaje 1,1'-azodi(formamid):



Zastosowanie

ADCA ma szerokie zastosowanie jako porofor w spienionych tworzywach sztucznych, szczególnie w piankach winylowych i wyrobach gumowych (NPR 2014; Weber i in. 2016). W wyniku rozkładu termicznego azodikarbonamidu wytwarza się azot, tlenek węgla, ditlenek węgla i gazy amoniakalne oraz ciała stałe i tzw. sublimaty, takie jak: bimocznik (biurea, 1,2-hydrazynodikarboksyamid), mocznik, urazol (1,2,4-triazolidyno-3,5-dion), kwas izocyjanurowy (1,3,5-triazyno-2,4,6[1*H*,3*H*,5*H*]-trion), cyamelid (1,3,5-trioksano-2,4,6-triimina) i semikarbazyd (hydrazynokarboksyamid), (Prakash i in. 1975; Stadler i in. 2004). Są one „uwięzione” w polimerze w postaci pęcherzyków, przez co tworzą spieniony wyrób. ADCA jest czasami nazywany substancją chemiczną maty do jogi. Rzeczywista temperatura rozkładu azodikarbonamidu w mieszaninach stosowanych do spieniania wynosi około 150 ÷ 200°C (Exelby i in. 1993; Heck, Peascoe 2011). Z raportu ECHA (2012a) wynika, że (wg przemysłu) ADCA jest szeroko stosowany jako porofor ze względu na szereg korzystnych właściwości, takich jak: duża objętość gazu, możliwość dostosowania do różnych temperatur procesu, przydatność w wielu różnych rodzajach tworzyw sztucznych oraz stosunkowo niska cena w porównaniu z innymi organicznymi środkami porotwórczymi.

W USA ADCA znajduje się w ponad 500 produktach spożywczych m.in. w chlebie jako ulepszacz ciasta i utrzymywania tekstury chleba znany pod numerem E927. Amerykańska Agencja Żywności i Leków (FDA) dopuszcza ADCA w żywności

w stężeniach do 45 ppm. W Unii Europejskiej związek ten nie jest dopuszczony do stosowania jako dodatek do żywności (NPR 2014).

1,1'-Azodi(formamid) jest stosowany w leczeniu HIV (Vandeveldde i in. 1996; Witvrouw i in. 1996). Wybiórczo celuje w domeny nukleokapsydu cynku retrowirusa NCp7 (Rice i in. 1997), nie wpływając na jądrowe i cytoplazmatyczne białka cynku u ssaków (Goebel i in. 2001; Huang i in. 1998).

Od 19 grudnia 2012 r. na mocy decyzji ED/169/2012 ADCA znalazł się na liście kandydackiej substancji stanowiących bardzo duże zagrożenie, oczekujących na pozwolenie (opublikowane zgodnie z art. 59 ust. 10 rozporządzenia REACH) z powodu swoich właściwości uczulających na drogi oddechowe (*Respiratory sensitising properties* [Article 57(f) – human health]). Stwierdzono, że ADCA można uznać za substancję, dla której (zgodnie z art. 57 lit. f rozporządzenia REACH) istnieją naukowe dowody prawdopodobnych poważnych skutków dla zdrowia ludzkiego (ECHA 2014).

Zgodnie z opinią Komitetu Doradczego ds. Bezpieczeństwa i Zdrowia w Miejscu Pracy Komisji Europejskiej (ACSH) w sprawie chemikaliów priorytetowych dla nowych lub zmienionych dopuszczalnych wartości narażenia zawodowego w 2021 r. ADCA został wytypowany jako substancja priorytetowa, dla której istnieje pilna potrzeba przygotowania opinii naukowych i/lub badań określających OEL.

Narażenie

ADCA został zarejestrowany jako substancja w Europejskiej Agencji Chemikaliów przez 18 producentów/importerów z UE, głównie z Włoch, Irlandii i Niemiec dla tonażu 10 000 ÷ 100 000 ton. Jeden z rejestrujących pochodzi z Polski. Jest to Polsko-Koreańskie Przedsiębiorstwo Produkcyjno-Handlowe JOONGPOL z Mielca, producent worków z pianki PE i laminatów z pianki PE przeznaczonych dla branży AGD, RTV, budownictwa, meblarskiej, motoryzacyjnej oraz sportowo-turystycznej (numer rejestracyjny 01-2119493056-35), (ECHA 2014; 2023a).

Do obszaru gospodarczego UE ADCA jest też importowany (głównie z Azji) w ilości 20 000 ton/rok (Arts, Kimber 2017).

Według Centralnego Rejestru Chorób Zawodowych w Polsce w latach 2012-2021 nie stwierdzono przypadków chorób zawodowych spowodowanych narażeniem na ADCA (Centralny Rejestr Chorób Zawodowych 2023).

Stężenie ADCA w powietrzu środowiska pracy podczas wykonywania różnych czynności wahało się od poniżej oznaczalności metody analitycznej (p.o.), tj. 0,001 mg/m³, do 20 mg/m³ podczas czynności czyszczenia. W tabeli 2 podano wielkości stężeń ADCA zmierzone w powietrzu środowiska pracy.

Tabela 2. Wielkości stężeń 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) zmierzone w powietrzu środowiska pracy

Table 2. Concentrations of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) measured in workplace air

Proces/czynność	Narażenie	Piśmiennictwo
Mielenie proszku ADCA w młynach do mikronizacji (pakowanie w worki, ważenie, pakowanie)	11,8 mg/m ³ i 9,8 mg/m ³ podczas zmiany dziennej 2,3 mg/m ³ i 2,8 mg/m ³ podczas zmiany nocnej przy niższej przepustowości	EH65/26
Produkcja ADCA	2 ÷ 5 mg/m ³	Slovak 1981
Formułowanie, mieszanie, ważenie i przesypanie proszku	0,15 ÷ 12 mg/m ³ (krótkotrwałe: <70 min), (mediana 2,7 mg/m ³)	Ahrenholz i in. 1985
Użycie ADCA w formowaniu wtryskowym tworzyw sztucznych	p.o. (0,001 mg/m ³) ÷ 0,8 mg/m ³	Ahrenholz i in. 1985; Whitehead i in. 1987
Mielenie, frezowanie wyrobu	10,8 mg/m ³ ; 1,21 mg/m ³ – zmiana dzienna 2,55 mg/m ³ ; 0,27 mg/m ³ – zmiana nocna	ECHA 2012a
Czyszczenie sprzętu	18,88 ÷ 20,06 mg/m ³	ECHA 2012a
Produkcja wykładzin podłogowych z tworzyw sztucznych	p.o. ÷ 0,23 mg/m ³ (12 min) mieszanie: 1,76 mg/m ³	ECHA 2012a
Przygotowywanie dyspersji zawierającej ADCA	0,64 ÷ 3 mg/m ³ (jedno osobiste pobieranie próbek przez 45 min dało wynik pomiaru 15,1 mg/m ³)	ECHA 2012a
Granulacja i proszkowanie PCW	p.o.	ECHA 2012a
Produkcja tworzyw sztucznych: mielenie, mieszanie na sucho i granulacja	p.o.	ECHA 2012a

Objaśnienie:

p.o. – poniżej oznaczalności metody analitycznej.

Dostępne dane pokazują, że nie można wykluczyć narażenia konsumentów na ADCA (ECHA 2012a). W 2012 r. Austriacka Agencja Środowiska przeanalizowała pod kątem zawartości ADCA 10 artykułów z tworzyw sztucznych. W uszczelkach do drzwi wykryto zawartość ADCA na poziomie 0,083% (w/w), [granica oznaczalności (LOQ) = 0,001%]. Na podstawie tego badania nie można stwierdzić, że ADCA całkowicie rozkłada się w wyrobie podczas obróbki termicznej. Ponadto analizowano gotową do użycia zaprawę (nieprzereagowany proszek) i stwierdzono zawartość ADCA na poziomie 0,0095% (w/w) LOQ.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE U LUDZI

Obserwacje kliniczne

Po podaniu doustnym 1,1'-azodi(formamid) (ADCA) jednemu ochotnikowi zakażonemu wirusem HIV zaobserwowano zależne od dawki tworzenie się methemoglobiny. Maksymalne jej stężenie wystąpiło po około 1,5 h od podania leku, a poziom methemoglobiny powrócił do normy po 4 h od ostatniej dawki (Goebel i in. 2001). Maksymalny poziom methemoglobiny wynoszący 3,5% został określony u 2 pacjentów zakażonych wirusem HIV, którym podano doustnie ADCA w 3 dawkach dobowych po 3 g (Goebel i in. 2001).

W badaniu fazy I/II badań klinicznych zastosowania ADCA jako leku na HIV z udziałem 15 pacjentów z AIDS 3 dawki dobowe po 2 g 1,1'-azodi(formamid) określono jako maksymalną tolerowaną dawkę doustną. Przy większych dawkach – do około 10 g (129 ÷ 142 mg/kg mc. na dobę) – u niektórych pacjentów wystąpiły objawy nefrotoksyczności (kolka nerkowa, kamica nerkowa z martwicą brodawek i zwiększenie stężenia kreatyniny), podczas gdy u innych wystąpiła nietolerancja glukozy lub cytotoksyczne działanie azodikarbonamidu na limfocyty T pomocnicze CD4, odgrywające główną rolę w układzie odpornościowym (limfocyty CD4 są głównym celem ataku wirusa HIV), (Goebel i in. 2001). Oceniono, że u ludzi całkowita dzienna dawka ADCA 100 mg/kg mc./dzień nie powinna być przekraczana podczas leczenia HIV. Optymalna dawka zalecana do dalszych badań klinicznych wynosi 2 g trzy razy dziennie, ponieważ w tej dawce wykazano najwyższą średnią bezwzględną zmianę stosunku liczby komórek CD4/CD8, znaczną

redukcję miana wirusa do 1,0 log₁₀ kopii/ml (tzn. 10 kopii/ml) po 6 miesiącach leczenia, statystycznie istotną poprawę wskaźnika sprawności Karnofsky'ego (skala pozwalająca określić stan ogólny i jakość życia pacjenta) oraz mniej współistniejących infekcji. Ponadto cytotoksyczność wobec limfocytów CD4, nefrotoksyczność i nietolerancja glukozy występowały istotnie rzadziej niż przy dawce 3 g trzy razy dziennie. Mediana skutecznego stężenia w wielu eksperymentach in vitro wynosi około 100 µmol/l (Goebel i in. 2001).

Działanie ostre i krótkoterminowe

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących ostrego lub krótkoterminowego działania ADCA u ludzi.

Działanie przewlekłe

Narażenie zawodowe

W literaturze opisano występowanie reakcji ze strony dróg oddechowych u pracowników narażonych na 1,1'-azodi(formamid). W ankietach dotyczących zdrowia w miejscu pracy u narażonych na ADCA oprócz objawów ze strony układu oddechowego stwierdzono również częstsze występowanie wysypki skórnej (Ahrenholz i in. 1985; Slovak 1981; Whitehead i in. 1987). Dostępne są badania i raporty NIOSH, które powiązały objawy u pracowników narażonych na 1,1'-azodi(formamid) z osobonarażeniem lub miejscem pracy (Ahrenholz i in. 1985; Ferris i in. 1977; NIOSH 1985; Slovak 1981; Whitehead i in. 1987). Badania nie zawierały informacji lub zawierały niepełne informacje na temat stężeń, ewentualnych produktów rozkładu lub innych substancji stosowanych w zakładach.

Slovak (1981) przeprowadził badania pracowników zakładu produkującego 1,1'-azodi(formamid) w latach 1966-1980. Badaniem objęto wszystkich 151 pracowników nadal zatrudnionych w zakładach, którzy byli zaangażowani w produkcję, serwisowanie i kontrolę jakości w zakładzie począwszy od jego otwarcia w 1966 r. Ponieważ ADCA uznawano za substancję chemiczną o niskiej toksyczności ostrej, stosowano go w układzie otwartym, co skutkowało wysokim narażeniem. Szczegóły dotyczące „historycznych” stężeń pyłu w zakładzie nie były dostępne. Autor opracowania założył, że poziomy stężeń były zbliżone do wartości stężeń zmierzonych w chwili badania. W czasie badania pracownicy byli

narażeni na działanie ADCA o średnim stężeniu $2 \div 5 \text{ mg/m}^3$ (8-godzinna średnia ważona).

Rozpoznanie astmy u badanych opierało się na wypełnionym kwestionariuszu oraz szczegółowym wywiadzie zawodowym. Częstość występowania astmy wśród pracowników (z powodu narażenia na ADCA) wynosiła 18,5%, co odpowiadało 28 osobom. Badanych podzielono na 3 grupy na podstawie wyników standaryzowanej ankiety, dostępnej dokumentacji bhp oraz historii klinicznej:

a) pracownicy z astmą, którą przypuszczalnie wywołało narażenie zawodowe na 1,1'-azodi(formamid) (28 osób). Z wywiadu wynikało, że żaden z 28 pracowników z grupy a) przed rozpoczęciem pracy w zakładzie nie chorował na astmę ani inne choroby układu oddechowego. Objawy takie jak: duszność, ucisk w klatce piersiowej, świszczący oddech, kaszel, nieżyt nosa i zapalenie spojówek wystąpiły u ponad połowy osób w ciągu pierwszych 3 miesięcy pracy i łącznie u 21 z 28 pracowników (75%) w ciągu pierwszego roku zatrudnienia. Reakcje natychmiastowe zgłosiło 6/28 robotników (21%), a kolejnych 16/28 (57%) pracowników zgłosiło reakcje opóźnione. U 6 robotników (22%) reakcje natychmiastowe wystąpiły dwukrotnie. Dodatkowe zgłaszane objawy to: kaszel (u 39% pracowników), nieżyt nosa (u 29%), zapalenie spojówek (u 25%) i wysypka (u 4%). Objawy nasiliły się po dłuższej ekspozycji na 1,1'-azodi(formamid) u 13/28 pracowników (46%);

b) pracownicy bezobjawowi, którzy pracowali w zakładzie przez ponad 1 rok;

c) pracownicy bez narażenia na 1,1'-azodi(formamid) lub znane alergie oddechowe.

Badanie czynnościowe układu oddechowego wykonane przed rozpoczęciem zmiany roboczej i po jej zakończeniu nie wykazało różnic między grupami. Pomiar natężonej objętości wydechowej w ciągu 1 s (FEV_1) i natężonej pojemności życiowej (FVC) przed zmianą roboczą i po niej nie ujawniły problemów oddechowych w żadnej z 3 grup. Także w pomiarach szczytowego przepływu wydechowego (PEF) nie stwierdzono nieprawidłowości u 11 pracowników z wcześniejszymi objawami.

Miejscowe testy skórne z zastosowaniem azodikarbonamidu o stężeniach 0,1%, 1% i 5% (w sulfotlenku dimetylu) w grupach pracowników a) i b) dały wyłącznie wyniki ujemne.

W ciągu 3 miesięcy u 8/13 (62%) pracowników, którzy nadal byli narażeni na 1,1'-azodi(formamid),

po postawieniu diagnozy rozwinęła się nadreaktywność oskrzeli na czynniki drażniące, które były wcześniej tolerowane. Ta nadreaktywność utrzymywała się u 5/8 (63%) osób, chociaż unikały one narażenia na 1,1'-azodi(formamid) przez ponad 3 lata.

Autorzy badania przy interpretacji wyników założyli, że wystąpił tzw. efekt zdrowego pracownika, ponieważ około połowy robotników z objawami przed badaniem przeniesiono do innego miejsca pracy z powodu związanej z pracą choroby układu oddechowego. Pozostali pracownicy prawdopodobnie zastosowali własną „strategię unikania”. W czasie trwania badania żaden z pracowników nie zaobserwował niepożądanych objawów ze strony układu oddechowego (Slovak 1981).

W raporcie NIOSH (Ahrenholz i in. 1985) opisano skutki narażenia na ADCA u pracowników w zakładzie produkującym wykładziny podłogowe z tworzyw sztucznych. W badaniu wstępnym niektórzy pracownicy zgłaszali takie objawy, jak: podrażnienia błon śluzowych oczu i nosa, krwawienia z nosa, nocny kaszel, duszności, świszczący oddech, ucisk w klatce piersiowej i odczyny skórne ($n = 11$). W badaniu wstępnym poziomy narażenia na ADCA wynosiły $2,1 \text{ mg/m}^3$ i $3,1 \text{ mg/m}^3$.

Największe narażenie na ADCA zaobserwowano podczas ważenia i zrzucania odpadów na wysypisko w 2 budynkach (nr 67b i nr 98). Tam też 6 tygodni później przeprowadzono badanie główne. W badaniach wzięło udział 49 robotników, z których 33 pracowało bezpośrednio z ADCA, a 16 nigdy nie pracowało z ADCA (Ahrenholz i in. 1985). Po wykluczeniu pracowników niespełniających kryteriów badania spośród 30 pozostałych narażonych robotników 8 pochodziło z budynku nr 67b, a 22 z budynku nr 98. Oznaczono następujące stężenia ADCA:

- w budynku nr 67b:
 - narażenie bezpośrednie (krótkotrwałe: $7 \div 56 \text{ min}$; $n = 3$): $0,15 \div 12 \text{ mg/m}^3$, mediana $3,8 \text{ mg/m}^3$;
 - narażenie w pewnej odległości od miejsc pracy, na których stosowano azodikarbonamid, nazwane narażeniem pośrednim: od p.o. do maks. $0,03 \text{ mg/m}^3$ (11 pomiarów – próby pobrane stacjonarnie);
- w budynku nr 98:
 - narażenie bezpośrednie (krótkotrwałe: $7 \div 56 \text{ min}$; $n = 5$): $0,59 \div 4,8 \text{ mg/m}^3$, przy medianie $1,6 \text{ mg/m}^3$;

- narażenie pośrednie: od p.o. do maks. 0,1 mg/m³ (14 pomiarów – próby stacjonarne).

Mediana wszystkich zmierzonych stężeń w narażeniu bezpośrednim wyniosła 2,7 mg/m³.

Stężenia ADCA obliczone łącznie dla narażenia pośredniego i bezpośredniego wynosiły:

- dla pracowników niewyposażonych w maski przeciwpyłowe: 0,04 ÷ 1,7 mg/m³ (mediana 0,36 mg/m³; $n = 6$),
- dla pracowników wyposażonych w maski ochrony osobistej: p.o. ÷ 0,91 mg/m³ (mediana 0,08 mg/m³; $n = 8$).

Pracownicy używali jednorazowych masek przeciwpyłowych podczas narażenia bezpośredniego, a w niektórych przypadkach również podczas narażenia pośredniego.

Objawy ze strony dolnych dróg oddechowych (kaszel, świszczący oddech lub duszność) zgłosiło 18 z 30 pracowników, którzy byli kiedykolwiek narażeni (60%) i 1 z 16 pracowników (6%) nigdy nienarażonych na ADCA – różnica była istotna statystycznie. Wśród narażonych 15/22 osób (68%) w budynku nr 98 w porównaniu z 3/8 osób (38%) w budynku nr 67b miało objawy ze strony dróg oddechowych ($p = 0,21$; test Fishera). Zgłoszony czas do wystąpienia objawów wśród osób z objawami był natychmiastowy – objawy występowały w ciągu 1 h od wejścia na miejsce pracy. Wcześniejszą znaną historię alergii miało 10/18 osób z objawami (56%) i 3/12 osób (25%) bez objawów ($\chi = 2,7$; $p = 0,098$; test chi-kwadrat). Częstość występowania objawów była wysoka we wszystkich grupach palących: wynosiła 7/14 (50%) wśród palaczy, 8/9 (89%) wśród byłych palaczy oraz 5/9 (56%) wśród osób nigdy niepalących. Nie było znaczących różnic między narażonymi pracownikami z objawami a bezobjawowymi pod względem liczby tygodni pracy, średniej liczby produkowanych partii wyrobu na tydzień lub szacunkowej skumulowanej liczby partii wyrobu (Ahrenholz i in. 1985).

Objawy ze strony oczu i/lub górnych dróg oddechowych (zatkany nos, swędzenie lub podrażnienie oczu, katar) zgłosiło 26/30 pracowników (87%), którzy kiedykolwiek byli narażeni, i 5/16 pracowników (31%) nigdy nienarażonych, co stanowiło statystycznie istotną różnicę. Nie zgłaszano objawów ogólnoustrojowych wskazujących na zapalenie płuc

z nadwrażliwości (gorączka, dreszcze, bóle mięśni), (Ahrenholz i in. 1985).

Średnie wyniki badań czynności płuc przed rozpoczęciem zmiany roboczej i po jej zakończeniu przeprowadzonych u pracowników narażonych na ADCA nie różniły się istotnie od wyników u pracowników nienarażonych. Pomiar spirometryczny wykazały, że:

- średnie zmiany wartości FEV₁ i FVC przed zmianą roboczą i po niej były zmniejszone zarówno w grupach narażonych, jak i nienarażonych, chociaż były większe wśród narażonych zarówno dla FEV₁ (-0,087 l vs -0,048 l), jak i dla FVC (-0,116 l vs -0,043 l), ale różnice te nie były statystycznie istotne;
- w grupie narażonej obniżenie FEV₁ i FVC przed zakończeniem zmiany roboczej i po zakończeniu zmiany roboczej wynosiło 2,3% FEV₁ i 2,2% FVC. Obniżenie FEV₁ istotnie różniło się od zera ($t = -2,27$; $p = 0,040$ w teście t dla par);
- wśród osób niepalących narażonych w budynku nr 98 zmiany były większe (ale nie statystycznie istotne) niż wśród osób w budynku nr 67b. W analizie sparowanego testu t zmiana FEV₁ w budynku nr 98 była statystycznie istotnie różna od zera ($t = -2,48$; $p = 0,042$), podczas gdy zmiany FEV₁ w budynku 67b i FVC dla obu budynków nie były istotne ($p > 0,182$);
- w przypadku FEV₁ obniżenia wartości były mniejsze wśród osób z objawami niż wśród pracowników bezobjawowych (-0,082 l vs -0,098 l; $p > 0,8$); w przypadku FVC obniżenie było ograniczone do robotników z objawami (-0,182 l vs +0,016 l; $p = 0,125$). Średnie zmiany FEV₁ wśród pracowników bezobjawowych i FVC wśród pracowników z objawami różniły się od zera.

Oceniono, że w narażeniu bezpośrednim występował związek między wynikami testu czynnościowego płuc a ekspozycją sugerujący tendencję do zwiększania się efektu pogorszenia czynności płuc wraz ze wzrostem narażenia, ale średnie obniżenie FEV₁ i FVC o około 2 ÷ 3% było nieistotne (Ahrenholz i in. 1985).

W raporcie NIOSH (1985) przedstawiono inne badania obejmujące opisy przypadków pracowników z objawami ze strony układu oddechowego, opublikowane później przez Whiteheada i in.

(1987). W zakładzie przetwórstwa tworzyw sztucznych w grudniu 1983 r. na ogólną liczbę 242 pracowników 227 poddano badaniu spirometrycznemu. Robotnicy narażeni na ADCA zgłaszali większą częstość występowania objawów ze strony układu oddechowego niż pracownicy nienarażeni. Ryzyko kombinacji objawów „świszczący oddech i duszność” – na podstawie częstości zgłaszanych objawów – było około 6 ÷ 8 razy mniejsze w przypadku osób, które pracowały w zakładzie, ale nienarażonych na ADCA ($n = 34$), niż u tych, które pracowały tam podczas stosowania azodikarbonamidu ($n = 136$). Pomiaru stężeń w powietrzu środowiska pracy wykonane w zakładzie około 7 miesięcy wcześniej wykazały, że stężenia ADCA w powietrzu wynosiły $<1,8 \text{ mg/m}^3$, a próbki powietrza z pomiarów indywidualnych (pobrane po zainstalowaniu indywidualnych próbników na odzieży robotnika) zarejestrowały narażenie do $0,0136 \text{ mg/m}^3$, prawdopodobnie bez użycia masek przeciwpyłowych, i do około $0,280 \text{ mg/m}^3$, prawdopodobnie przy użyciu masek ochrony osobistej. Brak jest jednak danych, czy wystąpiły objawy w miejscu pracy po narażeniu na te stężenia.

Zmierzone średnie wartości FEV_1 i FVC u pracowników wynosiły odpowiednio:

- u 60 pracowników (63,3% kobiet, średnia wieku $33,7 \pm 9,4$ lat, średnia liczba lat pracy $7,0 \pm 4,5$, średnia liczba lat pracy na badanym stanowisku $2,1 \pm 2,4$; 56,7% palących) zatrudnionych wcześniej przy formowaniu wtryskowym – FEV_1 $4,16 \pm 0,52 \text{ l}$ ($p = 0,69$) i FVC $3,37 \pm 0,45 \text{ l}$ ($p = 0,34$);
- u 110 pracowników (67,3% kobiet, średnia wieku $30,7 \pm 9,7$ lat, średnia liczba lat pracy $5,1 \pm 4,2$, średnia liczba lat pracy na badanym stanowisku $3,1 \pm 3,6$; 61,8% palących) zatrudnionych obecnie przy czynności formowania wtryskowego – FEV_1 $4,13 \pm 0,54 \text{ l}$ ($p = 0,69$) i FVC $3,35 \pm 0,44 \text{ l}$ ($p = 0,34$);
- u 57 pracowników (57,9% kobiet, średnia wieku $36,5 \pm 10,2$ lat, średnia liczba lat pracy $7,7 \pm 5,5$, średnia liczba lat pracy na badanym stanowisku $3,7 \pm 3,6$; 56,1% palących) nigdy niezatrudnionych przy formowaniu wtryskowym – FEV_1 $4,08 \pm 0,60 \text{ l}$ ($p = 0,69$) i FVC $3,25 \pm 0,40 \text{ l}$ ($p = 0,34$), (NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987).

W marcu 1984 r. przeprowadzono ocenę narażenia 32 pracowników (próbki powietrza z pomiarów indywidualnych) zatrudnionych w zakładzie przetwórstwa tworzyw sztucznych (NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987). Stężenia ADCA przy formowaniu wtryskowym wynosiły $0,001 \div 0,368 \text{ mg/m}^3$ (średnio: $0,0361 \text{ mg/m}^3$; średnie geometryczne stężenie $0,00689 \text{ mg/m}^3$), drugie największe w kolejności stężenie wynosiło $0,057 \text{ mg/m}^3$. Największe stężenie, na jakie narażony był robotnik w masce przeciwpyłowej ($0,752 \text{ mg/m}^3$), zarejestrowano na stanowisku mieszania ADCA z żywicami plastycznymi i spoiwami. Występowanie kaszlu zgłaszało 7 z 17 robotników (41%), 4 pracowników zgłosiło świszczący oddech związany z miejscem pracy, który u 2 pracowników był cięższy w poniedziałek niż w poprzedzającą go niedzielę, ale nie można stwierdzić, czy dane te odnoszą się do dnia, w którym przeprowadzono badania czynnościowe płuc. W tabeli 3 zamieszczono wyniki badań spirometrycznych robotników. Wskazują one, że:

- nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w czynności płuc w całej populacji pracowników, analizując wg działu (tj. byli robotnicy zajmujący się formowaniem wtryskowym, obecni robotnicy zajmujący się formowaniem wtryskowym i nigdy niepracujący przy formowaniu wtryskowym);
- badania spirometryczne nie wykazały obniżenia wartości FEV_1 lub FVC o więcej niż 2% u 3 pracowników, którzy subiektywnie zgłaszali nasilenie objawów w miejscu pracy. Autorzy zasugerowali, że mógł wystąpić efekt zdrowego pracownika, a stosowanie azodikarbonamidu zostało drastycznie zmniejszone około 4 lub 5 miesięcy przed testami czynności płuc;
- u 17 operatorów form wtryskowych zaobserwowano niewielkie, ale statystycznie istotne obniżenia średniej wielkości FVC i FEV_1 w ciągu zmiany roboczej w badaniu przed jej zakończeniem i po jej zakończeniu: FEV_1 : -141 ml , -35 ml i -30 ml oraz FVC : -120 ml , -8 ml i -50 ml u narażonych na ADCA o stężeniach odpowiednio: $0 \div 0,020 \text{ mg/m}^3$, $0,021 \div 0,040 \text{ mg/m}^3$ oraz $>0,040 \text{ mg/m}^3$.

Objawy ze strony układu oddechowego zgłaszane przez robotników pracujących przy formowaniu

wtryskowym były znacznie częstsze w porównaniu z pracownikami innych działów. W przypadku obecnych pracowników zajmujących się formowaniem wtryskowym autorzy badania (Whitehead i in. 1987) stwierdzili zwiększoną częstość występowania podrażnień: pieczenie oczu, nosa lub gardła co najmniej raz w miesiącu (iloraz szans OR: 1,77; $p = 0,04$), kaszel (OR: 1,98; $p = 0,02$), świszczący oddech (OR: 2,75; $p = 0,004$) i ból głowy (OR: 1,82; $p = 0,04$), (tab. 4). Analiza regresji tych danych dała jeszcze bardziej znaczące wyniki, gdy dane te zostały skorygowane o wiek, płeć, lata pracy oraz status palenia. Stwierdzono zwiększoną częstość występowania kaszlu (OR: 2,61; $p = 0,002$), świszczącego oddechu (OR: 3,86; $p < 0,001$) i bólu głowy (OR: 2,62; $p < 0,001$). W przypadku podrażnienia analiza ta wykazała istotną korelację ze statusem palacza. Porównanie objawów między robotnikami

pracującymi na wtryskarce i pracownikami innych działów również wykazało istotnie zwiększoną częstość występowania podrażnienia, kaszlu, duszności i bólu głowy. Podobne porównanie między robotnikami obecnie i poprzednio pracującymi przy formowaniu wtryskowym ze znanym narażeniem na ADCA oraz pracownikami obecnie i poprzednio pracującymi przy formowaniu wtryskowym bez znanego narażenia na ADCA wykazało znaczące różnice, które obejmowały: zwiększoną częstość występowania świszczącego oddechu związanego z dusznością (OR: 7,8; $p = 0,01$), przewlekłe zapalenie oskrzeli (OR: 3,47; $p = 0,02$), świszczący oddech (na podstawie objawów zgłaszanych przez pracowników; OR: 16,32; $p = 0,0001$) i ucisk w klatce piersiowej (OR: 6,72; $p = 0,02$), (NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987).

Tabela 3. Zmiany pomiędzy zmierzonymi wskaźnikami spirometrycznymi u robotników przed zakończeniem zmiany roboczej i po jej zakończeniu (Whitehead i in. 1987)

Table 3. Changes in spirometric measurements at workers before and after the work shift (Whitehead et al. 1987)

Stężenie ADCA, mg/m ³	Liczba pracowników	FVC, ml	FEV ₁ , ml	FEV ₁ /FVC, %
0 ÷ 0,020	7	-120±144	-141±180	-0,5±3,0
0,021 ÷ 0,040	6	-8±54	-35±127	-0,4±3,2
>0,040	4	-50±66	-30±92	-0,2±0,73
Stężenie ADCA × lata pracy w zawodzie (lata × mg/m ³):				
0 ÷ 10	6	-107±153	-113±180	-0,1±3,1
10 ÷ 50	6	-73±78	-123±137	-1,2±2,2
≥50	5	-2±61	20±80	0,6±2,7
łącznie	17	-64±110	-77±148	-0,3±2,6

Tabela 4. Objawy zgłaszane po narażeniu zawodowym na 1,1'-azodi(formamid) (ADCA), (NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987)

Table 4. Symptoms reported after occupational exposure to 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) (NIOSH 1985; Whitehead et al. 1987)

Objawy	Wszyscy pracownicy zgłaszający (n = 93), %	Zgłaszający operatorzy form wtryskowych (n = 110), %	Iloraz szans OR (p)		Iloraz szans OR (p) po skorygowaniu danych o wiek, płeć, lata pracy oraz status palenia
			wszystkie wydziały	wydział operatorów form wtryskowych	
Podrażnienie	34,4	48,2	1,77 (0,04)	5,25 (<0,0001)	5,05 (0,0002); 1,31 (0,57)
Kaszel	31,2	47,3	1,98 (0,02)	2,83 (0,03)	2,61 (0,002)
Świszczący oddech	14,0	30,9	2,75 (0,004)	2,96 (0,06)	3,86 (0,001)
Duszność	20,4	20,0	0,97 (0,99)	2,87 (0,03)	brak danych
Ucisk w klatce piersiowej	15,1	16,4	1,11 (0,80)	1,45 (0,55)	brak danych
Ból głowy	35,5	50,0	1,82 (0,04)	2,88 (0,02)	2,62 (0,001)
Wysypka na skórze	18,3	23,6	1,38 (0,35)	1,34 (0,59)	brak danych

Przy przyjęciu za skutek krytyczny zobiektywizowanych pomiarów parametrów funkcji płuc średnie narażenie 3 grup wynoszące $36 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ($0,036 \text{ mg}/\text{m}^3$) podane przez *Whiteheada* i in. (1987) jest rozważane przez NIOSH jako wartość LOAEC. Nie można jednak wyznaczyć NOAEC na podstawie zgłaszanych przez robotników subiektywnych objawów związanych z narażeniem na ADCA w pracy. Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska (EPA) oszacowała na podstawie tych badań tzw. skorygowany LOAEC na bardzo niskim poziomie, tj. $0,00689 \text{ mg}/\text{m}^3$ (średnie stężenie geometryczne), na podstawie zgłaszanych skutków dla układu oddechowego, w tym podrażnienia, kaszlu, świszczącego oddechu (związanego z dusznością) i przewlekłego zapalenia oskrzeli, wspieranego przez spadki FEV_1 i FVC u narażonych na ADCA pracowników formowania wtryskowego. EPA oszacowała stężenie referencyjne (*subchronic p-RfC* – maksymalne stężenie akceptowalne) na podstawie badania *Whiteheada* i in. (1987) na poziomie $7 \cdot 10^{-6} \text{ mg}/\text{m}^3$ (EPA 2014) po przyjęciu współczynnika niepewności 1000.

Ferris i in. (1977) opisali występowanie reakcji ze strony dróg oddechowych u pracowników zakładu, w którym szlifowano formy z azodikarbonamidem. Robotnicy (10/11, 91%) uskarżali się na pojawienie się takich objawów związanych z pracą, jak: mokry kaszel, duszność, zmęczenie, skurcze nóg i kaszel nocny. Firma ta rozdrabniała różne inne materiały, w tym herbicyd, terpolimer nylonowy, sulfanilamid, tlenek glinu, bezpostaciową krzemionkę i włókno szklane. Ogólnie badania spirometryczne przeprowadzone w miejscu pracy pod koniec zmiany roboczej po 4-dniowym okresie wolnym od pracy wykazały zmniejszenie parametrów funkcji spirometrycznych u 3 pracowników: zmniejszenie w pierwszy poniedziałek było większe niż w przez kolejne 2 dni ($\downarrow \text{FEV}_1$ odpowiednio o 21%, 8% i 10%; $\downarrow \text{FVC}$ odpowiednio 17%, 5% i 6%). W następny piątek i następny poniedziałek średnie zmniejszenia parametrów funkcji płuc były co najwyżej o połowę mniejsze u 4 pracowników. Autorzy doszli do wniosku, że wdychanie drobnopowodzonego pyłu ADCA powoduje nadmierną reaktywność płuc robotników, a wyniki sugerują ostry efekt oddechowy, a nie przewlekłą chorobę układu oddechowego. Zmierzone stężenia ADCA wynosiły $0,7 \div 2,1 \text{ mg}/\text{m}^3$ (4 próbki powietrza z indywidualnych pomiarów). Średnie średnice cząstek ADCA wynosiły $3,9 \mu\text{m}$ przed szlifowaniem i $2,2 \mu\text{m}$ po szlifowaniu (*Ferris* i in. 1977).

W latach 1994-2000 w zakładzie produkcyjnym firmy Bayer AG Leverkusen pobrano 15 próbek powietrza na stanowisku pracy z prawdopodobnym narażeniem na ADCA (w odniesieniu do pyłu całkowitego ADCA) przy wykonywaniu pracy związanej z obsługą maszyny napełniającej (7 stacjonarnych pomiarów w miejscu pracy i 8 pomiarów indywidualnych). Wyznaczony 90-procentowy percentyl narażenia na ADCA w miejscu pracy wynosił $2,7 \text{ mg}/\text{m}^3$, 50-procentowy percentyl wynosił $0,32 \text{ mg}/\text{m}^3$, natomiast średnia z 5 pomiarów wynosiła $<0,04 \text{ mg}/\text{m}^3$. Pracownicy napełniarki zostali wyposażeni w maski z filtrem (typu P2 lub P1) w celu uniknięcia narażenia na pył ADCA (SIDS 2001). Robotnicy uskarżali się na dyskomfort. Nie można było wykazać wyraźnych różnic w wynikach badań czynności płuc między osobami narażonymi i nienarażonymi na ADCA, ale odpowiedzi na kwestionariusz (subiektywne) ujawniły istotny związek między objawami podrażnienia, kaszlu, świszczącego oddechu i duszności a obecnym lub poprzednim zatrudnieniem na stanowisku operatora formy wtryskowej.

W tabeli 5 zestawiono skutki narażenia na ADCA w środowisku pracy wraz z wielkością narażenia.

Eksperti niemieccy (MAK 2018) zestawili informacje na temat przypadków astmy zawodowej w różnych państwach, w tym spowodowanej ADCA (tab. 6).

Działanie uczulające na skórę i drogi oddechowe – *case studies*

1,1'-Azodi(formamid) jest drobnym pyłem o wielkości cząstek około $1 \div 30 \mu\text{m}$, może wywoływać niespecyficzne reakcje prowokacyjne przy wystarczająco wysokich stężeniach. W opisach przypadków notowano występowanie reakcji skórnych i ze strony dróg oddechowych. Wszystkie obserwacje zostały przeprowadzone przed 2000 r. (z jednym wyjątkiem). Czas trwania prowokacji wahał się w szerokim zakresie od 15 s (*Malo* i in. 1985) do 40 min (*Normand* i in. 1989). Z wyjątkiem badania *Malo* i in. (1985) opisane reakcje to nie reakcje późne (występujące kilka godzin po prowokacji), ale reakcje o „postępowym” przebiegu, które wydają się rozpoczynać natychmiast po prowokacji i osiągać maksimum po kilku godzinach. Reakcje

Tabela 5. Skutki narażenia zawodowego na 1,1'-azodi(formamid) (ADCA)
Table 5. Effects of occupational exposure to 1,1'-azobis(formamide) (ADCA)

Rok, rodzaj narażenia	Narażenie: próbki stacjonarne, stężenie ADCA, mg/m ³	próbki powietrza z pomiarów indywidualnych, stężenie ADCA, mg/m ³	Narażenie: próbki powietrza z pomiarów indywidualnych, stężenie ADCA, mg/m ³	Objawy	Piśmiennictwo
1971 szlifowanie tworzywa	-	od poniedziałku: 0,7 mg/m ³ , 2,0 mg/m ³ i 2,1 mg/m ³ piątek: 1,9 mg/m ³ średnica cząstek pyłu: 3,9 µm (przed szlifowaniem) i 2,2 µm (po szlifowaniu); dodatkowo Al ₂ O ₃ , SiO ₂ , sulfanilamid, przetworzony		„ostre objawy” („grypa”, kaszel, głównie w nocy); badanie funkcji płuc u 3 pracowników przed zmianą i po zmianie w poniedziałek i 4 pracowników w piątek i w następny poniedziałek; badania spirometryczne przeprowadzone w miejscu pracy pod koniec zmiany roboczej po 4-dniowym okresie wolnym od pracy wykazały zmniejszenie parametrów funkcji spirometrycznych u 3 pracowników; zmniejszenie w pierwszy poniedziałek było większe niż w przez: kolejne 2 dni: FVC: -16,6%, -5,0% i -5,7% FEV ₁ : -20,8%, -8,3% i -10,4%	Ferris i in. 1977
1980 produkcja ADCA (podsumowanie wszystkich przypadków, które miały miejsce w latach 1966-1980)	-	2 ÷ 5 mg/m ³		narażenie przeszłe obserwacja 28 ze 151 pracowników z astmą, którą przypuszczalnie wywołało narażenie zawodowe na 1,1'-azodi(formamid); obserwowane objawy: - duszność, ucisk w klatce piersiowej, świszczący oddech, kaszel, niezbyt nosa i zapalenie spojówek u ponad połowy osób w ciągu pierwszych 3 miesięcy pracy i łącznie u 21 z 28 pracowników (75%) w ciągu pierwszego roku zatrudnienia; - reakcje natychmiastowe u 6/28 pracowników (21%), a u kolejnych 16/28 (57%) pracowników reakcje opóźnione; u 6 pracowników (22%) reakcje natychmiastowe wystąpiły dwukrotnie; dodatkowe zgłaszane objawy to: kaszel (39%), niezbyt nosa (29%), zapalenie spojówek (25%) i wysypka (4%); objawy nasiliły się po dłuższej ekspozycji na 1,1'-azodi(formamid) u 13/28 pracowników (46%) narażenie w trakcie badań - brak objawów wśród pracowników; - badanie czynnościowe układu oddechowego wykonane przed rozpoczęciem zmiany roboczej i po zakończonej zmianie nie wykazało różnic między grupami; - miejscowe testy skórne z 0,1-proc., 1-proc. i 5-proc. ADCA dały wyjątkowo ujemne	Slovak 1981
1983 produkcja podfóg z PCW	badanie wstępne 4 próbki p.o. 1 próbka – ślad 1 próbka – 2,1 mg/m ³ 1 próbka – 3,1 mg/m ³ (12 ÷ 53 min)	-		u 11 ankietowanych pracowników: częste objawy (brak innych szczegółów), doniesienia o podrażnieniu oczu i nosa, (nocny) kaszel, duszności, świszczący oddech lub ucisk w klatce piersiowej, krwawienia z nosa, odczyn skóry	Ahrenholz i in. 1985

1983 produkcja podłóg z PCW	badanie główne podczas wazenia i zrzucania odpadów na wysypisko; narażenie pośrednie (w pewnej odległości od miejsca narażenia): p.o. \pm 0,1 mg/m ³ (25 próbek powietrza)	narażenie bezpośrednie (krótkotrwałe: 7 ÷ 56 min) w 2 budynkach: - 0,15 ÷ 12 mg/m ³ (mediana: 3,8 mg/m ³ ; n = 3, pracownicy wyposażeni w maski przeciwpyłowe) - 0,59 ÷ 4,8 mg/m ³ (mediana: 1,6 mg/m ³ ; n = 5 pracownicy wyposażeni w maski przeciwpyłowe) mediana łącznie 2,7 mg/m ³ łączne narażenie bezpośrednie krótkotrwałe i pośrednie - 0,04 ÷ 1,7 mg/m ³ (mediana: 0,36 mg/m ³ ; n = 6); bez masek przeciwpyłowych - 8-godz. TWA (średnia ważona czasem): p.o. ÷ 0,91 mg/m ³ (mediana: 0,08 mg/m ³ ; n = 8 z maskami ochrony osobistej)	18 spośród 30 (60%) narażonych osób zgłosiło objawy ze strony układu oddechowego [podrażnienie oczu/nosa, (nocny) kaszel, świszczący oddech, duszność, ucisk w klatce piersiowej]; 26 z 30 narażonych osób zgłosiło objawy ze strony oczu lub górnych dróg oddechowych; badania spirometryczne wykazały brak różnic między pracownikami z objawami a pracownikami nienarażonymi w odniesieniu do objawów przed zakończeniem zmiany roboczej i po zakończeniu; średnie zmniejszenie FEV ₁ i FVC o około 2 ÷ 3% było nieistotne; badania czynnościowe płuc przed zakończeniem zmiany roboczej i po nim: FEV ₁ : średnio: -0,087 l w porównaniu z -0,048 l; FVC: średnio: -0,116 l w porównaniu z -0,043 l; w narażeniu bezpośrednim występował związek między wynikami testu czynnościowego płuc a narażeniem: zwiększanie się efektu pogorszenia czynności płuc wraz ze wzrostem narażenia	Ahrenholz i in. 1985
1983 wtryskiwanie tworzywa	niewykrywalny do 0,01 mg/m ³ (33 próbki powietrza); 0,11; 0,12; 0,13; 0,22; 1,43; 1,80 mg/m ³ (6 próbek powietrza pobranych na różnych stanowiskach mieszania i załadunku)	strefa oddychania (wtryskarka): p.o. \pm 0,014 mg/m ³ (26 próbek powietrza); strefa oddychania (mieszanie surowców) prawdopodobnie w maskach przeciwpyłowych): 0,13 mg/m ³ , 0,19 mg/m ³ i 0,28 mg/m ³ (w każdym przypadku po 1 próbce powietrza) pył całkowity: 0,03 ÷ 3,0 mg/m ³ (mediana: 0,81 mg/m ³)	objawy ze strony układu oddechowego (podrażnienie, kaszel, świszczący oddech, duszność, bóle głowy), brak przypisania objawów do odpowiedniego narażenia; względnie ryzyko połączenia świszczącego oddechu i duszności około 6 ÷ 8 razy większe wśród 136 pracowników, którzy mogli być potencjalnie narażeni, niż wśród 34 pracowników nienarażonych	NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987
1984 wtryskiwanie tworzywa	-	próbki powietrza z pomiarów indywidualnych (32 pracowników) - 1 stanowisko mieszania (pracownicy wyposażeni w maski ochrony osobistej): 0,75 mg/m ³ ; - 2 stanowiska mieszania bez masek ochronnych: 0,012 mg/m ³ i 0,057 mg/m ³ ; - robotnicy obsługujący wtryskarki bez masek ochronnych: 0,001 ÷ 0,014 mg/m ³ (12 próbek powietrza), 0,022 ÷ 0,036 mg/m ³ (10 próbek powietrza), 0,043 ÷ 0,057 mg/m ³ (6 próbek powietrza), 0,37 mg/m ³ (1 próbka powietrza), (mediana ogółem: 0,025 mg/m ³ ; mediana stężenia przy pracy przy obsłudze wtryskarek: 0,036 mg/m ³) badania po przejściu z obsługi ręcznej na zamknięty układ pneumatyczny; brak danych dotyczących całkowitego stężenia pyłu	wyniki badań spirometrycznych: a) nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w czynności płuc w całej populacji pracowników w analizie wg działu (tj. byli pracownicy zajmujący się formowaniem wtryskowym, obecni robotnicy zajmujący się formowaniem wtryskowym i nigdy niepracujący przy formowaniu wtryskowym); b) zaobserwowano niewielkie, ale statystycznie istotne zmniejszenie średniej FVC i FEV ₁ w ciągu zmiany roboczej (przed jej zakończeniem i po nim) u 17 operatorów form wtryskowych; w badaniach czynnościowych płuc stwierdzono istotne statystycznie, ale niewielkie zmniejszenia średnich wartości FEV ₁ (-141 ml, -35 ml i -30 ml) oraz FVC (-120 ml, -8 ml i -50 ml) u robotników narażonych odpowiednio na związek w stężeniach: do 0,020 mg/m ³ , 0,021 ÷ 0,040 mg/m ³ oraz >0,040 mg/m ³ ; objawy ze strony układu oddechowego zgłaszane przez robotników pracujących przy formowaniu wtryskowym były znacznie częstsze niż u pracowników innych działów; w przypadku obecnych pracowników zajmujących się formowaniem wtryskowym autorzy badania stwierdzili zwiększoną częstość występowania podrażnień: pieczenie oczu, nosa lub gardła co najmniej raz w miesiącu (iloraz szans OR: 1,77; p = 0,04), kaszel (OR: 1,98; p = 0,02), świszczący oddech (OR: 2,75; p = 0,004) i ból głowy (OR: 1,82; p = 0,04); porównanie objawów między robotnikami pracującymi przy wtryskarce i pracownikami innych działów również wykazało istotnie zwiększoną częstość występowania podrażnienia, kaszlu, duszności i bólu głowy u robotników obsługujących formy wtryskowe	NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987

cd. tab. 5 / Table 5 cont.

Rok, rodzaj narażenia	Narażenie: próbki stacjonarne, stężenie ADCA, mg/m ³	Narażenie: próbki powietrza z pomiarów indywidualnych, stężenie ADCA, mg/m ³	Objawy	Piśmiennictwo
30 narażonych/16 nienarażonych wdychanie, narażenie zawodowe, średnie zatrudnienie: 6,25 lat, produkcja elastycznych podłóg od 1970 r.	0,054 ÷ 4,3 mg/m ³ (średnia: 1,3 mg/m ³) u osób narażonych bezpośrednio i nienarażonych; 0,036 mg/m ³ u osób narażonych pośrednio	nasilone (18/30, 60%) objawy ze strony dolnych dróg oddechowych (kaszel, świszczący oddech i duszność) w porównaniu z 1/16 (6%) pracowników nienarażonych; zwiększone (26/30, 87%) objawy ze strony górnych dróg oddechowych (zatkany nos, swędzenie lub podrażnienie oczu i katar) w porównaniu z 5/16 (31%) pracownikami nienarażonymi	Alrenholz i in. 1985	
1994-2000 produkcja, napełnianie	15 próbek dla całej zmiany roboczej (7 próbek pobranych stacjonarnie); 8 próbek powietrza z pomiarów indywidualnych, 90-proc. percentyl: 2,7 mg/m ³ ; 50-proc. percentyl: 0,32 mg/m ³ ; 5 próbek powietrza <0,04 mg/m ³ , od 1995 r. stosowanie środków ochrony indywidualnej (masksi przeciwpyłowe P1 lub P2)	dyskomfort; nie można było wykazać wyraźnych różnic w wynikach badań czynności płuc między osobami narażonymi na ADCA i osobami nienarażonymi, ale odpowiedzi na kwestionariusz (subiektywne) ujawniły istotny związek między objawami podrażnienia (kaszlu, świszczącego oddechu, duszności) a obecnym lub poprzednim zatrudnieniem jako operator formy wtryskowej	SIDS 2001	
1993 frezowanie	zmiana dzienna: średnie stężenie 10,8 mg/m ³ ; zmiana nocna: średnie stężenie 2,55 mg/m ³	pracownicy nocnej zmiany skarżyli się na objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	
1995 frezowanie	średnie stężenie 1,21 mg/m ³ ; zmiana nocna: średnie stężenie 0,27 mg/m ³	objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	
1997 mielenie	p.o. ÷ 1,16 mg/m ³ (TWA)	objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	
2003 produkcja podłóg z PCW	ślady do 0,33 mg/m ³ (TWA)	objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	
2009 produkcja dyspersji ADCA	do 0,23 mg/m ³ ; krótkoterminowe	objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	
	0,64 ÷ 3,0 mg/m ³ (TWA)	objawy ze strony układu oddechowego (brak szczegółów)	ECHA 2012a	

Objaśnienia:
 p.o. – poniżej oznaczalności metody (oznacza, że stężenie lub ilość substancji jest zbyt niska, aby można ją było wiarygodnie zmierzyć przy użyciu danej metody analitycznej).
 TWA – średnia ważona czasem (Time-Weighted Average).
 FEV₁ – natężona objętość wydechu w ciągu jednej sekundy.
 FVC – natężona pojemność życiowa.

Tabela 6. Zestawienie danych dotyczących liczby przypadków astmy zawodowej (w tym spowodowanej narażeniem na ADCA) u robotnikach w różnych państwach (cyt. za MAK 2018)**Table 6.** Summary of data on the number of cases of occupational asthma (including those caused by ADCA exposure) among workers in various countries (cited from MAK 2018)

Rok	Państwo	Liczba wszystkich przypadków astmy zawodowej	Liczba przypadków astmy zawodowej w wyniku narażenia na ADCA	Nazwa projektu	Piśmiennictwo
1989-1991	Wielka Brytania	1528	17	SWORD (<i>Surveillance of Work-Related and Occupational Respiratory Disease Project</i>)	McDonald i in. 2000
1992-1994		2857	11		
1995-1997		3002	2		
1996-2011		brak danych	0	OPRA (<i>Occupational Physicians Reporting Activity</i>)	ECHA 2012a
1989-1995	Finlandia	2602	0	Fiński Rejestr Chorób Zawodowych (FROD) Fińskiego Instytutu Zdrowia Zawodowego (FIOH)	Karjalainen i in. 2000
1986-2002		5591	9		Piipari, Keskinen 2005
2000-2012	Holandia	brak danych	1	Holenderskie Narodowe Centrum Chorób Zawodowych	ECHA 2012a
2004-2009	Korea Południowa	236	2	koreański program nadzoru astmy związanej z pracą	Kwon i in. 2015
1996-1999	Francja	2178	0	ONAP (<i>Observatoire National des Asthmes Professionnels</i>)	Ameille i in. 2003

o podobnym przebiegu obserwowano np. po prowokacji diizocyjanianami.

Po przypadkowym narażeniu na 1,1'-azodi(formamid) pracownika, który w ciągu poprzednich 10 lat cierpiał na sporadyczne zmiany skórne na przedramionach i nogach, rozwinął się u niego wyprysk na całym ciele z wyjątkiem twarzy i dłoni. W teście płatkowym zaobserwowano reakcję w stopniu 2+ (w skali 3-stopniowej) na 1-procentowy 1,1'-azodi(formamid) w wazelinie po 48 h i 72 h. Nie obserwowano żadnej reakcji alergicznej na preparat o stężeniu 0,1% ADCA. Testy płatkowe przeprowadzone u 5 innych pracowników, którzy skarżyli się na problemy skórne podczas pracy z ADCA, były negatywne (Bonsall 1984).

U 58-letniego pracownika zakładu tekstylnego, który w swojej pracy używał piankowych zatyczek do uszu zawierających ADCA, rozwinęły się nawracające reakcje zapalne w przewodach słuchowych zewnętrznych. Test płatkowy wywołał reakcje w stopniu 2+ na 1,1'-azodi(formamid) o stężeniu 1% i 5% w wazelinie po 48 h i 96 h, natomiast nie obserwowano reakcji na 0,1-procentowy ADCA w formułacji (Yates, Dixon 1988).

Kolejny pozytywny wynik testu płatkowego z azodikarbonamidem odnotowano u 59-letniego piekarza cierpiącego na alergię, który przepracował 36 lat i od co najmniej 20 lat miał egzemę na rękach i twarzy. Nie podano informacji o stężeniu ADCA stosowanym

w testach (Nava i in. 1983). U 56-letniego pracownika zakładu produkującego 1,1'-azodi(formamid) w postaci drobno zmielonego proszku wystąpił kaszel, duszności i świszczący oddech po 7 latach od rozpoczęcia pracy. Mimo podawania leków objawy stopniowo nasilały się w ciągu następnych 3 lat, zwłaszcza wieczorem. FEV₁ wynosiła 1,78 l (67,7% wartości prawidłowej). Obserwowano umiarkowaną, niespecyficzną nadreaktywność oskrzeli (PC20(metacholina): 0,85 mg/ml).

Bezpośrednio po miejscowym wziewnym leczeniu budesonidem (400 µg dwa razy na dobę) i salbutamolem (w razie potrzeby) przez 4 tygodnie, doustnymi dawkami teofiliny (200 mg dwa razy na dobę) i bambuterolu (10 mg raz na dobę) oraz prednizolonem przez 2 tygodnie FEV₁ powróciła prawie do normalnego poziomu (2,58 l), a niespecyficzna nadreaktywność oskrzeli znacznie się zmniejszyła (PC20(metacholina): 4,69 mg/ml). Test prowokacyjny przeprowadzony po tygodniu bez stosowania terapii farmakologicznej spowodował 22-procentowe obniżenie FEV₁ po 5 h od zakończenia 10-minutowego narażenia na mieszaninę 1:1 azodikarbonamidu i laktozy. Chory skarżył się na kaszel i ucisk w klatce piersiowej. Niespecyficzna nadreaktywność oskrzeli ponownie zwiększyła się 2 dni po teście prowokacyjnym (PC20(metacholina): 0,47 mg/ml). Miejscowe testy skórne z 0,1-procentowym, 1-procentowym i 5-procentowym

azodikarbonamidem (w sulfotlenku dimetylu) dały wynik negatywny, natomiast test płatkowy z 1-procentowym i 5-procentowym azodikarbonamidem (w wazelinie) dał wynik pozytywny (reakcja 2+ po 48 h i 96 h). Test prowokacyjny przeprowadzony u 2 chorych na astmę bez narażenia na 1,1'-azodi(formamid), ale z podobną niespecyficzną nadreaktywnością oskrzeli (PC20(metacholina): 3,91 mg/ml i 5,13 mg/ml), nie ujawnił istotnych zmian w FEV₁ (Kim i in. 2004).

Jeden pracownik ze skazą atopową i jeden pracownik bez atopii byli zatrudnieni w zakładzie tworzyw sztucznych przez około 4 lata. W tym czasie byli narażeni na działanie azodikarbonamidu przez około 1 lub 2 tygodnie, 3 lub 4 razy w roku. Po zaledwie kilku miesiącach u obu wystąpiły podczas pracy objawy ze strony górnych dróg oddechowych (podrażnienie oczu i nosa), a następnie ataki astmy (nocne). Po 1 miesiącu bez narażenia u obu pracowników wykonano próbę prowokacji oskrzelowej mieszaniną 1: 1 azodikarbonamidu i laktozy przez 15 s. U pracownika ze skazą atopową rozwinęła się opóźniona reakcja astmatyczna (rozpoczynająca się po 3 h) z maksymalnym zmniejszeniem FEV₁ o 24% po 6 h. Ponadto wzrosła u niego nieswoista nadreaktywność oskrzeli [PC20(histamina): 2 mg/ml → 0,28 mg/ml (po 5 dniach) i 0,84 mg/ml (po 19 dniach)], co wróciło do normy dopiero po 6 tygodniach. U drugiego pracownika stwierdzono zmniejszenie FEV₁ o 26% po 30 min i 23% po 5 ÷ 6 h. U tego pacjenta niespecyficzną nadreaktywność oskrzeli (PC20(histamina): 0,5 mg/ml → 1,2 mg/ml) nie zwiększyła się po teście. W grupie kontrolnej ze skazą atopową i astmą niezawodową nie stwierdzono odpowiedzi astmatycznej na 15-minutową prowokację (Malo i in. 1985; Pineau i in. 1985).

U 50-letniego pracownika zatrudnionego przez 10 lat w zakładzie przetwórstwa tworzyw sztucznych zanotowano zapalenia skóry twarzy, epizody duszności i objawy astmy. Przez około 9 miesięcy był on zatrudniony przy mieleniu i mieszaniu środków porotwórczych bez pigmentów. Duszność pojawiała się po około 5 ÷ 6 h od rozpoczęcia pracy, a czasami dopiero w nocy. Pracownik miał kontakt z poliuretanami, żywicami formaldehydowymi i melaminowo-formaldehydowymi, jednak wszystkie wyniki testu prowokacyjnego były negatywne (brak innych szczegółów). W teście prowokacyjnym z azodikarbonamidem nie wystąpiło wyraźne zmniejszenie FEV₁ przez około 4 h po

prowokacji, ale pacjent zgłaszał objawy astmy później, w godzinach nocnych (około 14 h po prowokacji). Robotnik ten został zastąpiony przez innego pracownika, który wcześniej pracował jako piekarz. Po około 1 miesiącu również u niego pojawiły się objawy astmatyczne pod koniec zmiany lub kilka godzin później. Test prowokacyjny z proszkiem azodikarbonamidu (brak innych szczegółów) spowodował ciągłe zmniejszanie FEV₁, które osiągnęło maksimum (22%) 3 h i 40 min po 40-minutowej prowokacji. W następnym roku, po zastosowaniu działań korygujących warunki pracy, nie wystąpiły już żadne objawy ze strony układu oddechowego. Jednak przypadkowa ponowna ekspozycja na azodikarbonamid wywołała kolejną reakcję astmatyczną. U trzeciego pracownika innego zakładu wystąpiły objawy astmy po tym, jak zaczął pracować przy procesie, w którym przez około 2 tygodnie w roku stosowano azodikarbonamid; objawy zaczęły się, gdy tylko rozpoczęła się ekspozycja na azodikarbonamid. Czwarty, 54-letni pracownik tego samego zakładu, który musiał przerwać praktykę w piekarni z powodu przewlekłej egzemy i ataków astmy, dostał ataku astmy natychmiast po pierwszym kontakcie z azodikarbonamidem w zakładzie tworzyw sztucznych (Normand i in. 1989).

U pracownika, który obsługiwał prasę do formowania tworzywa akrylonitrylowo-butadienowo-styrenowego z poliuretanem, rozwinął się związany z pracą nieżyt nosa około roku po zastosowaniu w zakładzie 1,1'-azodi(formamid). Po raz pierwszy miało to miejsce popołudniami w dni robocze; później pracownik skarżył się na suchy kaszel i duszności wieczorami i w nocy. Jednogodzinna próba prowokacyjna (po zastosowaniu 100 g 1,1'-azodi(formamid), ogrzanego do 37°C) nie doprowadziła do zmian FVC/FEV₁ w ciągu kolejnych 24 h. Jednak 3 ekspozycje przeprowadzone w nienastępujących po sobie dniach w warunkach pracy spowodowały ciągłe zmniejszanie FEV₁, które 4 ÷ 6 h po zakończeniu zmiany roboczej wynosiło 50% wartości początkowej (przed rozpoczęciem zmiany). Następnego ranka wartość FEV₁ prawie wróciła do wartości początkowej, ustalonej dzień wcześniej. Jeśli pracownik był narażony ponownie 3 razy, po uprzednim podaniu kromoglikanu disodowego w żadnym z tych dni nie wystąpiło wyraźne zmniejszenie FEV₁, a średnie zmniejszenie wynosiło około 10% (Valentino, Comai 1985).

U robotnika zatrudnionego przy produkcji 1,1'-azodi(formamid) rozwinął się nieżyt nosa ze

stopniowo narastającymi nocnymi napadami kaszlu po około 3 tygodniach od narażenia. Nie wykonano próby prowokacyjnej ani innych badań alergologicznych. Żadne inne objawy ze strony układu oddechowego związane z miejscem pracy nie wystąpiły, gdy w miarę możliwości unikano narażenia na 1,1'-azodi(formamid) (Alt, Diller 1988).

Podsumowując, 1,1'-azodi(formamid) to drobny pył o wielkości cząstek $1 \div 30 \mu\text{m}$, który może wywoływać niespecyficzne reakcje skórne i oddechowe przy wysokim stężeniu. W analizowanych przypadkach odnotowano różnorodne reakcje, zarówno natychmiastowe, jak i opóźnione, które przypominają reakcje na diizocyjaniany. Zanotowano przypadki wyprysku, szczególnie u pracowników z historią kontaktu z 1,1'-azodi(formamidem). Testy płatkowe często potwierdzały alergię na substancję, przy czym reakcje były pozytywne przy stężeniu 1% lub 5%, a negatywne przy 0,1%. W kilku przypadkach pojawiły się objawy astmatyczne, często po dłuższej ekspozycji na substancję, w tym kaszel, duszności oraz świszczący oddech. Testy prowokacyjne wykazały zmniejszenie FEV_1 , czasem do 50% wartości początkowej, co potwierdzało nadwrażliwość oskrzeli na 1,1'-azodi(formamid). Pracownicy często reagowali na substancję po kilku miesiącach pracy, a objawy pojawiały się głównie w godzinach nocnych po zakończeniu zmiany. W niektórych przypadkach objawy były opóźnione i trwały kilka godzin po ekspozycji. Zatem można stwierdzić, że 1,1'-azodi(formamid) może wywoływać zarówno ostre, jak i przewlekłe reakcje alergiczne u pracowników narażonych na jego działanie, co sugeruje konieczność stosowania odpowiednich środków ochronnych i minimalizacji narażenia na tę substancję w miejscu pracy.

DZIAŁANIE TOKSYCZNE NA ZWIERZĘTA

Toksyczność ostra i krótkoterminowa

Wyznaczona mediana stężenia śmiertelnego dla aerozolu 1,1'-azodi(formamidu) (MMAD: $5,8 \mu\text{m}$) wynosi $6100 \text{ mg/m}^3/4 \text{ h}$ u samców i samic szczurów (5 zwierząt/grupę). Pod koniec narażenia u 8 na 10 zwierząt stwierdzono duszność, ale nie zaobserwowano śmiertelności. Badanie mikroskopowe nie wykazało żadnych nietypowych zmian po 14 dniach od zakończenia narażenia (Mewhinney i in. 1987).

U kawii domowych poddanych działaniu 1,1'-azodi(formamidu) o stężeniach 19 mg/m^3 , 58 mg/m^3 lub 97 mg/m^3 w pletyzmo grafie przez 1 h określono niektóre parametry funkcji płuc przed narażeniem samej głowy, w trakcie narażenia oraz do 24 h po narażeniu. Pod koniec narażenia przeprowadzono badanie histologiczne tkanek. Obserwowano niewielkie, związane ze stężeniem obniżenie minutowej objętości oddechowej o około 12%, 15% i 24% (w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi) po narażeniu na ADCA o stężeniach odpowiednio: 19 mg/m^3 , 58 mg/m^3 lub 97 mg/m^3 . W grupie o wysokim narażeniu stwierdzono zmniejszenie częstości oddechów; nie zanotowano żadnych nietypowych zmian histopatologicznych w drogach oddechowych. Wyniki sugerują, że 1,1'-azodi(formamid) ma bardzo niski potencjał drażniący (Shopp i in. 1987).

Wartość LD_{50} po podaniu dożołądkowym wynosiła powyżej 4000 mg/kg mc. u samców i samic szczurów Alderley Park oraz powyżej 5000 mg/kg mc. u samców szczurów Wistar (OECD 2007).

W dwóch badaniach na 10 i 15 samcach szczurów Wistar nie stwierdzono śmiertelności po narażeniu dożołądkowym na dawkę 2500 mg/kg mc. Objawy kliniczne obserwowane u zwierząt wskazywały na zły ogólny stan zdrowia (OECD 2007).

Dawka 500 mg/kg mc. po narażeniu przez skórę była tolerowana przez 5 samców szczurów Wistar bez żadnych oznak toksyczności lub śmiertelności (OECD 2007). W badaniu przesiewowym u 1 samicy królika po dawce 2000 mg/kg mc. podanej na skórę nie zaobserwowano toksyczności ogólnoustrojowej (OECD 2007).

Działanie drażniące na skórę

1,1'-Azodi(formamid) nie powodował podrażnień skóry u królików (BG Chemie 1993). Po 24-godzinnej, półokluzyjnej aplikacji 50 mg lub 500 mg 1,1'-azodi(formamidu) na skórę ucha królików New Zealand White (2/grupę) również nie odnotowano żadnych niekorzystnych skutków działania na skórę podczas 7-dniowego okresu obserwacji (OECD 2007).

Podrażnienia ucha również nie zaobserwowano u królików po 24-godzinnej aplikacji półokluzyjnej 50 mg azodikarbonamidu o stężeniu 90% (BG Chemie 1993; OECD 2007).

1,1'-Azodi(formamid) наносzono 6 razy pod opatrunkiem okluzyjnym na ogoloną skórę grzbietu królików (3/grupę) w postaci 50-procentowego

wodnego roztworu lub 50-procentowej zawiesiny w acetonie. Po drugiej aplikacji zaobserwowano łagodny rumień i łuszczenie się skóry, ale objawy te nie były obserwowane po czwartej aplikacji (BG Chemie 1993).

Działanie drażniące na oczy

1,1'-Azodi(formamid) w postaci proszku wywoływał odwracalny obrzęk i zaczerwienienie spojówek oka u królika w wyniku podrażnienia mechanicznego (BG Chemie 1993).

Zakropienie 50 mg mieszaniny 90% azodikarbonamidu i 10% soli cynkowej kwasu benzenowosulfonowego do worka spojówkowego oczu 2 królików New Zealand White spowodowało zaczerwienienie i obrzęk spojówek, które utrzymywały się przez 3 dni i były odwracalne po 7-dniowym okresie obserwacji. W rogówce nie stwierdzono odczynów zapalnych (BG Chemie 1993; OECD 2007).

Po wkropleniu 50 μ l 25-procentowej wodnej zawiesiny 1,1'-azodi(formamid) do oka królików ($n = 3$) wystąpiło łagodne podrażnienie spojówek u 2 zwierząt po 1 h od aplikacji, które ustąpiło po 24 h (BG Chemie 1993).

Działanie uczulające na skórę

Negatywne wyniki uzyskano w teście lokalnych węzłów chłonnych (LLNA) przeprowadzonym zgodnie z wytycznymi OECD 429 na grupie 5 samic myszy CBA/J. 1,1'-Azodi(formamid) użyto w stężeniach: 10%, 25% oraz 50% (formulacja w glikolu propylenowym). Uzyskane wskaźniki stymulacji wynosiły odpowiednio: 1,2, 1,2 oraz 1,1 (w porównaniu z grupą kontrolną), (WIL Research Europe 2014). Za potwierdzone działanie uczulające uznaje się związku, dla których *stimulation index* (zwiększona liczba proliferujących komórek w węzłach chłonnych uszu) jest ≥ 3 .

Test maksymalizacji (GPMT) przeprowadzony na 10 samicach kawii domowych (Dunkin Hartley, zgodnie z wytycznymi OECD nr 406) dał wyniki negatywne. W tym teście śródskórną indukcję przeprowadzono za pomocą 10-procentowego azodikarbonamidu w roztworze wodnym. Gdy przeprowadzono prowokację za pomocą preparatów azodikarbonamidu o stężeniu 50%, u żadnego zwierzęcia nie wystąpiły objawy rumienia ani obrzęku. Wrażliwość szczepu została zweryfikowana za pomocą aldehydu heksylowo-cynamonowego około 3 miesiące wcześniej (WIL Research Europe 2014).

Również w klasycznym teście Bühlera na 10 kawiach domowych narażonych na 50-procentową wodną zawiesinę azodikarbonamidu nie stwierdzono działania uczulającego związku (ECHA 2016).

W badaniu na kawiach domowych ($n = 4$), którym aplikowano codziennie przez 3 dni na ogolone boki i na zewnętrzną powierzchnię uszu 0,1 ml azodikarbonamidu o stężeniu 1% (w dimetyloformamidzie), po 24 h nie zaobserwowano żadnych reakcji skórnych (Stevens 1967).

Podsumowując, można stwierdzić, że w 3 standardowych testach na zwierzętach (przeprowadzonych zgodnie z GLP) ADCA nie powodował działania uczulającego. Wyraźnie negatywne wyniki uzyskano w teście maksymalizacji, teście Bühlera i LLNA. Autorzy podkreślają, że nie można całkowicie wykluczyć działania uczulającego ADCA u kawii domowych, ponieważ substancję aplikowano w roztworach wodnych, w których jest słabo rozpuszczalna.

Podanie per os – toksyczność krótkoterminowa

Szczurom Wistar ($n = 40$) podawano ADCA w standardowej diecie (29% białka, 11% tłuszczu, 58% węglowodanów) w stężeniach: 1%, 2% lub 4% przez okres 28 dni *ad libitum*. Dokonywano cotygodniowej oceny masy ciała oraz dziennej oceny spożycia pokarmu. W 29. dniu wykonano testy behawioralne: otwartego pola, labiryntu Y, labiryntu z ramionami promienistymi i uniesionego labiryntu krzyżowego. Dwadzieścia cztery godziny po ostatnim teście behawioralnym zwierzęta uśmiercono, usunięto im mózgi i oceniono je pod kątem peroksydacji lipidów i ogólnej histologii. Do oceny wyników zastosowano test ezANOVA Chrisa Rordena dla Windows (wersja 8). Stwierdzono znaczne zmniejszenie przyrostu masy ciała/spożycia pokarmu, a masa ciała istotnie się obniżyła. Wskaźnik testu ANOVA wraz ze stopniami swobody $F(3, 36)$ wynosi 286 ($p < 0,001$) dla obniżenia przyrostu masy ciała i $F(3, 36) = 432$ ($p < 0,001$) dla zmniejszenia masy ciała we wszystkich grupach karmionych paszą z ADCA (w stężeniach 1%, 2% i 4%) w porównaniu z grupą kontrolną. Stwierdzono znaczne zahamowanie poziomej lokomocji i zachowań związanych ze wstawianiem, jednak aktywność pielęgnacyjna zwierząt znacznie wzrosła. Aktywność motoryczna zmniejszyła się istotnie ($F(3, 28) = 18,2$; $p < 0,001$) we wszystkich grupach. Zachowania pielęgnacyjne istotnie wzrosły ($F(3, 28) = 6,60$; $p < 0,02$) w grupie karmionej ADCA na poziomie 2% w porównaniu z grupą kontrolną.

Wystąpiło również znaczne skrócenie czasu otwartego ramienia w teście labiryntu i znaczny wzrost naprzemienności labiryntu Y przy najniższej dawce ADCA. Przestrzenna pamięć robocza labiryntu Y wzrosła znacząco ($F(3, 28) = 26,10; p < 0,001$) w grupie karmionej paszą z ADCA o stężeniu 1% w porównaniu z grupą kontrolną. Czas otwartego ramienia znacznie się zmniejszył ($F(3, 28) = 18,10; p < 0,001$) we wszystkich grupach narażonych. Nie stwierdzono wpływu ekspozycji na zmiany stanu oksydacyjnego mózgu ani neuromorfologię. Nie było istotnej różnicy w aktywności dysmutazy ponadtlenkowej, poziomach zredukowanego glutatioenu lub dialdehydu malonowego w mózgu w żadnej z grup karmionych paszą z ADCA. Wszystkie cechy hipokampu mieściły się w normie histologicznej (Olofinnade i in. 2020).

Działanie uczulające na drogi oddechowe

W doświadczeniu trwającym 4 tygodnie oceniono także działanie uczulające ADCA. Samce kawii domowych Hartley narażano na aerozol azodikarbonamidu o stężeniach: 0 mg/m³ (kontrola), 51 mg/m³ lub 200 mg/m³ 6 h/dzień, 5 dni/tydzień przez 4 tygodnie (tab. 7). Jedną grupę zbadano pod kątem działania uczulającego podczas prowokacji wziewnej ADCA przed 4-tygodniową ekspozycją na związek oraz 3. dnia po niej. Stężenia ADCA w prowokacji były identyczne ze stężeniami w powtarzanym narażeniu (51 mg/m³ lub 200 mg/m³). Drugą grupę badano pod kątem działania uczulającego na drogi oddechowe (oceniając poprzez obserwacje funkcji układu oddechowego) przez prowokację wziewną z użyciem aerozolu histaminy: przed 4-tygodniowym narażeniem na 1,1'-azodi(formamid) i po nim. Oceniono również wyniki testów skórnych pod kątem odpowiedzi immunologicznej na ADCA, masę ciała i wyniki badań histopatologicznych dróg oddechowych. Do testów skórnych użyto roztworów ADCA w soli fizjologicznej o stężeniach: 0,05%, 0,1%, 0,5% i 1%. Miejsca iniekcji oceniano po 15 min oraz po 6 h, 24 h, 48 h i 72 h. Czterotygodniowe narażenie nie spowodowało ani działania uczulającego na drogi oddechowe, ani nieswoistej nadreaktywności oskrzeli. Nie obserwowano także pozytywnych wyników w testach skórnych, zmian masy ciała oraz nieprawidłowości w badaniach histopatologicznych. W obu grupach dawkowania (narażanej na aerozol azodikarbonamidu oraz narażanej na aerozol histaminy przed

4-tygodniową ekspozycją na ADCA i po niej) 6 z 10 zwierząt reagowało bardziej wyraźną zmianą przewodnictwa właściwego dróg oddechowych. Średnica rumienia wywołanego histaminą była najmniejsza u zwierząt kontrolnych, a największa u zwierząt, którym podano 1,1'-azodi(formamid) o stężeniu 200 mg/m³ (średnio 4,2 mm w porównaniu z 2,4 mm w grupie kontrolnej i 3,6 mm w grupie narażonej na małe stężenie). Wyniki te wskazują, że ADCA nie jest czynnikiem uczulającym na płuca u kawii domowych narażonych wielokrotnie przez 4 tygodnie i prowokowanych w celu symulacji narażenia „w poniedziałek rano” (Gerlach i in. 1989), (tab. 7).

Wniosek: 4-tygodniowa ekspozycja na ADCA nie wywołała istotnych zmian w wynikach testów skórnych ani nieprawidłowości w badaniach histopatologicznych dróg oddechowych, co wskazuje na brak działania uczulającego tej substancji w warunkach tego eksperymentu. ADCA nie wykazuje działania uczulającego na układ oddechowy ani nie powoduje nieswoistej nadreaktywności oskrzeli u kawii domowych nawet po wielokrotnym 4-tygodniowym narażeniu na jego aerozol. Mimo że u niektórych zwierząt zauważono większą reakcję przewodnictwa dróg oddechowych oraz większą średnicę rumienia wywołanego histaminą w grupach narażonych na ADCA, zmiany te nie były wystarczająco znaczące, aby uznać ADCA za substancję uczulającą na płuca.

Toksyczność podprzewlekła i przewlekła

Badania toksyczności po podaniu wielokrotnym 1,1'-azodi(formamidu) przeprowadzono na szczurach i myszach drogą *per os* i inhalacyjną (tab. 8).

Narażenie inhalacyjne

W 13-tygodniowych badaniach inhalacyjnych wartość NOAEC 1,1'-azodi(formamidu) wyznaczono na poziomie 50 mg/m³ dla samców myszy B6C3F1, 100 mg/m³ dla samców szczurów F344 i samic myszy B6C3F1 oraz 200 mg/m³ dla samic szczurów F344. ADCA stosowano w eksperymencie w trzech stężeniach: 50 mg/m³, 100 mg/m³ lub 200 mg/m³. Nie zaobserwowano śmiertelności ani objawów klinicznych związanych z ekspozycją. Końcowa masa ciała narażonych szczurów nie różniła się istotnie od masy szczurów kontrolnych, natomiast masa ciała myszy uległa istotnemu zmniejszeniu po ekspozycji na związek w stężeniach 100 mg/m³ i 200 mg/m³, a poziomy hormonów tarczycy T3

Tabela 7. Wyniki badań toksyczności krótkoterminowej 1,1'-azodii (formamidu) (ADCA) u zwierząt doświadczalnych
Table 7. Results of short-term toxicity studies of 1,1'-azobis (formamide) (ADCA) in laboratory animals

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt na grupę	Dawki/stężenia badane	Czas trwania eksperymentu	Skutki narażenia	Wartość NOAEC/NOAEL	Piśmiennictwo
Narażenie inhalacyjne					
Szczury F344, 10 ♂, 10 ♀	0 (kontrola), 2, 10, 50, 100, 200 mg/m ³ narażenie na aerozol, rozmiar cząstek: 1,89 ÷ 2,45 µm, MMAD: 2,13 µm	2 tygodnie, 12 ekspozycji, 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	100 mg/m ³ ♂	♂ NOAEC	Medinsky i in. 1990
			200 mg/m ³ ♂ ↓ masy wątroby, ↓ końcowej masy ciała statystycznie istotnie; brak zmian histopatologicznych	♀ NOAEC	
Myszy B6C3F1, 10 ♂, 10 ♀	0 (kontrola), 2, 10, 50, 100, 200 mg/m ³ narażenie na aerozol, rozmiar cząstek: 1,89 ÷ 2,45 µm, MMAD: 2,13 µm	2 tygodnie, 12 ekspozycji, 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	100 mg/m ³ ♂, ♀	♂, ♀ NOAEC	Medinsky i in. 1990
			200 mg/m ³ ♂, ♀ ↓ masy wątroby, ↓ końcowej masy ciała; brak zmian histopatologicznych; nie obserwowano działania methemoglobinotwórczego oraz zwiększonego poziomu acetylocholinoesterazy we krwi		
Kawie domowe Hartley, 10	0 (kontrola), 51, 200 mg/m ³	4 tygodnie, 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	brak zmian histopatologicznych w jamie nosowej, krtań, tchawicy, płucach, węzłach chłonnych tchawiczno-oskrzelowych lub podkolanowych, na skórze; masa ciała niezmienną; brak nadreaktywności dróg oddechowych		Gerlach i in. 1989
Narażenie per os					
Szczury F344, ♂, ♀ (5/płeć/dawkę)	0 (kontrola), 625, 1250, 2500, 5000, 10 000 mg/kg mc.	14 dni, 5 dni/tydz.	625 mg/kg mc. ♂, ♀	♂, ♀ NOAEL	BG Chemie 1993
			≥1250 mg/kg mc. ♂, ♀ ↑ śmiertelności, ♂ zapalenie nerek, obrzęk nerek i utrata białka z osocza do moczu z powodu zwiększonej przepuszczalności kłębuszków nerkowych		
Szczury, ♂ 7 + 12	1 tydz. (1%, 10%), 10 dni (5%), 4 tyg. (10%), 0% (kontrola), 1%, 5%, 10% (dawki: 0 (kontrola), ok. 750, 3750, 7000 mg/kg mc./dzień)	z paszą, 10 dni ÷ 4 tyg.	≥2500 mg/kg mc. ♀, ♂ zapalenie nerek, obrzęk nerek i utrata białka z osocza do moczu z powodu zwiększonej przepuszczalności kłębuszków nerkowych		Gafford i in. 1971
			≥3750 mg/kg mc./10 dni lub 4 tyg. wychwyty jodu (24 h) nieznacznie zwiększony brak powiększenia tarczycy (wyjątek: 7000 mg/kg mc. po 1 tyg.)	-	

Myszy B6C3F ₁ , ♂, ♀ (5/plec/dawkę)	0 (kontrola), 625, 1250, 2500, 5000, 10 000 mg/ kg mc.	14 dni, 5 dni/tydz.	≥625 mg/kg mc. ♂ uszkodzenie nerek (kryształy w kanalikach nerkowych i pęcherzu moczowym, nerczyca kanalikowa, zmiany brodawki nerkowej i miedniczki nerkowej) ≥1250 mg/kg mc. ♂, ♀ ↑ śmiertelności ♀ uszkodzenie nerek jw.	-	BG Chemie 1993
--	--	------------------------	---	---	----------------

Objaśnienia:
MMAD – średnica średnica aerodynamiczna cząstek.

♂ – samce.

♀ – samice.

↑ – zwiększenie.

↓ – zmniejszenie.

i T4 wzrosły w surowicy samców szczurów w grupie narażonej na działanie ADCA o największym stężeniu 200 mg/m³. U myszy nie stwierdzono zmian histopatologicznych po żadnym badanym stężeniu. U szczurów narażonych na ADCA o stężeniu 50 mg/m³ stwierdzono zwiększenie masy płuc i powiększenie węzłów chłonnych śródpiersia i/lub tchawicy i oskrzeli. Nie obserwowano zmian mikroskopowych związanych z ekspozycją u szczurów narażonych na większe stężenia (100 mg lub 200 mg ADCA/m³). Wszystkie szczury w grupie narażonej na 50 mg ADCA/m³ miały zmiany w płucach, które obejmowały okołonaczyniowe zgrubienia limfocytowe i wielogniskowy rozrost komórek typu II, co sugeruje możliwą reakcję immunologiczną na antygen w płucach. Zmierzone miana wirusów, które powodują podobne zmiany, jak np. wirusa Sendai i wirusa zapalenia płuc, u szczurów narażonych na 50 mg ADCA/m³ były ujemne. Nie można wykluczyć, że nieznan antygen wirusowy spowodował opisaną zmianę (Medinsky i in. 1990), (tab. 8).

Podanie per os

Szczurom F344 (10 samców, 10 samic) przez 90 dni podawano przez zgłębnik ADCA w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 100 mg/kg mc., 500 mg/kg mc. lub 2500 mg/kg mc. samcom oraz w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 200 mg/kg mc., 1000 mg/kg mc. lub 5000 mg/kg mc. samicom. Po dawkach 2500 mg/kg mc. i 5000 mg/kg mc. zanotowano śmiertelność: 10/10 i 2/10 – odpowiednio u samców i samic. W innych grupach narażanych zwierząt nie obserwowano klinicznych objawów toksyczności, wpływu na śmiertelność, przyrostu masy ciała. Ocena histopatologiczna wykazała uszkodzenie nerek (odmiedniczkowe zapalenie nerek, wałeczki i złoży krystaliczne w kanalikach nerkowych) u zwierząt z grupy otrzymującej największą dawkę, które padły w czasie trwania badania. Ponieważ nie obserwowano żadnych skutków w grupach otrzymujących drugą największą dawkę, za NOAEL przyjęto 500 mg/kg mc. dla samców i 1000 mg/kg mc. dla samic (BG Chemie 1993), (tab. 8).

W 98-dniowym badaniu, w którym ADCA podawano samicom szczura przed kojarzeniem, podczas kojarzenia, w czasie ciąży i do 20. dnia laktacji, wyznaczono wartość NOAEL na poziomie 300 mg/kg mc./dzień (Hatano Research Institute 2000). Nerki były narządem docelowym (krytycznym) przy wysokich dawkach podanych drogą pokarmową (BG Chemie 1993; Hatano Research Institute 2000), (tab. 8).

Tabela 8. Wyniki badań toksyczności podprzewlekłej i przewlekłej 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) u zwierząt doświadczalnych
Table 8. Results of subchronic and chronic toxicity studies of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) in laboratory animals

Gatunek, szczep, płeć i liczba zwierząt w grupie	Dawkii/stężenia badane	Czas trwania eksperymentu	Skutki narażenia	Wartość NOAEC/NOAEL	Pismnictwo
Narażenie inhalacyjne					
Szczury F344, 10 ♂, 10 ♀	0 (kontrola), 50, 100, 200 mg/m ³ narażenie na aerozol, rozmiar cząstek: 1,33 ÷ 2,43 µm, MMAD: 2,38 µm	13 tygodni, 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	50 mg/m ³ ♂, ♀ skutki działania na płuca: ↑ masy płuc, powiększone węzły chłonne oskrzelowe i śródpiersiowe, okołonaczyniowe nagromadzenie limfocytów, przerost nabłonka pęcherzyków płucnych, nieropne zapalenie pęcherzyków płucnych prawdopodobnie w wyniku infekcji wirusowej; nie można wykluczyć, że opisaną zmianę spowodował nieznaną antygen wirusowy	♂ NOAEC wartość przyjęta przez autorów badania	Medinsky i in. 1990
			200 mg/m ³ ♂ ↑ T3 i T4 – 50-proc. i 40-proc. w porównaniu z grupą kontrolną		
			200 mg/m ³ ♀ brak zmian histopatologicznych	♀ NOAEC wartość przyjęta przez autorów badania	
Myszy B6C3F1, 10 ♂, 10 ♀	0 (kontrola), 50, 100, 200 mg/m ³ narażenie na aerozol, rozmiar cząstek: 2,33 ÷ 2,45 µm, MMAD: 2,38 µm	13 tygodni, 6 h/dzień, 5 dni/tydz.	50 mg/m ³ ♂ 100 mg/m ³ ♂ ↓ końcowej masy ciała (93% średniej masy ciała w grupie kontrolnej)	♂ NOAEC ♀ NOAEC	Medinsky i in. 1990
			200 mg/m ³ ♂, ♀ ↓ masy wątroby, ↓ końcowej masy ciała (♀ 94% i ♂ 91% średniej masy ciała w grupie kontrolnej); brak zmian histopatologicznych		
Narażenie per os					
Szczury albino FDLR, 25 ♂, 25 ♀	♂: 0 (kontrola), 53,3, 168,5, 533,1 mg/kg mc. ♀: 0 (kontrola), 60,5, 191,1, 604,7 mg/kg mc.	z paszą, 2 lata	533,1 mg/kg mc. brak skutków związanych z narażeniem	NOAEL	Oseri in. 1965
Szczury albino FDLR, 25 ♂, 25 ♀	♂: 0 (kontrola), 3554, 7108 mg/kg mc. ♀: 0, 4035, 8063 mg/kg mc.	z paszą, 1 rok	7108 mg/kg mc. brak skutków związanych z narażeniem	NOAEL	Oseri in. 1965
Psy nierasowe, 2/2	♂: 0 (kontrola), 15,33, 48,44, 153,3 mg/kg mc. ♀: 0 (kontrola), 13,65, 43,14, 136,5 mg/kg mc.	z paszą, 2 lata	136,5 mg/kg mc. brak skutków związanych z narażeniem	NOAEL	Oseri in. 1965

Psy nierasowe, 2/2	♂: 1022 lub 2044 mg/kg mc. ♀: 910 lub 1820 mg/kg mc.	z paszą, 2 lata	większość narażonych psów była wyczerpana; liczne kamienie nerkowe, kamienie pęcherza moczowego i przewłekte odmiedniczkowe zapalenie nerek	Oseri in. 1965
				NOAEL ♂ NOAEL ♀
Szczury F344, 10 ♂, 10 ♀	♂: 0 (kontrola), 100, 500, 2500 mg/kg mc. ♀: 0 (kontrola), 200, 1000, 5000 mg/kg mc.	90 dni, zgfębnikiem	500 mg/kg mc. ♂ 1000 mg/kg mc. ♀	NOAEL ♂ NOAEL ♀
			2500 mg/kg mc. ♂ padnięcia zwierząt 10/10 uszkodzenie nerek (odmiedniczkowe zapalenie nerek, „złog”, osady kryształów w kanalikach nerkowych) 5000 mg/kg mc. ♀ padnięcia zwierząt 2/100	
Szczury Sprague- -Dawley	0 (kontrola), 100, 300, 1000 mg/kg mc./dzień	♂ 98 dni, ♀ 2 tygodnie przed kojarzeniem, podczas kojarzenia, w czasie ciąży i do 20. dnia laktacji	300 mg/kg mc. ♀ 1000 mg/kg mc. ♂	NOAEL ♀ NOAEL ♂
			1000 mg/kg mc. ♀ wpływ na nerki (uszkodzenie nerek przypominające odmiedniczkowe zapalenie nerek)	
Myszy B6C3F1, ♂, ♀ (10/pleć/dawkę)	♂: 0 (kontrola), 78, 156, 312, 625, 1250 mg/kg mc. ♀: 0 (kontrola), 156, 312, 625, 1250, 2500 mg/kg mc.	13 tygodni, 5 dni/tydz.	1250 mg/kg mc. ♂ 2500 mg/kg mc. ♀	NOAEL ♂ NOAEL ♀
			893 mg/kg	NOAEL ♂
Myszy, ♂, ♀ (10/pleć/dawkę)	♂: 0 (kontrola), 7, 56, 111, 223, 446, 893 mg/kg ♀: 0 (kontrola), 111, 223, 446, 893, 1786 mg/kg	13 tygodni, 5 dni/tydz.	śmiertelność i odmiedniczkowe zapalenie nerek z wałeczkami i złogami kryształicznymi w kanalikach nerkowych u samców i samic odpowiednio przy dawce 1786 i 3571 mg/kg na dobę	IRDC 1982
				IRDC 1982
Szczury, ♂, ♀ (10/pleć/dawkę)	♂: 0 (kontrola), 7, 71, 357, 1786 mg/kg mc. ♀: 0 (kontrola), 143, 714, 3571 mg/kg mc.	13 tygodni, 5 dni/tydz.		

Objaśnienia:

♂ – samce.

♀ – samice.

↑ – zwiększenie.

↓ – zmniejszenie.

MMAD – średnia średnica aerodynamiczna cząstek.

U myszy B6C3F1, którym przez 90 dni podawano ADCA przez zgłębnik – samcom w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 78 mg/kg mc., 156 mg/kg mc., 312 mg/kg mc., 625 mg/kg mc. lub 1250 mg/kg mc. oraz samicom: 0 mg/kg mc. (kontrola), 156 mg/kg mc., 312 mg/kg mc., 625 mg/kg mc., 1250 mg/kg mc. lub 2500 mg/kg mc., nie zaobserwowano żadnych skutków związanych z narażeniem. Dawki 1250 mg/kg mc. oraz 2500 mg/kg mc. przyjęto za NOAEL odpowiednio dla samców i samic (BG Chemie 1993), (tab. 8).

U psów (nierasowe) nie obserwowano skutków związanych z 2-letnim narażeniem, w którym ADCA podawano w dawce 136,5 mg/kg mc. (NOAEL), (Oser i in. 1965), (tab. 8).

Nie ma dostępnych danych dotyczących stosowania ADCA na skórę.

ODLEGŁE SKUTKI DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Badania in vitro

Uzyskano pozytywne wyniki działania mutagennego 1,1'-azodi(formamid) (ADCA) na bakteriach szczepów *Salmonella* Typhimurium TA100 i TA1535 zarówno w obecności, jak i przy braku aktywacji metabolicznej. Maksymalne stężenie ADCA, jakie zastosowano, wynosiło 10 000 µg/płytkę (brak danych dotyczących cytotoksyczności). Negatywne wyniki uzyskano na szczepach TA97, TA98, TA102, TA1537 i TA1538 oraz *Escherichia coli* WP2/pKM101 (BG Chemie 1993; Hachiya 1987; HSE 1996; NTP 2018; OECD 2007), (tab. 9).

Test nieplanowej syntezy DNA (UDS) na hepatocytach szczura dał wyniki ujemne nawet przy dawkach cytotoksycznych ADCA. Stosowano wtedy dawki 0,2 ÷ 6000 µg/płytkę. Cytotoksyczność występowała przy dawkach powyżej 200 µg/płytkę. Test zwalidowano z użyciem kontroli pozytywnej i negatywnej (HSE 1996; OECD 2007), (tab. 9).

Nie stwierdzono nasilenia wymiany chromatyd siostrzanych (SCE) w linii komórkowej wyizolowanej z jajnika chomika chińskiego (CHO). W doświadczeniu stosowano stężenia ADCA: 0 µg/ml (kontrola), 20 µg/ml, 60 µg/ml, 200 µg/ml, 600 µg/ml lub 900 µg/ml bez aktywacji metabolicznej

oraz 0 µg/ml (kontrola), 60 µg/ml, 200 µg/ml, 600 µg/ml, 900 µg/ml lub 1200 µg/ml z systemem aktywacji metabolicznej. Jako nośnik zastosowano dimetylosulfotlenek (DMSO). Cytotoksyczność obserwowano przy niskim stężeniu 200 µg/ml i największym 1200 µg/ml (NTP 1984a), (tab. 9).

Test aberracji chromosomowych wykonany z wykorzystaniem linii komórkowej wyizolowanej z jajnika chomika chińskiego (CHO) dał wyniki pozytywne. Komórki inkubowano przez 21 h i 45 h bez dodatku układu aktywacji metabolicznej. Badane stężenia wynosiły wtedy: 0 µg/ml (kontrola), 30 µg/ml, 150 µg/ml i 300 µg/ml (21 h) oraz 0 µg/ml (kontrola), 26 µg/ml, 130 µg/ml i 260 µg/ml (45 h). W obecności aktywacji metabolicznej okres inkubacji wynosił 4 h przy stężeniach 3 µg/ml, 200 µg/ml lub 300 µg/ml oraz 3,2 µg/ml, 16 µg/ml lub 24 µg/ml. Nośnikiem był DMSO, a jako kontrolę pozytywną zastosowano mitomycynę C, cyklofosfamid i karbendazym. Pozytywne kontrole przyniosły oczekiwane zwiększenie częstości występowania aberracji. Bez systemu aktywacji 21 h i 45 h inkubacja doprowadziła do statystycznie istotnego zwiększenia liczby komórek z aberracjami przy największych badanych stężeniach wynoszących 300 µg/ml i 260 µg/ml. Po 45 h inkubacji z 300 µg/ml indeks mitotyczny wyniósł 37,5% w porównaniu z kontrolami, dlatego nie można wykluczyć, że stężenie 260 µg/ml było cytotoksyczne. Po 21 h liczba komórek poliploidalnych nie zwiększyła się, natomiast po 45 h nastąpiło statystycznie istotne zwiększenie liczby komórek poliploidalnych. Zdaniem autorów po 45 h inkubacji zwiększenie to mieściło się w przedziale kontroli laboratorium badawczego (brak innych szczegółów); w związku z tym wyniki uznano za negatywne. W obecności układu aktywacji metabolicznej zwiększenie liczby komórek z aberracjami chromosomowymi nastąpiło tylko przy niskim stężeniu (3 µg/ml). Wyraźną cytotoksyczność obserwowano w grupach o niskim stężeniu, podczas gdy skutki cytotoksyczne były słabsze przy wyższych stężeniach. Zaobserwowano zwiększenie liczby komórek z aberracjami chromosomalnymi i indukcję komórek poliploidalnych przy średnim stężeniu 16 µg/ml i większym. Ogólnie 1,1'-azodi(formamid) uznano za substancję klastogenną i indukującą poliploidalność (ECHA 2016; Otsuka Chemical Company 1988). Przyjmuje się, że pozytywne skutki były spowodowane efektami cytotoksycznymi (tab. 9).

Tabela 9. Zestawienie wyników badań mutagenności i genotoksyczności 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA)
Table 9. Summary of mutagenicity and genotoxicity studies of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA)

Test, dawki/stężenia	Układ badawczy (droga podania w przypadku badań in vivo)	Wyniki			Piśmiennictwo
		mutagenność bez aktywacji metabolicznej	mutagenność z aktywacją metaboliczną	cytotoksyczność	
Testy na bakteriach					
Test Ames, dawki: do 10 000 µg/płytkę	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA100 i TA1537	+	+	bd.	BG Chemie 1993; Hachiya 1987; HSE 1996; OECD 2007; NTP 2018
Test Ames, dawki: do 10 000 µg/płytkę	<i>Salmonella</i> Typhimurium TA97, TA98, TA102, TA1537 i TA1538, <i>Escherichia coli</i> WP2/pKM101	-	-	bd.	
Testy na komórkach ssaków in vitro					
Test nieplanowej syntezy DNA (UDS), dawki: 0,2 ÷ 6000 µg/płytkę	hepatocyty szczura	-	-	+	HSE 1996; OECD 2007
Wymiana chromatyd siostrzanych (SCE), stężenia: 0 (kontrola), 20, 60, 200, 600 lub 900 µg/ml bez aktywacji metabolicznej oraz 0 (kontrola), 60, 200, 600, 900 lub 1200 µg/ml z aktywacją metaboliczną	linia komórkowa CHO wyizolowana z jajnika chomika chińskiego	-	-	+	NTP 1984a
Test aberracji chromosomowych, stężenia bez aktywacji metabolicznej: 0 (kontrola), 30, 150 i 300 µg/ml (21 h) oraz 0 (kontrola), 26, 130 i 260 µg/ml (45 h); w obecności systemu aktywacji metabolicznej okres inkubacji wynosił 4 h przy stężeniach 3, 200 lub 300 µg/ml i 3,2, 16 lub 24 µg/ml	linia komórkowa CHO wyizolowana z jajnika chomika chińskiego	+	+	+	ECHA 2016; Otsuka Chemical Company 1988
Test aberracji chromosomowych, stężenia: bez aktywacji metabolicznej: 0 (kontrola), 402, 498, 600 i 720 µg/ml po 26,5-godzinnym okresie inkubacji 0 (kontrola), 402, 498, 702 i 798 µg/ml i okresie inkubacji 26,8 h po aktywacji metabolicznej: 0 (kontrola), 900, 1020, 1104 i 1290 µg/ml z okresem inkubacji wynoszącym 18,7 h 0 (kontrola), 900, 1002 i 1104 µg/ml	linia komórkowa CHO wyizolowana z jajnika chomika chińskiego	-	+	+	NTP 1984b
		-/+			

cd. tab. 9 / Table 9 cont.

Test, dawki/stężenia	Układ badawczy (droga podania w przypadku badań in vivo)	Wyniki			Piśmiennictwo
		mutagenność bez aktywacji metabolicznej	mutagenność z aktywacją metaboliczną	cytotoksyczność	
Test z użyciem genu kinazy tymidynowej TK+/-, stężenia: 73 ÷ 150 µg/ml bez aktywacji metabolicznej i 106 ÷ 261 µg/ml z dodatkiem aktywacji metabolicznej	komórki chłoniaka myszy	-	-	bd.	BG Chemie 1993; HSE 1996; OECD 2007
Test HPRT, stężenia: 5 ÷ 500 µg/ml w obecności i przy braku aktywacji metabolicznej	komórki CHO chomika	-	-	bd.	BG Chemie 1993; HSE 1996; OECD 2007
Badania in vivo					
Test recesywnych mutacji letalnych (SCLR), iniekcja: 8000 lub 10 000 ppm ADCA	dorośle samce <i>Drosophila melanogaster</i> , iniekcja	-			HSE 1996; OECD 2007; Yoon i in. 1985
Test mikrojądrowy, dawka: 5000 mg/kg mc.	komórki szpiku kostnego myszy CD-1, dożołądkowo	-			Otsuka Chemical Company 1988
Test mikrojądrowy, dawka: 150 mg/kg	myszy CD-1, dootrzewnowo	zmniejszenie stosunku PCE/NCE po 30 h i 48 h po narażeniu; uznano to za oznakę cytotoxyczności			ECHA 2016; OECD 2007
Test mikrojądrowy, dawki: 0 (kontrola), 20, 40 lub 80 mg/kg mc.	myszy, dootrzewnowo	statystycznie istotne zwiększenie liczby erytrocytów mikrojądrowych tylko w grupie otrzymującej średnią dawkę; nie obserwowano zależności dawka-odpowiedź, a wynik testu uznano za negatywny; liczba PCE pozostała niezmienną			Hachiya 1987; HSE 1996; OECD 2007

Objaśnienia:

- bd. – brak danych.
+ – wynik dodatni.
- – wynik ujemny.
PCE – erytrocyty polichromatyczne.
NCE – erytrocyty normochromatyczne.

Inny test na indukcję aberracji chromosomowych w komórkach CHO, który przeprowadzono na zlecenie NTP (1984b), również dał pozytywne wyniki w obecności systemu aktywacji metabolicznej. Test przeprowadzono dwukrotnie: bez dodatku układu aktywacji metabolicznej pierwszy test przy stężeniach: 0 µg/ml (kontrola), 402 µg/ml, 498 µg/ml, 600 µg/ml i 720 µg/ml dał wynik negatywny po 26,5-godzinny okresie inkubacji, a drugi test dał wyniki wątpliwe przy stężeniach: 0 µg/ml (kontrola), 402 µg/ml, 498 µg/ml, 702 µg/ml i 798 µg/ml i okresie inkubacji 26,8 h. Po zastosowaniu ADCA o stężeniu 498 µg/ml nastąpiło 3,5-krotne zwiększenie odsetka komórek z aberracjami. Po następnym większym stężeniu (600 µg/ml) liczba aberracji ponownie mieściła się w zakresie wartości w równoczesnych kontrolach, a wysokie stężenie nie zostało ocenione. Było to prawdopodobnie spowodowane cytotoxycznością. Po dodaniu układu aktywacji metabolicznej w pierwszym eksperymencie

testowano stężenia: 0 µg/ml (kontrola), 900 µg/ml, 1020 µg/ml, 1104 µg/ml i 1290 µg/ml z okresem inkubacji wynoszącym 18,7 h (wysokiego stężenia nie oceniano). Po zastosowaniu ADCA o stężeniu 900 µg/ml odsetek komórek z aberracjami zwiększył się 3,25-krotnie w porównaniu z komórkami kontrolnymi. Zwiększenie obserwowano również przy kolejnych dwóch większych stężeniach (1020 µg/ml i 1104 µg/ml), ale w mniejszym stopniu niż przy niskim stężeniu. W drugim eksperymencie z użyciem ADCA o stężeniach: 0 µg/ml (kontrola), 900 µg/ml, 1002 µg/ml i 1104 µg/ml nastąpiło 12-krotne zwiększenie odsetka komórek z aberracjami w wysokim stężeniu. Wyniki tego testu oceniono jako słabo pozytywne (NTP Genetic Toxicology Studies; NTP 1984b), (tab. 9). Choć zastosowano ten sam nośnik DMSO, stężenia w tym teście były znacznie powyżej granicy rozpuszczalności, tj. 300 µg/ml, opisanej w pierwszym teście (Otsuka Chemical Company 1988).

Testy mutacji w komórkach ssaków, tj. test z użyciem genu kinazy tymidynowej TK+/- w komórkach chłoniaka myszy i test HPRT w komórkach CHO chomika dały wynik negatywny. Stężenia azodikarbonamidu badane w teście TK+/- z komórkami chłoniaka myszy wynosiły 73 ÷ 150 µg/ml bez systemu aktywacji metabolicznej i 106 ÷ 261 µg/ml z dodatkiem systemu aktywacji metabolicznej. W teście HPRT stosowano stężenia ADCA 5 ÷ 500 µg/ml w obecności i przy braku układu aktywacji metabolicznej. W tym teście odsetek komórek, które przeżyły, był mniejszy niż 10% przy wysokim stężeniu. Jednoczesna kontrola pozytywna i negatywna potwierdziły ważność testu (BG Chemie 1993; HSE 1996; OECD 2007), (tab. 9).

Badania in vivo

Negatywne wyniki uzyskano w teście recesywnych mutacji letalnych (SCLR) na dorosłych samcach *Drosophila melanogaster* po iniekcji 8000 ppm lub 10 000 ppm ADCA (HSE 1996; OECD 2007; Yoon i in. 1985).

Test mikrojądrowy oceniany w komórkach szpiku kostnego samców i samic myszy CD-1 dał wyniki ujemne po podaniu dożołądkowym azodikarbonamidu w dawce 5000 mg/kg mc. W teście wstępnym z udziałem 2 zwierząt z każdej grupy i płci przy dawce 1250 mg/kg mc. i większej do 4 h po podaniu obserwowano zgiętą postawę i zmierzwioną sierść. Nośnikiem użytym do zawiesiny była 1-procentowa metyloceluloza. Grupa badana składała się z 19 samców i 17 samic, grupa kontrolna obejmowała 15 samców i 15 samic, a dodatkna grupa kontrolna, której podano mitomycynę C, składała się z 5 zwierząt każdej płci. Zwierzęta uśmiercono 24 h, 48 h lub 72 h po narażeniu (myszy stanowiące kontrolę pozytywną uśmiercano po 24 h). W teście głównym nie odnotowano objawów klinicznych. Stosunek liczby polichromatycznych erytrocytów do liczby normochromatycznych erytrocytów (PCE/NCE) nie zmienił się. Testy z kontrolą pozytywną dały oczekiwane wyniki (Otsuka Chemical Company 1988), (tab. 9).

Myszom CD-1 (5 samców i 5 samic w grupie) podawano dootrzewnowo 1,1'-azodi(formamid) w dawkach 0 mg/kg mc. (kontrola) lub 150 mg/kg mc. Jako nośnik zastosowano olej kukurydziany, a zwierzęta uśmiercono 30 h, 48 h lub 72 h po narażeniu. Uwzględniono kontrole negatywne i pozytywne. Podana dawka była maksymalną tolerowaną dawką, ponieważ u zwierząt zaobserwowano kliniczne oznaki toksyczności (np. zmniejszoną aktywność) oraz

nastąpiło zwiększenie śmiertelności w grupie, która miała zostać uśmiercona 72 h po podaniu. W tej grupie padł 1 samiec i 3 samice. Zmniejszenie stosunku PCE/NCE obserwowano u zwierząt badanych 30 h i 48 h po narażeniu i uznano je za oznakę cytotoksyczności. Nie stwierdzono zwiększenia liczby mikrojąder polichromatycznych erytrocytów w szpiku kostnym (ECHA 2016; OECD 2007), (tab. 9).

W innym teście mikrojądrowym przeprowadzonym na myszach (6 na grupę, płeć nieokreślona), którym podano dootrzewnowo ADCA w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 20 mg/kg mc., 40 mg/kg mc. lub 80 mg/kg mc., obserwowano statystycznie istotne zwiększenie liczby erytrocytów mikrojądrowych tylko w grupie otrzymującej średnią dawkę (40 mg/kg mc.). Nie zaobserwowano zależności dawka-odpowiedź, a wynik testu uznano za negatywny. Liczba erytrocytów polichromatycznych pozostała niezmieniona. Pozytywne i negatywne kontrole dały oczekiwane wyniki. Zwiększenie śmiertelności odnotowano przy dawkach powyżej 80 mg/kg mc. Jako nośnik zastosowano oliwę z oliwek. Zwierzęta uśmiercono 24 h po wstrzyknięciu dawki (*Hachiya* 1987; HSE 1996; OECD 2007), (tab. 9).

Podsumowując, można stwierdzić, że 1,1'-azodi(formamid) indukował mutacje u bakterii *Salmonella* Typhimurium TA100 i TA1537, ale nie był mutagenny w komórkach ssaków. Indukował aberracje chromosomowe i poliploidię w komórkach ssaków, ale wynik jednego z testów uznano za wątpliwy. Nie zaobserwowano zwiększenia liczby mikrojąder w badaniu wykonanym in vivo po podaniu dożołądkowym lub wstrzyknięciu dootrzewnowym. 1,1'-Azodi(formamid) nie indukował mutacji u *Drosophila melanogaster* (tab. 9).

Działanie rakotwórcze

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono doniesień o rakotwórczym działaniu ADCA u ludzi i na zwierzęta.

Wpływ na rozrodczość

Wpływ na rozrodczość u ludzi

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

Wpływ na rozrodczość u zwierząt

W badaniu jednopokoleniowym szczurom Sprague-Dawley (grupy po 25 zwierząt każdej płci),

podawano 1,1'-azodi(formamid) w dawkach: 0 mg/kg mc. (kontrola), 100 mg/kg mc., 300 mg/kg mc. lub 1000 mg/kg mc. na dzień przez zgłębnik, w oleju kukurydzianym. Samce narażano przez 98 dni, a samice przez 2 tygodnie przed kojarzeniem, podczas kojarzenia i ciąży oraz do 20. dnia laktacji. Nie stwierdzono wpływu na zdolności rozrodcze ani na rozwój lub żywotność potomstwa. Wpływ na nerki odnotowano u samic zwierząt rodzicielskich (pokolenie F0) z grupy otrzymującej największą dawkę (1000 mg/kg mc.). Komórkowe nacieki limfocytów obserwowano w śródmiąszu u 4 zwierząt, które przeżyły. Za wartość NOAEL dla działania ogólnoustrojowego przyjęto dawkę 1000 mg/kg mc. dla samców i 300 mg/kg mc. dla samic. Największą badaną dawkę wynoszącą 1000 mg/kg mc. przyjęto za NOAEL dla płodności u obu płci (Hatano Research Institute 2000; OECD 2007).

W trzypokoleniowym doświadczeniu wykonanym na szczurach, którym podawano 1,1'-azodi(formamid) w dawce 100 mg/kg mc., nie obserwowano wpływu na płodność, zdolność reprodukcyjną lub laktację w żadnym pokoleniu (Oser i in. 1965). Brak innych szczegółów dotyczących badania.

W 90-dniowym badaniu inhalacyjnym na szczurach F344 i myszach B6C3F1 (opisanym w podrozdziale „Toksyčność podprzewlekła i przewlekła”) nie wykazano żadnego wpływu na narządy rozrodcze ani morfologię plemników przy największym stosowanym stężeniu 200 mg/m³ (Medinsky i in. 1990), (tab. 8).

Brak dostępnych danych dotyczących toksyczności rozwojowej.

TOKSYKOKINETYKA

Wchłanianie i rozmieszczenie

W literaturze światowej nie znaleziono informacji na temat toksykokinetyki azodikarbonamidu (ADCA) u ludzi. Większość nielicznych danych toksykokinetycznych dostępnych dla ADCA pochodzi z badań na zwierzętach.

Poziom znacznika izotopowego (bez okrywy włosowej) zmierzono u samców szczurów F344, które narażano jednorazowo, inhalacyjnie na [¹⁴C]-1,1'-azodi(formamid) o stężeniach: 1,5 mg/m³ lub 150 mg/m³ przez 3 h, 20 mg/m³ przez 5,5 h lub 25 mg/m³ przez 6 h. Średnia średnica aerodynamiczna cząstek (MMAD) wynosiła 1,8 ÷ 3,4 μm.

W przypadku narażenia inhalacyjnego trwającego 5,5 h grupy po 3 szczury monitorowano w czasie: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min, 120 min, 180 min, 240 min, 300 min lub 330 min. W przypadku 6 h narażenia 3 szczury uśmiercono natychmiast po ustaniu narażenia, 4 szczury umieszczono w klatkach metabolicznych na okres 96 h, a następnie uśmiercono, a 36 szczurów zaplanowano do uśmiercenia (w grupach po 3 szczury) po czasie: 0,02 dnia, 0,17 dnia, 0,33 dnia, 0,66 dnia, 1 dzień, 2 dni, 4 dni, 8 dni, 12 dni, 16 dni, 24 dni i 102 dni po ustaniu narażenia. Celem badania było określenie dystrybucji tkankowej [¹⁴C]-ADCA lub jego metabolitów. Około 30% wdychanego związku było zdeponowane w drogach oddechowych. Po 72 h około 58 ÷ 84% znacznika izotopowego zostało usunięte z płuc przez klirens śluzowo-rzęskowy i dotarło do przewodu pokarmowego, a 25 ÷ 40% (średnio 33%) znajdowało się w moczu. Przyjęto, że wchłanianie drogą inhalacyjną wynosiło 10% (Mewhinney i in. 1987).

Samcom szczurów F344/N podawano 5 μl [¹⁴C]-ADCA w soli fizjologicznej (0,1 mg ADCA/0,5 ml) za pomocą zgłębnika lub metodą wkraplania dotchawiczego. Po podaniu przez zgłębnik 33% dawki zostało wchłonięte po 72 h, podczas gdy po podaniu dotchawicznym wchłanianie wynosiło 90%. Bimocznik był jedynym związkiem znakowanym izotopowo, który wykryto w moczu (Mewhinney i in. 1987).

Szczury narażano na znakowany izotopem aerozol ADCA o stężeniach: 1,5 mg/m³ lub 150 mg/m³ przez 3 h, 20 mg/m³ przez 5,5 h oraz 25 mg/m³ przez 6 h. Poziom znacznika izotopowego, odzwierciedlający absorpcję ADCA, wyrażono jako procent początkowej ilości ADCA (IBB – *initial body burden*). Uzyskano wyniki poniżej 1,1% w przewodzie pokarmowym, poniżej 2,76% w innych tkankach oraz poniżej 0,2% w płucach niezależnie od stężenia ADCA (Mewhinney i in. 1987).

Po 13-tygodniowym narażeniu inhalacyjnym zbadano poziomy azodikarbonamidu i jego metabolitu – bimocznika – w płucach i nerkach samców szczurów F344 uśmierconych po ostatnim narażeniu (Medinsky i in. 1990). Samej substancji nie wykryto w żadnym narządzie, natomiast bimocznik stwierdzono w płucach, ale nie w nerkach, szczurów narażonych na ADCA o stężeniach 50 mg/m³, 100 mg/m³ lub 200 mg/m³. Ilość bimocznika w płucach zwiększała się liniowo wraz ze wzrostem poziomu narażenia (odpowiednio 79±15 μg/g

tkanki, 303 ± 79 $\mu\text{g/g}$ tkanki, 948 ± 238 $\mu\text{g/g}$ tkanki). Autorzy ocenili, że około 10% wdychanego azodikarbonamidu dostało się do płuc i oskrzeli. Przy wysokim stężeniu ADCA (tj. 200 mg/m^3) ilość mocznika w płucach i oskrzelach stanowiła około 66% azodikarbonamidu wchłoniętego w ostatniej dobie narażenia, a więc około 6,6% podanej ilości.

W badaniu NTP (NTP Study S0458) określono stężenia ADCA (na podstawie pomiaru znacznika izotopowego) w narządach po podaniu związku zgłębnikiem szczurom F344 (tab. 10).

Dane eksperymentalne *in vivo* lub *in vitro* dotyczące wchłaniania azodikarbonamidu przez skórę nie są obecnie dostępne. Oszacowane za pomocą modeli *Fiserovej-Bergerovej* i in. (1990), *Guya* i *Potts* (1993) oraz *Wilschuta* i in. (1995) wchłanianie dla nasyconego roztworu wodnego wynosi odpowiednio: $0,015 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$, $0,0007 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ i $0,0023 \mu\text{g/cm}^2/\text{h}$. Zakładając ekspozycję na

2000 cm^2 powierzchni skóry przez 1 h, odpowiadałyby to wchłoniętym ilościom ADCA odpowiednio: 0,03 mg, 0,0015 mg i 0,0046 mg.

Metabolizm

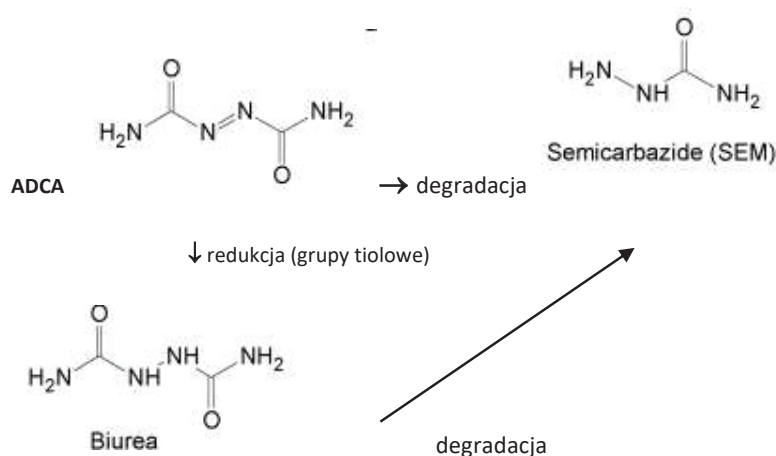
1,1'-Azodi(formamid) łatwo ulega redukcji w obecności grup tiolowych i jest przekształcany w trwały 1,2-hydrazynodikarboksyamid (bimocznik, biurea, CAS 110-21-4), (*Mewhinney* i in. 1987; *Mulder* i in. 2007). Bimocznik jest zatem głównym metabolitem i został wykryty w badaniach kinetyki na szczurach (ryc. 1).

Także *in vitro*, po dodaniu [^{14}C]-azodikarbonamidu do świeżej krwi nienarażonych szczurów, wykryto (metodą HPLC) znakowany bimocznik (produkt kondensacji mocznika) w organizmie już po 5 min (*Mewhinney* i in. 1987).

Tabela 10. Stężenia 1,1'-azodi(formamid) (ADCA) w poszczególnych w narządach po podaniu związku zgłębnikiem szczurom F344 (NTP Study S0458)

Table 10. Concentrations of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) in various organs following administration via probe in F344 rats (NTP Study S0458)

Dawka nominalna, mg/kg mc.	Tkanka (wartości średnie \pm odchylenie standardowe $\mu\text{g ADCA/g}$ mokrej tkanki, krwi lub osocza)										
	wątroba	nerki	płuca	mózg	jelito grube	zawartość jelita grubego	skóra	tłuszcz	mięśnie	krew całkowita	pęcherz
11,7	0,05 \pm 0,012	0,04 \pm 0,010	0,03 \pm 0,012	0,02 \pm 0,015	0,71 \pm 0,62	1,03 \pm 0,76	0,04 \pm 0,012	0,02 \pm 0,000	0,02 \pm 0,006	0,09 \pm 0,023	0,07 \pm 0,065
117	0,60 \pm 0,05	0,43 \pm 0,09	0,35 \pm 0,11	0,33 \pm 0,39	2,48 \pm 1,48	4,2 \pm 3,00	1,22 \pm 1,63	0,47 \pm 0,58	0,24 \pm 0,03	0,95 \pm 0,16	0,63 \pm 0,60
1170/woda	3,37 \pm 1,01	4,02 \pm 0,98	3,14 \pm 0,68	1,28 \pm 0,13	263 \pm 184	517 \pm 458	5,25 \pm 1,80	2,93 \pm 1,39	2,25 \pm 0,83	16,2 \pm 8,11	4,78 \pm 4,28
1170/olej kukurydziany	5,25 \pm 0,20	5,04 \pm 1,29	3,78 \pm 1,21	3,42 \pm 3,20	384 \pm 142	861 \pm 590	3,88 \pm 0,80	2,03 \pm 1,01	3,41 \pm 1,14	23,1 \pm 17,9	14,5 \pm 4,82



Rycina 1. Proponowany metabolizm 1,1'-azodi(formamid) (ADCA), (*Mewhinney* i in. 1987)

Figure 1. Proposed metabolism of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) (*Mewhinney* et al. 1987)

Wydalenie

Po narażeniu zarówno drogą inhalacyjną, jak i dożołądkową znaczne ilości substancji pozostają niewchłonięte z przewodu pokarmowego i są wydalane z kałem (67%). Eliminacja wchłoniętego azodikarbonamidu jest szybka i zachodzi głównie z moczem (99% w ciągu 72 h) i z wydychanym powietrzem (2%), (Mewhinney i in. 1987). Ze względu na mały rozmiar cząsteczek 1,1'-azodi(formamid) był wydalany z żółcią w ilości 5% dawki. Po dożołądkowym podaniu zawiesiny znakowanego izotopowo [¹⁴C]-azodikarbonamidu w wodzie lub oleju kukurydzianym mniej niż 10% dawki ADCA zostało wydalone z moczem, a większość znacznika izotopowego została wydalona z kałem w ciągu 24 h (IRDC 1982). Po dotchawicznym wkropleniu ADCA w dawce 0,1 mg/zwierzę 88% dawki zostało wyeliminowane z moczem, 0,8% z wydychanym powietrzem i 9,8% z kałem (Mewhinney i in. 1987), (tab. 11). Po narażeniu inhalacyjnym wydalanie znacznika izotopowego [¹⁴C] u szczurów po 72 h wskazuje, że ADCA jest wydalany głównie z kałem (68±3 ÷ 84±3% dawki), (Mewhinney i in. 1987), (tab. 12).

Wyniki badań Mewhinneya i in. (1987) wskazują, że inhalacja pyłów ADCA w stężeniach do 75 razy wyższych niż te zgłaszane w przemyśle

produkcyjnym ADCA nie prowadzi do akumulacji ani magazynowania metabolitu (bimocznika) w tkankach. Szybka eliminacja większości początkowego obciążenia organizmu przez nerki do moczu może sugerować potencjalne ryzyko toksyczności dla nerek, szczególnie z uwagi na względną nierozpuszczalność bimocznika, jeśli narażenie na ADCA byłoby przewlekłe i trwało przez długi czas. Choć krótkoterminowe skutki inhalacji pyłów ADCA wydają się mało szkodliwe, długotrwałe narażenie mogłoby zwiększać ryzyko toksyczności nerek.

W badaniu na samcach szczurów F344 ($n = 3$) [¹⁴C]-ADCA znakowany w ugrupowaniu karbonylowym podawano zgłębnikiem (w oleju kukurydzianym) w dawkach pojedynczych: 11,7 mg/kg, 117 mg/kg lub 1170 mg/kg i zwierzęta uśmiercano 48 h po podaniu. ADCA nie był wydalany z powietrzem wydychanym (<0,1% podanej dawki). W tabeli 13 zamieszczono szczegółowe dane dotyczące wydalania uzyskane w badaniu NTP (NTP S0458).

Tabela 11. Bilans całkowity związku (wyrażony jako % dawki) po 72 h od podania szczurom [¹⁴C]-ADCA (w dawce 0,1 mg, aktywność 5 µCi) przez zgłębnik lub dotchawiczo (Mewhinney i in. 1987)

Table 11. Total balance of the compound (expressed as % of dose) 72 hours after administration of [¹⁴C]-ADCA (at a dose of 0.1 mg, activity 5 µCi) to rats via probe or intratracheally (Mewhinney et al. 1987)

Droga podania	% dawki podanej (±SD)				
	mocz	kał	powietrze wydychane	całkowite wydalanie	całkowita ilość/zwierzę uśmiercane
Przez zgłębnik	30±2,8	67±2,5	2,1±0,88	99±0,36	0,90±0,36
Dotchawiczo	88±2,0	9,8±2,4	0,81±0,20	99±0,53	1,0±0,50

Objaśnienie:

SD – odchylenie standardowe.

Tabela 12. Wydalanie znacznika izotopowego [¹⁴C] u szczurów po 72 h po narażeniu na 1,1'-azodi(formamid) (ADCA) drogą inhalacyjną (Mewhinney i in. 1987)

Table 12. Excretion of the radioactive marker [¹⁴C] in rats 72 hours after inhalation exposure to 1,1'-azobis(formamide) ADCA (Mewhinney et al. 1987)

Narażenie, µg/l	Rozmiar cząstek MMAD, µm	Czas ekspozycji, h	Całkowita ilość, µg	Wydalenie, % dawki		
				kał	mocz	całe ciało
1,5±1,5	1,8±0,12	3	24	75±4	24±4	1,2±0,2
150,0±9,1	2,1±0,19	3	1230	84±3	11±2	4,1±1,4
20,2±2,9	3,1±0,14	5,5	468	58±14	34±14	5,7±4,0
25,1±1,5	3,4±0,10	6	602	68±3	27±1	1,6±0,5

Tabela 13. Wydalanie 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) jako skumulowany procent podanej dawki związku znakowanego izotopem węgla (^{14}C), odzyskany w próbkach moczu i kału po podaniu związku zgłębnikiem samcom szczurów (NTP S0458)

Table 13. Excretion of 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) as cumulative percentage of the administered dose of carbon-14 labeled ADCA recoverable in urine and fecal samples after administration by probe to male rats (NTP S0458)

Dawka nominalna, mg/kg mc.	Materiał biologiczny	Przedział czasowy po podaniu dawki 0 ÷ 24 h	Przedział czasowy po podaniu dawki 24 ÷ 48 h	Całkowity bilans wydalania
11,7	mocz	4±0,8	4±0,9	100±14,2
	kał	82±7,2	96±13,3	
117	mocz	6±5,0	6±5,0	97±5,0
	kał	80±7,8	91±3,2	
1170/woda	mocz	3±3,1	4±3,4	79±8,3
	kał	61±15,4	76±11,4	
1170/olej kukurydziany	mocz	6±5,0	7±5,5	90±2,0
	kał	37±7,2	83±5,1	

MECHANIZM DZIAŁANIA TOKSYCZNEGO

1,1'-Azodi(formamid) jest substancją reaktywną; jego reaktywność opiera się na elektrofilowym charakterze dwupodstawionego wiązania podwójnego N=N.

W warunkach fizjologicznych 1,1'-azodi(formamid) nie tworzy wystarczająco stabilnych koniugatów z białkami. 1,1'-Azodi(formamid) jako „miękki elektrofil” (duża cząsteczka z rozmytym „centrum elektrofilowości”, czyli bez jednego konkretnego miejsca, które jest szczególnie skłonne przyjmować elektrony) w warunkach fizjologicznych będzie reagował tylko lub preferencyjnie z „miękkimi” i wysoce polaryzowalnymi nukleofilami, takimi jak reszty tiolowe. Koniugaty utworzone przez 1,1'-azodi(formamid) nie są wystarczająco stabilne, ale reakcja pierwszorzędowego adduktu z podwójnym wiązaniem N=N z dodatkową grupą tiolową ostatecznie prowadzi do utlenienia grup -SH do disiarczków i do redukcji azodikarbonamidu z wytworzeniem bimocznika. W układach biologicznych zachodzi szybkie utlenianie zredukowanego glutationu (GSH) do utlenionego glutationu (GSSG). Reakcja ta jest podstawą zastosowania azodikarbonamidu jako dodatku do mąki w celu utleniania wolnych grup sulfhydrylowych (-SH) w glutenie (Tsen 1963). Koniugacja białek nie została zaobserwowana w badaniach toksykologicznych przeprowadzonych z azodikarbonamidem na szczurach, myszach lub kawiach domowych ani w innych badaniach in vivo.

Inhalacja pyłu azodikarbonamidu może powodować zmiany w poziomie glutationu, co może prowadzić do stresu oksydacyjnego i wpływać na różne procesy komórkowe i szlaki sygnalizacyjne.

Azodikarbonamid stosowany jako środek porotwórczy ma cząstki o średnicy mniejszej niż 10 μm , co pozwala im dotrzeć do dolnych dróg oddechowych po inhalacji. Po dostaniu się do dolnych dróg oddechowych rozpuszczalna frakcja azodikarbonamidu może obniżyć stężenie glutationu (GSH) w płynie pęcherzykowym. Może to również prowadzić do przesunięcia równowagi redoks GSH przez tworzenie jego utlenionej formy (GSSG). Fagocytoza cząsteczek pyłu przez makrofagi pęcherzykowe może wywołać wewnątrzkomórkowe zmiany, w tym zmiany w poziomie GSH, oraz inne reakcje komórkowe. Choć utlenianie GSH jest zazwyczaj odwracalne, w przypadku niewystarczającej kompensacji może prowadzić do stresu oksydacyjnego lub nasilać już istniejący stres oksydacyjny. Zmiany w równowadze redoks GSH lub zwiększenie S-glutationylacji białek mogą wpływać na wiele procesów regulacyjnych i szlaków sygnalizacyjnych w komórkach (Biswas, Rahman 2009; Go i in. 2015; Hoffman i in. 2015). Na przykład nietolerancja glukozy i niewielkie tworzenie się methemoglobiny obserwowane u pacjentów zakażonych wirusem HIV leczonych azodikarbonamidem mogą być również wynikiem zaburzenia równowagi redoks GSH.

1,1'-Azodi(formamid) to związek, który hamuje HIV-1 i wiele retrowirusów poprzez celowanie w domeny peptydowe CCHC nukleokapsydu. Związek ten został wprowadzony do badań klinicznych fazy I/II w Europie w przypadku zaawansowanego AIDS. Badania spowodowały, że ADCA uznano za pierwszy inhibitor nukleokapsydu, który przeszedł do badań na ludziach jako wiodący związek w optymalizacji terapii (Rice i in. 1997; Vandeveld i in. 1996).

Stężenia azodikarbonamidu do 200 $\mu\text{mol/l}$ nie miały działania cytotoksycznego *in vitro* na CD4 – dodatnie limfocyty T ludzkiej krwi obwodowej. Obserwowano zależne od stężenia ADCA (50 ÷ 200 $\mu\text{mol/l}$) hamowanie proliferacji komórek i wydzielania przez limfocyty cytokin interleukiny-2 i interleukiny-5 oraz interferonu γ , stymulowane przez komórki dendrytyczne lub przeciwciała monoklonalne przeciwko CD3 i CD28 (badania *in vitro*), (Tassinon i in. 1999).

Ekspozycja limfoblastów SUP-T1 na działanie azodikarbonamidu o stężeniu 100 $\mu\text{mol/l}$ przez 2 h spowodowała zmniejszenie stężenia trifosforanu dezoksyrybonukleotydu o około 50%, prawdopodobnie poprzez hamowanie reduktazy rybonukleotydydowej. Nie obserwowano wpływu na proliferację komórek po 24 h. Ponadto stężenia azodikarbonamidu (50 ÷ 200 $\mu\text{mol/l}$) indukowały hamowanie fosforylacji tymidyny ($\text{IC}_{50} = 70,5 \mu\text{mol/l}$), (Fagny i in. 2002).

DZIAŁANIE ŁĄCZNE

W dostępnym piśmiennictwie i bazach danych nie znaleziono danych dotyczących działania łącznego 1,1'-azodi(formamid) z innymi substancjami.

ZALEŻNOŚĆ SKUTKU TOKSYCZNEGO OD WIELKOŚCI NARAŻENIA

Brak jest dostępnych badań na zwierzętach, których wyniki wskazywałyby na działanie uczulające 1,1'-azodi(formamid) (ADCA). Substancja jest klasyfikowana jako uczulająca na podstawie danych dotyczących ludzi. W 13-tygodniowych badaniach inhalacyjnych wartość NOAEC dla działania układowego azodikarbonamidu wyznaczono na poziomie 50 mg/m^3 dla samców myszy B6C3F1, 100 mg/m^3 dla samców szczurów F344 i samic myszy B6C3F1 oraz 200 mg/m^3 dla samic szczurów F344. Masa ciała myszy uległa istotnemu zmniejszeniu po narażeniu na związek o stężeniach 100 mg/m^3 i 200 mg/m^3 , a poziomy hormonów tarczycy T3 i T4 zwiększyły się w surowicy samców szczurów w grupie narażonej na działanie ADCA o największym stężeniu – 200 mg/m^3 . Nie obserwowano zmian mikroskopowych związanych z ekspozycją szczurów na większe stężenia (tj. 100 mg ADCA/m^3 lub 200 mg ADCA/m^3).

Wszystkie szczury narażone na 50 mg ADCA/m^3 miały zmiany w płucach, które obejmowały okołonaczyniowe zgrubienia limfocytowe i wielogniowski rozrost komórek typu II – niewykluczone, że zmianę tę spowodował nieznany antygen wirusowy (Medinsky i in. 1990).

Po dożłódkowym podaniu samicom szczurów ADCA w dawce 1000 mg/kg mc. obserwowano uszkodzenie nerek przypominające odmiedniczkowe zapalenie nerek (Hatano Research Institute 2000).

Zależności skutku toksycznego od wielkości narażenia podprzewlekłego i przewlekłego zwierząt doświadczalnych drogą inhalacyjną i *per os* zestawiono w tabeli 8.

W literaturze opisano występowanie reakcji ze strony dróg oddechowych u pracowników narażonych na 1,1'-azodi(formamid). W ankietach robotników narażonych na ADCA oprócz objawów ze strony układu oddechowego, takich jak: kaszel, duszność, ucisk w klatce piersiowej, nieżyt nosa, stwierdzono również częstsze występowanie wysypki skórnej oraz zapalenie spojówek (Ahrenholz i in. 1985; ECHA 2012a; Ferris i in. 1977; NIOSH 1985; SIDS 2001; Slovak 1981; Whitehead i in. 1987). Dostępne są badania i raporty NIOSH, które powiązały objawy u pracowników narażonych na 1,1'-azodi(formamid) z osobonarażeniem lub miejscem pracy (Ahrenholz i in. 1985; Ferris i in. 1977; NIOSH 1985; Slovak 1981; Whitehead i in. 1987).

Dostępne są trzy badania (Ahrenholz i in. 1985; Ferris i in. 1977; NIOSH 1985), w których stwierdzono istotne zmniejszenie parametrów spirometrycznych stosowanych przy ocenie funkcji płuc. Badania spirometryczne pracowników szlifujących tworzywo z ADCA (przeprowadzone w miejscu pracy, pod koniec zmiany roboczej po 4-dniowym okresie wolnym od pracy) wykazały obniżenie parametrów spirometrycznych u 3 pracowników: zmniejszenie w pierwszy poniedziałek było większe niż w przez kolejne 2 dni: FVC : -16,6%, -5,0% i -5,7% i FEV₁ : -20,8%, -8,3% i -10,4%. Stężenia ADCA mierzone od poniedziałku wynosiły: 0,7 mg/m^3 , 2,0 mg/m^3 i 2,1 mg/m^3 , a w piątek: 1,9 mg/m^3 (Ferris i in. 1977). W badaniu Ahrenholza i in. (1985) badania spirometryczne wykazały brak różnic między robotnikami z objawami (zastrudnionymi podczas produkcji podłóg z PCW) a pracownikami nienarażonymi (w odniesieniu do objawów przed zakończeniem zmiany roboczej i po jej zakończeniu), ale w narażeniu bezpośrednim

występował związek między wynikami testu czynnościowego płuc a narażeniem – odnotowano skutki pogorszenia czynności płuc wraz ze wzrostem narażenia. Mediana stężenia ADCA wynosiła 2,7 mg/m³.

W badaniu NIOSH (1985) i *Whiteheada* i in. (1987) zaobserwowano niewielkie, ale statystycznie istotne zmniejszenia średniej wartości FVC i FEV₁ w ciągu zmiany roboczej (przed jej zakończeniem i po zakończeniu) u 17 operatorów form wtryskowych. W badaniach czynnościowych płuc stwierdzono istotne statystycznie, ale niewielkie zmniejszenia średnich wartości FEV₁ (-141 ml, -35 ml i -30 ml) oraz FVC (-120 ml, -8 ml i -50 ml) w zakresie narażenia odpowiednio na stężenia: do 0,020 mg/m³, 0,021 ÷ 0,040 mg/m³ oraz >0,040 mg/m³. Mediana stężenia ADCA w powietrzu pomieszczenia dla wtryskarek wynosiła 0,036 mg/m³. Objawy działania toksycznego ze strony układu oddechowego zgłaszane u robotników pracujących przy formowaniu wtryskowym były znacznie częstsze w porównaniu z pracownikami w innych działach. W przypadku obecnych pracowników zajmujących się formowaniem wtryskowym autorzy badania stwierdzili zwiększoną częstość występowania podrażnień: pieczenie oczu, nosa lub gardła co najmniej raz w miesiącu (iloraz szans OR: 1,77; *p* = 0,04), kaszel (OR: 1,98; *p* = 0,02), świszczący oddech (OR: 2,75; *p* = 0,004) i ból głowy (OR: 1,82; *p* = 0,04), (NIOSH 1985; *Whitehead* i in. 1987).

Biorąc pod uwagę te zobiektywizowane pomiary parametrów funkcji płuc, średnie narażenie 3 grup wynoszące 36 µg/m³ (0,036 mg/m³), podane przez *Whiteheada* i in. (1987), jest rozważane przez NIOSH jako propozycja wartości LOAEC. Jednak subiektywne objawy związane z pracą w narażeniu na ADCA zgłaszane przez pracowników nie pozwalają wyznaczyć NOAEC. EPA oszacowała na podstawie obiektywnych badań parametrów funkcji płuc oraz subiektywnych odczuć robotników tzw. skorygowany LOAEC na bardzo niskim poziomie, tj. 0,00689 mg/m³. Uwzględniono tu bowiem zgłaszane przez pracowników niekorzystne skutki związane z działaniem na układ oddechowy, w tym podrażnienia, kaszel, świszczący oddech (związany z dusznością) i przewlekłe zapalenia oskrzeli, oraz zmierzone zmniejszenia wartości FEV₁ i FVC u narażonych na ADCA pracowników formowania wtryskowego. EPA oszacowała stężenie referencyjne (*subchronic* p-RfC – maksymalne stężenie akceptowalne) na podstawie badania *Whiteheada*

i in. (1987) na poziomie 7 · 10⁻⁶ mg/m³ (EPA 2014), przyjmując współczynnik niepewności 1000.

Skutki narażenia zawodowego na ADCA przedstawiono w tabeli 5.

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

Istniejące wartości NDS i DSB

W Polsce dotychczas nie ustalono wartości NDS dla 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) (Rozporządzenie 2018). Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń ustalone w różnych państwach zestawiono w tabeli 14 (GESTIS-Stoffdatenbank 2023; MAK 2018).

W dokumentacji rejestracyjnej dostępnej na stronie internetowej Europejskiej Agencji Chemicznych (ECHA 2023b) podano też wartości DNEL (*derived no effect level* – poziom pochodny niepowodujący zmian) oszacowane przez producentów/importerów na etapie rejestracji (tab. 15) z powodu działania drażniącego ADCA na drogi oddechowe.

Niemcy – uzasadnienie wartości MAK

Wyniki badań na zwierzętach nie są przydatne do ustalenia wartości MAK (najwyższego dopuszczalnego stężenia w powietrzu strefy roboczej – *Maximale Arbeitsplatz-Konzentrationen*), ponieważ dostępne obserwacje ludzi narażonych zawodowo na ADCA wykazały, że układ oddechowy ludzi jest bardziej wrażliwy na substancję niż układ oddechowy gryzoni. Po 13-tygodniowym narażeniu inhalacyjnym gryzoni (szczurów, myszy) nie obserwowano wpływu ADCA na drogi oddechowe (po wszystkich badanych stężeniach, maks. do 200 mg/m³). Za wartość NOAEC przyjęto stężenie 50 mg/m³. Uzyskano wtedy wartość MAK 5 mg/m³ (biorąc pod uwagę następujące współczynniki niepewności: 2 – ze względu na czas narażenia, 2 – uwzględnienie różnic w objętości oddechowej, 2 – ze względu na ekstrapolację danych ze zwierząt na ludzi).

Przy wyliczaniu wartości MAK na podstawie danych dotyczących ludzi wzięto pod uwagę następujące przesłanki:

a) w żadnym z badań przeprowadzonych w zakładach pracy nie stwierdzono wyraźnej korelacji

Tabela 14. Wartości dopuszczalnych stężeń 1,1'-azodi(formamidu) (ADCA) w środowisku pracy w poszczególnych państwach oraz zalecane przez dostawców w kartach charakterystyki (EH 65/26; GESTIS-Stoffdatenbank 2023; MAK 2018)

Table 14. Permissible concentration values for 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) in the workplace in various countries and recommended by suppliers in safety data sheets (EH 65/26; GESTIS-Stoffdatenbank 2023; MAK 2018)

Państwo	Wartość NDS		Wartość NDSCh	
	mg/m ³	ppm	mg/m ³	ppm
Finlandia	0,5	–	–	–
Irlandia	1	–	3 (1)	–
Niemcy (DFG)	0,02 (1)	–	0,02 (1)(2)	–
Szwajcaria	0,02 (1)	–	0,02 (1)(2)	–
Wielka Brytania	1	–	3	–

Objaśnienia:

Irlandia (1) – frakcja respirabilna.

Niemcy (DFG): (1) – frakcja wdychalna i pary; (2) – 15-minutowa średnia ważona.

Szwajcaria: (1) – frakcja respirabilna; (2) – 15-minutowa średnia ważona.

Tabela 15. Wartości DNEL ustalone dla pracowników narażonych na 1,1'-azodi(formamid) (ADCA), (ECHA 2023b)

Table 15. DNEL values established for workers exposed to 1,1'-azobis(formamide) (ADCA) (ECHA 2023b)

Populacja	Narażenie	Wartość DNEL
Pracownicy	inhalacyjne, przewlekłe, działanie drażniące na drogi oddechowe	500 µg/m ³
Pracownicy	dożołądkowo, przewlekłe	3 mg/kg mc./dzień

między częstością objawów ze strony układu oddechowego a stężeniami w powietrzu (patrz rozdział „Działanie toksyczne u ludzi”), chociaż często stwierdzano objawy wywołane narażeniem;

b) nie jest jasne, czy objawy ze strony układu oddechowego wiązały się z narażeniem tylko na ADCA, czy też w środowisku pracy były także inne substancje powodujące podobne skutki narażenia;

c) szczegółowe pomiary narażenia na 1,1'-azodi(formamid) opisane w publikacji NIOSH (*Ahrenholz* i in. 1985) pochodzą od pracowników, którzy używali środków ochrony osobistej (maski przeciwpyłowe), i dlatego nie nadają się do określenia wartości MAK. Dane dotyczące narażenia pracowników, którzy nie używali masek, można znaleźć tylko w badaniach NIOSH (1985) oraz *Whiteheada* i in. (1987). U 17 pracowników zajmujących się formowaniem wtryskowym określono parametry czynności płuc FEV₁ i FVC, a wyniki przypisano do trzech poziomów narażenia (stężenia do 20 µg/m³, 21 ÷ 40 µg/m³ oraz >40 µg/m³). W tych trzech grupach czynność płuc nie była upośledzona lub była tylko nieznacznie. Nie było także zależności stężenie–skutek dla średnich oznaczonych parametrów funkcji płuc. *Whitehead* (2017) w komunikacie dla KE nie wskazał pozytywnej zależności stężenie–skutek. Biorąc pod uwagę te zobiektywizowane pomiary parametrów czynności płuc, średnie narażenie w trzech grupach wynosiło 36 µg/m³ (0,036 mg/m³)

– uznano je zatem za NOAEC. Ponieważ jednak nie można wyznaczyć NOAEC dla subiektywnych objawów zgłaszanych przez pracowników, ustalono wartość MAK na poziomie 0,02 mg/m³ (20 µg/m³, frakcja wdychalna). Wartość krótkoterminową ustalono na tym samym poziomie;

d) brak dostępnych badań toksyczności rozwojowej. 1,1'-Azodi(formamid) jest zatem klasyfikowany w grupie ryzyka ciąży D;

e) brak dostępnych danych, które uzasadniałyby klasyfikację substancji w jednej z kategorii rakotwórczości;

f) nie ma dostępnych danych dotyczących działania mutagennego na komórki rozrodcze. 1,1'-Azodi(formamid) indukuje mutacje u bakterii, ale nie powodował działania mutagennego w komórkach ssaków. Testy klastogenności dały negatywne wyniki w komórkach ssaków, ale zaobserwowano indukcję aberracji chromosomowych i poliploidii. Jedno badanie uznano za wątpliwe. Nie obserwowano indukcji mikrojąder in vivo po podaniu dożołądkowym lub dootrzewnowym myszom. 1,1'-Azodi(formamid) nie indukował mutacji u *Drosophila*. Nie ma dostępnych danych, które uzasadniałyby zaklasyfikowanie do kategorii mutagenów na komórki rozrodcze;

g) nie ma dostępnych danych eksperymentalnych dotyczących wchłaniania azodikarbonamidu przez skórę. W jednym badaniu na zwierzętach nie

stwierdzono oznak toksyczności ogólnoustrojowej po jednorazowym naniesieniu na skórę ADCA w dawce 2000 mg/kg mc. Modelowe obliczenia absorpcji w standardowych warunkach wykazały, że maksymalna absorpcja przez skórę wynosi 0,03 mg.

Przy założeniu, że absorpcja przez skórę stanowi 10% absorpcji przez inhalację, a całkowita ilość wdychanego powietrza wynosi 10 m³, oszacowano, że wartości stężenia ADCA w powietrzu 5 mg/m³ odpowiada ogólnoustrojowe wchłanianie przez skórę około 5 mg. Ze względu na bardzo dużą różnicę między wchłanianiem przez skórę oczekiwanym na podstawie obliczeń modelowych, nawet w najgorszym przypadku, a maksymalną tolerowaną dawką niepowodującą skutków ogólnoustrojowych, nie należy oczekiwać istotnego udziału wchłaniania przezskórnego w ogólnoustrojowej toksyczności substancji. Dlatego 1,1'-azodi(formamid) nie jest oznaczony literą „H” (dla substancji, które mogą wchłaniać się przez skórę w ilościach istotnych toksykologicznie);

h) dostępny jest tylko jeden wiarygodnie udokumentowany wynik kliniczny, który mógłby wskazywać na możliwe działanie uczulające na skórę przez 1,1'-azodi(formamid). Nie podano jednak informacji o tożsamości i czystości badanego produktu. Podobnych informacji brakuje również w innych raportach. Negatywne wyniki uzyskano w teście lokalnych węzłów chłonnych na myszach oraz w teście maksymalizacji i teście Bühlera na kawiach domowych. Te negatywne wyniki należy rozpatrywać w kontekście małej rozpuszczalności azodikarbonamidu w stosowanych rozpuszczalnikach. Pozytywne wyniki badań na zwierzętach nie są dostępne. Dostępnych jest kilka studiów przypadków dotyczących wpływu azodikarbonamidu na drogi oddechowe. Jednak większość badań miała wady metodologiczne, a stężenia pyłu uzyskane w prowokacji oskrzelowej nie były dokumentowane. Pochodzenie immunologiczne, a tym samym możliwość uczulenia w drogach oddechowych, można było wywnioskować z wyników testów prowokacji oskrzelowej najwyżej w trzech przypadkach, ale bez dowodu uczulenia zgodnie ze znanymi mechanizmami. Wyniki miejscowych testów skórnych z azodikarbonamidem we wszystkich przypadkach były ujemne i nie wykryto swoistych IgE dla azodikarbonamidu skoniugowanego z albuminą surowicy ludzkiej. Badania w miejscu pracy nie obejmowały badań pulmonologiczno-alergologicznych specyficznych dla substancji, a w zgłoszonych

przypadkach, odnotowanych głównie w brytyjskich rejestrach chorób podlegających zgłoszeniu, także brakowało informacji o rozpoznaniu i narażeniu, dlatego nie jest możliwe przeprowadzenie kontroli wiarygodności. Decydującym czynnikiem dla oceny ewentualnego potencjału uczulającego jest jednak fakt, że w żadnym z badań nie podano pochodzenia, tożsamości i czystości substancji, która była obecna w miejscu pracy lub stosowana do diagnostyki. Ze względu na liczne potencjalne dodatki występujące podczas produkcji lub stosowania azodikarbonamidu substancja ta nie jest jednoznacznie identyfikowalna jako przyczyna skutków działania alergicznego.

Opinia ECHA

Celem dwóch dokumentów opracowanych w Europejskiej Agencji ds. Chemikaliów (ECHA 2012a; 2012b) jest propozycja identyfikacji ADCA jako substancji stwarzającej poważne zagrożenie dla zdrowia ludzkiego, w szczególności ze względu na właściwości uczulające układ oddechowy. Opinia ECHA zawiera analizę potencjalnych skutków zdrowotnych wynikających z narażenia na ADCA, w tym uczulających właściwości układu oddechowego, które mogą prowadzić do poważnych chorób, takich jak astma zawodowa. Dokumenty podkreślają brak bezpiecznego stężenia substancji oraz zawierają również dowody na długo utrzymujące się skutki zdrowotne, nawet po zaprzestaniu kontaktu z ADCA. Główne wnioski wynikające z analizy przeprowadzonej w ECHA przedstawiono poniżej.

ADCA ma zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie zgodnie z tabelą 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006 z dnia 31 grudnia 2008 r. (Dz. Urz. WE L 353, 1–1355 ze zm.), (rozporządzenie CLP, 2008). ADCA jest zaklasyfikowany jako Resp. Sens. 1 – działanie uczulające na drogi oddechowe kategorii 1 z przypisanym zwrotem „H334: Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania”.

Europejska Agencja ds. Chemikaliów (ECHA) w dokumencie identyfikującym ADCA jako substancję stwarzającą szczególnie duże obawy ze względu na właściwości uczulające na drogi oddechowe

stwierdza, że związek ten powoduje prawdopodobne poważne skutki dla zdrowia ludzkiego, które stanowią niebezpieczeństwo równoważne z właściwościami CMR (rakotwórcze, mutagenne, reprotoksyczne – *Carcinogenic, Mutagenic, Reprotoxic*), PBT/vPvBs (trwałe, ulegające biokumulacji i toksyczne – *Persistent, Bioaccumulative and Toxic*) oraz vPvBs (bardzo trwałe i bardzo łatwo ulegające biokumulacji – *Very Persistent and Very Bioaccumulative*). ECHA uznała, że istnieją dowody naukowe, że ADCA wywołuje astmę zawodową z początkowymi objawami, takimi jak: nieżyt nosa, zapalenie spojówek, świszczący oddech, kaszel, po których następują ucisk w klatce piersiowej, duszność i nocne objawy astmy w postaci kaszlu napałowego, z możliwym opóźnieniem objawów nawet do wielu lat. W większości przypadków po okresie utajenia trwającym od kilku miesięcy do kilku lat następował nagły początek objawów. Podczas gdy w niektórych przypadkach zaobserwowano progresję objawów w przypadku kontynuacji narażenia, w innych narażenie przerwano po wystąpieniu pierwszych objawów i dlatego nie można było zaobserwować ich spotęgowania. Zwykle można zaobserwować szybkie nasilenie objawów i pogorszenie stanu zdrowia. Opóźnienie pojawienia się objawów ze strony układu oddechowego różniło się w różnych studiach przypadków od występującego zaraz po pierwszym narażeniu do 10 lat po pierwszym narażeniu (Normand i in. 1989). Kim i in. (2004) opisali przypadek z wystąpieniem objawów opóźnionym o 7 lat. Inni zgłaszali różnice w okresie utajenia od tygodni (Alt, Diller 1988) do 1 roku (Normand i in. 1989; Valentino, Comai 1985). Wcześniejsza ekspozycja na alergen (np. praca w piekarni) wydaje się przyspieszać ten proces (Normand i in. 1989).

Nawet po zaprzestaniu narażenia objawy utrzymują się przez długi czas, do co najmniej 7 lat. Usunięcie ekspozycji na ADCA w wielu przypadkach zmniejszyło skutki zdrowotne, ale prowokacja ADCA jakiś czas później ponownie powodowała objawy astmy (Normand i in. 1989). Odnotowano również złagodzenie objawów podczas weekendu (Valentino, Comai 1985). Opisano jednak przypadki, w których nadreaktywność oskrzeli występowała przez 6 miesięcy (Kim i in. 2004) lub objawy astmy utrzymywały się przez co najmniej 7 lat (Slovak 1981) po zakończeniu narażenia na ADCA. Pokazuje to, że ADCA może powodować długotrwałe

skutki dla zdrowia i funkcji układu oddechowego. Długotrwałe narażenie na ADCA może skutkować utrzymującymi się przez lata objawami nadreaktywności oskrzeli.

W niektórych państwach członkowskich UE na poziomie krajowym odnotowano choroby układu oddechowego (w tym astmę zawodową) po narażeniu na działanie ADCA (ECHA 2012a; 2012b).

Do oceny działania uczulającego wzięto pod uwagę następujące czynniki:

- ciężkość skutków zdrowotnych,
- nieodwracalność skutków,
- brak bezpiecznego stężenia – działanie bezprogowe,
- troska społeczna i pogorszenie jakości życia,
- opóźnienie skutków zdrowotnych.

Brak jest bezpiecznego stężenia, które nie powinno spowodować niekorzystnych zmian w stanie zdrowia pracownika. Obecnie dostępne metody nie pozwalają na wyznaczenie progu działania. Brakuje także badań na zwierzętach wskazujących na właściwości uczulające ADCA – substancja jest klasyfikowana na podstawie danych dotyczących ludzi. Dostępne są jedynie ograniczone informacje na temat poziomów (stężeń) narażenia. Ustalenie zależności dawka–odpowiedź nie jest więc możliwe. Ponadto mechanizm działania uczulającego ADCA jest nadal przedmiotem dyskusji.

Związek między narażeniem na ADCA a astmą zawodową jest dobrze udokumentowany w dostępnych badaniach i krajowych bazach danych (np. baza danych SWORD), w których ADCA jest rejestrowany jako substancja powodująca astmę zawodową. Oprócz stosowania leków zmniejszających ostre objawy ze strony dróg oddechowych, konieczne jest też ścisłe unikanie narażenia na ADCA w celu zapobieżenia progresji do trwałych objawów nadreaktywności i rozwoju wrażliwości na wcześniej tolerowane czynniki drażniące. Możliwymi skutkami są: pogorszenie jakości życia w wyniku narażenia i ograniczenia związane z koniecznością przyjmowania leków, przekwalifikowaniem pracownika lub bezrobociem z konsekwencjami finansowymi dla osoby dotkniętej chorobą i/lub społeczeństwa.

Aby zabezpieczyć pracownika przed działaniem substancji na drogi oddechowe, należy utrzymywać stężenie ADCA na możliwym technologicznie najniższym poziomie.

Wielka Brytania – uzasadnienie

Nie było możliwe określenie NOAEL dla indukcji lub prowokacji reakcji alergicznej, stąd zalecono wyznaczenie maksymalnego limitu narażenia (tzw. MEL15). Dyskusje z przemysłem wykazały, że MEL wynoszący 1 mg/m^3 (8 h TWA, *Time-Weighted Average* – średnie stężenie substancji chemicznej w powietrzu, na które pracownik jest narażony przez określony czas, zazwyczaj 8 h dziennie przez 40 h tygodniowo) byłby możliwy do dotrzymania. W przypadku substancji uczulających na drogi oddechowe zalecono wyznaczenie limitu narażenia krótkoterminowego (STEL) w celu ograniczenia narażenia szczytowego, które odgrywa dużą rolę w indukowaniu i wyzwalaniu uczulenia. Stosując „regułę trzykrotności” zaproponowano STEL na poziomie 3 mg/m^3 (15-minutowy okres odniesienia), (EH 65/26).

Podstawy proponowanej wartości NDS i DSB

Skutkiem krytycznym działania ADCA po podaniu drogą pokarmową jest działanie nefrotoksyczne. W badaniu zastosowania ADCA jako leku na HIV 3 dawki dobowe po 2 g 1,1'-azodi(formamidu) określono jako maksymalną tolerowaną dawkę doustną. Przy większych dawkach – do około 10 g, czyli $129 \div 142 \text{ mg/kg mc. na dobę}$ – u niektórych pacjentów stwierdzono skutki działania nefrotoksycznego (kolka nerkowa, kamica nerkowa z martwicą brodawek i zwiększenie stężenia kreatyniny), podczas gdy u innych wystąpiła nietolerancja glukozy lub cytotoksyczne działanie 1,1'-azodi(formamidu) na limfocyty T pomocnicze CD4, odgrywające główną rolę w układzie odpornościowym (Goebel i in. 2001). Po dożołądkowym podaniu samicom szczurów ADCA w dawce 1000 mg/kg mc. obserwowano odmiedniczkowe zapalenie nerek (Hatano Research Institute 2000).

Skutkiem krytycznym ADCA po narażeniu inhalacyjnym jest bezprogowie działanie uczulające na drogi oddechowe.

Brak jest dostępnych wyników badań na zwierzętach dotyczących potwierdzenia właściwości uczulających ADCA – substancja jest klasyfikowana na podstawie danych dotyczących ludzi.

Subiektywne objawy związane z pracą, zgłaszane przez pracowników, to nieżyt nosa, zapalenie spojówek, świszczący oddech, kaszel, po których następują objawy, takie jak: ucisk w klatce piersiowej, duszność i nocne objawy astmy w postaci kaszlu

napadowego. Na ich podstawie nie można jednak wyznaczyć wartości NOAEC/LOAEC. ECHA stwierdziła, że istnieją dowody naukowe na to, że ADCA wywołuje astmę zawodową z możliwym opóźnieniem wystąpienia objawów nawet do wielu lat.

Uwzględniając obiektywne pomiary parametrów funkcji płuc, zaobserwowano niewielkie, ale statystycznie istotne obniżenia średniej wielkości FVC i FEV₁ w ciągu zmiany roboczej w badaniu zarówno przed zakończeniem zmiany roboczej, jak i po jej zakończeniu u 17 operatorów form wtryskowych (NIOSH 1985; Whitehead i in. 1987). Średnie narażenie wynosiło $36 \mu\text{g/m}^3$ ($0,036 \text{ mg/m}^3$) i proponuje się je przyjąć za wartość LOAEC.

$$\text{NDS} = \frac{\text{LOAEC}}{A \cdot B \cdot C \cdot D \cdot E}$$

$$\text{NDS} = \frac{0,036}{1 \cdot 1 \cdot 1 \cdot 2 \cdot 1} = 0,018 \text{ mg/m}^3$$

Do wyznaczenia wartości NDS dla ADCA przyjęto następujące wartości współczynników niepewności:

- A = 1, współczynnik związany z wrażliwością osobniczą człowieka (liczne badania na ludziach zawodowo narażonych na ADCA),
- B = 1, współczynnik związany z różnicami międzygatunkowymi,
- C = 1, współczynnik związany z czasem trwania badań (narażenie zawodowe),
- D = 2, zastosowanie wartości LOAEC,
- E = 1, współczynnik modyfikacyjny (dotyczy oceny eksperta o kompletności danych oraz potencjalnych skutków odległych).

Proponuje się przyjąć NDS na poziomie $0,02 \text{ mg/m}^3$ oraz NDSch na poziomie $0,04 \text{ mg/m}^3$ dla frakcji wdychalnej ADCA, żeby zabezpieczyć pracownika przed stężeniami pikowymi w środowisku pracy.

Ze względu na działanie uczulające substancji proponuje się oznakowanie: „A” – substancja o działaniu uczulającym.

Nie ma dostępnych badań eksperymentalnych dotyczących wchłaniania azodikarbonamidu przez skórę. W jednym badaniu na zwierzętach nie stwierdzono oznak toksyczności ogólnoustrojowej po jednorazowym naniesieniu na skórę ADCA w dawce 2000 mg/kg mc. Nie należy oczekiwać istotnego udziału wchłaniania przezskórnego w ogólnoustrojowej toksyczności substancji, dlatego 1,1'-azodi(formamid) nie jest oznaczony notacją „skóra”.

PIŚMIENNICTWO

Acros Organics BVBA (2013). Azodicarbonamide. Karta charakterystyki.

Ahrenholz S.H., Morawetz J., Liss G. (1985). Health hazard evaluation report. Armstrong World Industries, Lancaster, PA. National Institute for Occupational Safety and Health (Report No. HETA 83-451-1547 PB86-105582).

Alfa Aesar Thermo Fisher Scientific Chemicals, Inc. (2015). Azodicarbonamide. Karta charakterystyki.

Alt E., Diller W. (1988). „Überempfindlichkeitshusten“ als arbeitsmedizinisches Problem [“Hyperreactivity cough” in occupational medicine]. Zentralbl. Arbeitsmed. Arbeitsschutz. 38(Suppl. 2), 22–26.

Ameille J., Pauli G., Calastreng-Crinquand A. i in. (2003). Reported incidence of occupational asthma in France, 1996–99: the ONAP programme. *Occup. Environ. Med.* 60, 136–141.

Arts J., Kimber I. (2017). Azodicarbonamide (ADCA): a reconsideration of classification as a respiratory sensitiser. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 89, 268–278. DOI:10.1016/j.yrtph.2017.07.018.

BG Chemie (1993). Diazene dicarboxamide. Toxicological Evaluation 217, Vol. 8. BG Chemie, Heidelberg.

Biswas S.K., Rahman I. (2009). Environmental toxicity, redox signaling and lung inflammation: the role of glutathione. *Mol. Aspects Med.* 30, 60–76.

Bonsall J. (1984). Allergic contact dermatitis to azodicarbonamide. *Contact Dermatitis* 10, 42.

Centralny Rejestr Chorób Zawodowych (2023). Instytut Medycyny Pracy, Łódź.

CICADS, Concise International Chemical Assessment Documents (1999). Azodicarbonamide (CICAD 16). Inchem. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization, Geneva.

ECHA, European Chemicals Agency (2012a). Annex XV dossier: diazene-1,2-dicarboxamide [C,C'-azodi(formamide)] (ADCA). Proposal for identification of a substance as a CMR Cat 1A or 1B, PBT, vPvB or a substance of an equivalent level of concern. <http://echa.europa.eu/documents/10162/d9e11c88-481a-47a9-8fff-915b48086ddb>.

ECHA, European Chemicals Agency (2012b). Member state committee support document for identification of diazene-1,2-dicarboxamide [C,C'-azodi(formamide)] as a substance of very high concern because, due to its respiratory sensitising properties, it causes probable serious effects to human health which give rise to an equivalent level of concern to those of cmrs and PBTs/VPVBs. Helsinki.

ECHA, European Chemicals Agency (2014). Background document for diazene-1,2-dicarboxamide [C,C'-azodi(formamide)]. <https://echa.europa.eu/documents/10162/9a57b7ed-af10-4044-9904-bcb888e4cb23>.

ECHA, European Chemicals Agency (2016). Information on registered substances. Dataset on C,C'-azodi(formamide) (CAS Number 123-77-3), joint submission, first publication 17.02.2011, last modification 6.01.2016. <http://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals>.

ECHA, European Chemicals Agency (2023a). Brief Profile. C,C'-azodi(formamide) [Internet: <https://echa.europa.eu/pl/brief-profile/-/briefprofile/100.004.229>].

ECHA, European Chemicals Agency (2023b). Registration Dossier. C,C'-azodi(formamide). <https://echa.europa.eu/pl/registration-dossier/-/registered-dossier/15242>.

ED/169/2012 (2012). C,C'-azodi(formamide). Inclusion of substances of very high concern in the candidate list (Decision of the European Chemicals Agency). ECHA, Helsinki. 4739d799-2888-4031-b3eb-73a9d475347b (europa.eu).

EH 65/26 (1996). Guidance Note: criteria document for an occupational exposure limit – azodicarbonamide (E.M. Ball, A. Saleem, A.O. Ogunbiyi, K. Wiley and J.A. Groves).

EPA, Environmental Protection Agency (2014). Provisional peer-reviewed toxicity values for azodicarbonamide. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA/690/R-14/002F.

Exelby J.H., Puri R.R., Henshaw D.M. (1993). Blowing agents. [W:] Handbook of polyvinyl chloride formulating. [Red.] E.J. Wickson. John Wiley & Sons, New York, 525–549.

Fagny C., Vandeveld M., Svoboda M. i in. (2002). Ribonucleotide reductase and thymidine phosphorylation: two potential targets of azodicarbonamide. *Biochem. Pharmacol.* 64, 451–456.

Ferris B.G. Jr, Peters J.M., Burgess W.A. i in. (1977). Apparent effect of an azodicarbonamide on the lungs: a preliminary report. *J. Occup. Med.* 19, 424–425.

Fiserova-Bergerova V., Pierce J.T., Droz P.O. (1990). Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am. J. Ind. Med.* 17, 617–635.

Gafford F.H., Sharry P.M., Pittman J.A. Jr (1971). Effect of azodicarbonamide (1,1'-azobisformamide) on thyroid function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 32, 659–662.

Gerlach R., Medinsky M., Hobbs C. i in. (1989). Effect of four-week repeated inhalation exposure to unconjugated azodicarbonamide on specific and non-specific airway sensitivity of the guinea pig. *J. Appl. Toxicol.* 9, 145–153.

GESTIS-Stoffdatenbank (2023). GESTIS International limit values for chemical agents (Occupational exposure limits, OELs). https://limitvalue.ifa.dguv.de/WebForm_ueliste2.aspx.

Go Y.-M., Chandler J.D., Jones D.P. (2015). The cysteine proteome. *Free Radic. Biol. Med.* 84, 227–245.

Goebel F.D., Hemmer R., Schmit J.C. i in. (2001). Phase I/II dose escalation and randomized withdrawal study with add-on azodicarbonamide in patients failing on current antiretroviral therapy. *AIDS* 15, 33–45 [cyt. za: MAK 2018].

- Guy R.H., Potts R.O. (1993). Penetration of industrial chemicals across the skin: a predictive model. *Am. J. Ind. Med.* 23, 711–719.
- Hachiya N. (1987). [Evaluation of chemical genotoxicity by a series of short-term tests]. *Akita J. Med.* 14, 269–292 [cyt. za: MAK 2018].
- Hatano Research Institute (2000). One-generation reproduction toxicity test of 1,1'-azobisformamide in rats. Internal Report for the Environmental Health Bureau, The Japanese Ministry of Health and Welfare, Japan [cyt. za: MAK 2018].
- Heck R.L., Peascoe W.J. (2011). Blowing agents. [W:] *Processing and finishing of polymeric materials*. Vol. 1. John Wiley & Sons, Hoboken, 227–239.
- Hoffman S., Nolin J., McMillan D. i in. (2015). Thiol redox chemistry: role of protein cysteine oxidation and altered redox homeostasis in allergic inflammation and asthma. *J. Cell Biochem.* 116, 884–892.
- HSE, Health and Safety Executive (1996). Azodicarbonamide. Criteria document for an occupational exposure limit, HSE Books, Suffolk, UK.
- Huang M., Maynard A., Turpin J.A. i in. (1998). Anti-HIV agents that selectively target retroviral nucleocapsid protein zinc fingers without affecting cellular zinc finger proteins. *J. Med. Chem.* 41, 1371–1381.
- IRDC, International Research and Development Corporation (1982). Acute inhalation toxicity test with azodicarbonamide in mice [unpublished report] 5703-111. Research Triangle Park, NC [cyt. za: Mewhinney i in. 1987].
- Karjalainen A., Kurppa K., Virtanen S. i in. (2000). Incidence of occupational asthma by occupation and industry in Finland. *Am. J. Ind. Med.* 37, 451–458.
- Kim C.-W., Cho J.-H., Leem J.-H. i in. (2004). Occupational asthma due to azodicarbonamide. *Yonsei Med. J.* 45, 325–329.
- Kwon S.-C., Song J., Kim Y.-K. i in. (2015). Work-related asthma in Korea: findings from the Korea Work-Related Asthma Surveillance (KOWAS) program, 2004–2009. *Allergy Asthma Immunol. Res.* 7, 51–59.
- MAK (2018). MAK Collection for Occupational Health and Safety 3(3).
- Malo J.L., Pineau L., Cartier A. (1985). Occupational asthma due to azobisformamide. *Clin. Allergy* 15, 261–264.
- McDonald J.C., Keynes H.L., Meredith S.K. (2000). Reported incidence of occupational asthma in the United Kingdom, 1989–97. *Occup. Environ. Med.* 57, 823–829.
- Medinsky M.A., Bechtold W.E., Birnbaum L.S. i in. (1990). Effect of inhaled azodicarbonamide on F344/N rats and B6C3F1 mice with 2-week and 13-week inhalation exposures. *Fundam. Appl. Toxicol.* 15, 308–319.
- Mewhinney J.A., Ayres P.H., Bechtold W.E. i in. (1987). The fate of inhaled azodicarbonamide in rats. *Fundam. Appl. Toxicol.* 8, 372–381.
- Mulder P.P.J., Beumer B., Van Rhijn J.A. (2007). The determination of biurea: a novel method to discriminate between nitrofurazone and azodicarbonamide use in food products. *Anal. Chim. Acta* 586(1–2), 366–373.
- Nava C., Beretta F., Elena A. i in. (1983). Allergic dermatitis due to improvers and other flour additives. *Med. Lav* 74, 376–379.
- NIOSH, National Institute for Occupational Safety and Health (1985). Health hazard evaluation report HETA 83-156-1622, Leon Plastics, Grand Rapids, MI.
- Normand J., Grange F., Hernandez C. i in. (1989). Occupational asthma after exposure to azodicarbonamide: report of four cases. *Br. J. Ind. Med.* 46, 60–62.
- NPR (2014). Almost 500 foods contain the 'yoga mat' compound. Should we care? (A. Aubrey). <https://www.npr.org/sections/thesalt/2014/03/06/286886095/almost-500-foods-contain-the-yoga-mat-compound-should-we-care-keep>.
- NTP, National Toxicology Program. Azodicarbonamide (123-77-3). Genetic Toxicology Studies. Chemical Effects in Biological Systems (CEBS). Research Triangle Park, NC (USA). DOI: <https://doi.org/10.22427/NTP-DATA-DTXSID0024553>.
- NTP, National Toxicology Program. Study S0458 Azodicarbonamide. ADME/TK evaluation (S0458) of azodicarbonamide (123-77-3) in F344 rats exposed via gavage administration, <https://cebs.niehs.nih.gov/cebs/study/002-01678-0005-0000-9>.
- NTP, National Toxicology Program (1984a). In vitro cytogenetics: sister chromatid exchange, <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpViews/?studyNumber=002-01678-0001-0000-5>.
- NTP, National Toxicology Program (1984b). In vitro cytogenetics: chromosome aberrations, <http://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpViews/?studyNumber=002-01678-0002-0000-6>.
- NTP, National Toxicology Program (2018). Study Report Number 727470. 727470_G06_Ames_Summary_Data%20(2).pdf.
- OECD, Organisation of Economic Co-operation and Development (2007). Azodicarbonamide, 123-77-3, OECD SIDS Initial Assessment Report. UNEP (United Nations Environment Programme), Geneva. https://hpvchemicals.oecd.org/UI/SIDS_Details.aspx?key=29f8e2e7-df7c-43d5-9eac-b933b8105667&idx=0 (SIDS_123773.zip) [dostęp: 13.09.2024].
- Olofinnade A.T., Adeyeba A., Onaolapo A.Y. i in. (2020). An assessment of the effects of azodicarbonamide-containing diet on neurobehaviour, brain antioxidant status and membrane lipid peroxidation status in rats. *Centr. Nerv. Syst. Agents Med. Chem.* 20, 49–57.
- Oser B.L., Oser M., Morgareidge K. i in. (1965). Studies of the safety of azodicarbonamide as a flour-maturing agent. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 7, 445–472.
- Otsuka Chemical Company Limited (1988). Mouse micronucleus test on azodicarbonamide. Huntingdon Research

- Centre Ltd., OCI 79/88802, Otsuka Chemical Company Limited, Osaka, Japan, unpublished report.
- Piipari R., Keskinen H. (2005). Agents causing occupational asthma in Finland in 1986–2002: cow epithelium bypassed by moulds from moisture-damaged buildings. *Clin. Exp. Allergy* 35, 1632–1637.
- Pineau L., Cartier A., Malo J.L. (1985). Occupational asthma due to azobisformamide. *J. Allergy Clin. Immunol.* 75, 170.
- Prakash A.S., Swann W.A., Strachan A.N. (1975). The thermal decomposition of azodicarbonamide (1,1'-azobisformamide). *J. Chem. Soc. Perkin 2*, 46–50.
- PubChem (2023). Azodicarbonamide. Compound summary. National Institutes of Health, National Library of Medicine, National Center for Biotechnology Information. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azodicarbonamide> [dostęp: 13.09.2024].
- Rice W., Turpin J., Huang M. i in. (1997). Azodicarbonamide inhibits HIV-1 replication by targeting the nucleocapsid protein. *Nat. Med.* 3, 341–345.
- Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji oraz mieszanin, zmieniające i uchylające dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniające rozporządzenie WE nr 1907/2006 z dnia 31 grudnia 2008 r. Dz. Urz. WE L 353, 1–1355 ze zm. (CLP).
- Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU 2018, poz. 1286 ze zm.
- Shopp G.M., Cheng Y.S., Gillet N.A. i in. (1987). Acute inhalation exposure of azodicarbonamide in the guinea pig. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 48, 127–132.
- SIDS (2001). Initial assessment report for SIAM 12, Paris, France, 27-29 June 2001. <https://hqvchemicals.oecd.org/UI/handler.axd?id=63d0dbd4-0374-4022-835d-eea671409f0e> [dostęp: 13.09.2024].
- Sigma-Aldrich (2018). Azodicarboxamide. Karta charakterystyki.
- Slovak A. (1981). Occupational asthma caused by a plastics blowing agent, azodicarbonamide. *Thorax* 36, 906–909.
- Stadler R.H., Mottier P., Guy P. i in. (2004). Semicarbazide is a minor thermal decomposition product of azodicarbonamide used in the gaskets of certain food jars. *Analyst* 129, 276–281.
- Stevens M. (1967). Use of the albino guinea-pig to detect the skin-sensitising ability of chemicals. *Br. J. Ind. Med.* 24, 189–202.
- Tassignon J., Ismaili J., Le Moine A. i in. (1999). Azodicarbonamide inhibits T-cell responses in vitro and in vivo. *Nat. Med.* 5, 947–950.
- Tsen C.C. (1963). The reaction mechanism of azodicarbonamide in dough. *Cereal Chem.* 40, 638–646.
- Valentino M., Comai M. (1985). [Occupational asthma from azodicarbonamide: clinical case]. *G. Ital. Med. Lav.* 7, 97–99.
- Vandeveldel M., Witvrouw M., Schmit J.C. i in. (1996). ADA, a potential anti-HIV drug. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12(7), 567–568.
- Weber H., De Grave I., Röhr E. i in. (2016). *Foamed plastics. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry. Wiley-VCH. pp. 1–54. DOI: 10.1002/14356007.a11_435.pub2.*
- Whitehead L. (2017). Communication to the Commission from 21.02.2017, unpublished [cyt. za: MAK 2018].
- Whitehead L., Robins T., Fine L. i in. (1987). Respiratory symptoms associated with the use of azodicarbonamide foaming agent in a plastics injection molding facility. *Am. J. Ind. Med.* 11, 83–92.
- WIL Research Europe (2014). Assessment of contact hypersensitivity to ADCA in the mouse (local lymph node assay). Project 506582, Substance 205850A. WIL Research Europe B.V., Hertogenbosch, Nederlande; 9.10.2014, unpublished report.
- Wilschut A., Berge W.F., Robinson P.J. i in. (1995). Estimating skin permeation: the validation of five mathematical skin permeation models. *Chemosphere* 30, 1275–1296.
- Witvrouw M., Vandeveldel M., Tassignon J.P. i in. (1996). ADA, a potential anti-HIV drug. 9th International Conference on Antiviral Research. Urabandai, Fukushima, Japan [abstract].
- Yates V., Dixon J. (1988). Contact dermatitis from azodicarbonamide in earplugs. *Contact Dermatitis* 19, 155–156.
- Yoon J.S., Mason J.M., Valencia R. i in. (1985). Chemical mutagenesis testing in *Drosophila*: IV. Results of 45 coded compounds tested for the National Toxicology Program. *Environ Mutagen.* 7, 349–367.

ZAKRES BADAŃ WSTĘPNYCH I OKRESOWYCH, NARZĄDY (UKŁADY) KRYTYCZNE,
PRZECIWWSKAZANIA LEKARSKIE DO ZATRUDNIENIA W NARAŻENIU
NA 1,1'-AZODI(FORMAMID) – FRAKCJĘ WDYCHALNĄ

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

Zakres badania wstępnego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy.
Badania pomocnicze: spirometria.

Zakres badania okresowego

Ogólne badanie lekarskie ze zwróceniem uwagi na układ oddechowy.
Badania pomocnicze: spirometria.
Częstotliwość badań okresowych: co 2 – 4 lata.

U w a g a

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

Narządy (układy) krytyczne

Brak narządów (układów) krytycznych podczas pracy w narażeniu na 1,1'-azodi(formamid) – frakcję wdychalną.

Przeciwwskazania lekarskie do zatrudnienia

Brak przeciwwskazań lekarskich do zatrudnienia w narażeniu na 1,1'-azodi(formamid) – frakcję wdychalną.

U w a g a

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

