

OKSYM BUTAN-2-ONU JAKO POTENCJALNY CZYNNIK RAKOTWÓRCZY DLA LUDZI – DOWODY I SKUTKI DLA PRZEDSIĘBIORSTW WYNIKAJĄCE ZE ZMIANY KLASYFIKACJI

BUTANE-2-ONE OXIME AS A POTENTIAL CARCINOGEN FOR HUMANS – EVIDENCE AND EFFECTS ON BUSINESSES RESULTING FROM RECLASSIFICATION

Małgorzata Kupczewska-Dobecka

Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera / Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź, Poland
Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego / Department of Chemical Safety

STRESZCZENIE

Przedstawiono i oceniono dowody zmiany kategorii rakotwórczości oksymu butan-2-onu (MEKO) oraz skutków wynikających z tej zmiany dla przedsiębiorstw produkujących lub stosujących ten związek. Przeprowadzono przegląd internetowych baz danych cząsteczek naukowych z uwzględnieniem dostępnych na stronie ECHA raportów dotyczących harmonizacji klasyfikacji i oznakowania MEKO na poziomie Unii Europejskiej. Rozporządzeniem Komisji (UE) 2020/1182 wprowadzono zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie MEKO pod względem działania rakotwórczego do kategorii 1B. Indukcja nowotworów, ich charakter i znaczenie dla ludzi oraz wrażliwość osobników obu płci 2 badanych gatunków – wszystkie te czynniki wspierają klasyfikację MEKO do kategorii rakotwórczości 1B. Z drugiej strony uzyskano ujemne wyniki badań genotoksyczności MEKO, w tym na komórkach ssaków i *in vivo* na zwierzętach. Jest to argument, że klasyfikacja MEKO do kategorii 2 rakotwórczości pozostaje właściwa. Ze zmiany kategorii rakotwórczości MEKO wynikają skutki prawne dla przedsiębiorstw, w tym dotrzymanie warunków ograniczenia REACH, które obejmuje restrykcjami wprowadzanie MEKO do powszechnej sprzedaży, prowadzenie rejestru prac, których wykonywanie powoduje konieczność pozostawania w kontakcie z MEKO lub jego mieszaninami zawierającymi go w stężeniu $\geq 0,1\%$. Zgodnie z opinią dostawców obecnie nie ma praktycznego i tak dobrze zbadanego zamiennika MEKO mimo prób znalezienia go w ostatnich latach. Ryzyko dodatkowego raka wątroby w przypadku 40-letniego narażenia zawodowego na MEKO wynosi 4:100 000 w stężeniu ok. $0,7 \text{ mg/m}^3$ i jest to ryzyko akceptowalne zgodnie z przyjętymi w Polsce ustaleniami. Dotrzymanie dopuszczalnych stężeń MEKO w powietrzu środowiska pracy na tym poziomie powinno zabezpieczyć pracowników przed jego działaniem rakotwórczym. Med. Pr. 2022;73(6):457–470

Słowa kluczowe: narażenie zawodowe, NDS, oksym butan-2-onu, MEKO, działanie rakotwórcze, ograniczenie stosowania

ABSTRACT

Evidence of a change in the carcinogenicity category of butan-2-one oxime (MEKO) and the results of this change for manufacturing and using companies was presented and assessed. The online databases of scientific journals were reviewed, taking into account the reports on the harmonization of MEKO classification and labeling at EU level available on the ECHA website. Commission Regulation (EU) 2020/1182 introduced harmonized classification and labeling of MEKO for carcinogenicity to category 1B. The induction of tumors, the nature and importance of tumors for humans, and the sensitivity of the 2 species tested, both sexes – all of these factors support the classification of MEKO into the carcinogenicity category 1B. On the other hand, MEKO is negative in genotoxicity studies, including in mammalian cells and *in vivo* in animals. This is the argument that the classification of MEKO as carcinogen category 2 remains appropriate. The change in the MEKO carcinogenicity category results in legal consequences for companies, such as compliance with the conditions of REACH restriction, which includes restrictions on placing MEKO on the market for sale to the general public, keeping a register of works that require contact with MEKO or its mixtures containing MEKO in a concentration $\geq 0.1\%$. According to the opinion of MEKO suppliers, there is currently no practical MEKO substitute that has been so well researched, despite attempts to find it in recent years. The risk of additional liver cancer in the case of 40-year occupational exposure to MEKO is 4:100 000 at a concentration of approx. 0.7 mg/m^3 , and it is an acceptable risk in accordance with the arrangements adopted in Poland. Compliance with the permissible concentrations of MEKO in the air of the working environment at this level should protect employees against the carcinogenic effect of MEKO. Med Pr. 2022;73(6):457–70

Key words: occupational exposure, OEL, butan-2-one oxime, MEKO, carcinogenic effects, restriction of using

Autorka do korespondencji / Corresponding author: Małgorzata Kupczewska-Dobecka, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Zakład Bezpieczeństwa Chemicznego, ul. św. Teresy 8, 91-348 Łódź, e-mail: malgorzata.dobecka@imp.lodz.pl
Nadesłano: 9 września 2022, zatwierdzono: 28 listopada 2022

Finansowanie / Funding: praca sfinansowana przez Ministerstwo Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej oraz w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego / Narodowego Centrum Badań i Rozwoju (nr projektu PW.II.PB.03 Program wieloletni pn. „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy” V etap, okres realizacji: lata 2020–2022. „Część B: Program realizacji projektów w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych. Opracowanie dokumentacji dopuszczalnych poziomów narażenia zawodowego dla 30 czynników chemicznych szkodliwych dla zdrowia, w tym rakotwórczych”, kierownik projektu: prof. dr hab. S. Czerczak).

WSTĘP

Oksym butan-2-onu (MEKO, nr CAS: 96-29-7) należy do ketoksymów, związków organicznych, o wzorze ogólnym R-C(=NOH)-R. Jest przezroczystą, bezbarwną, palną, oleistą cieczą [1–3].

Zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin (*Classification, Labelling and Packaging* – CLP) [4] MEKO przypisano klasyfikację zharmonizowaną pod względem działania rakotwórczego do kategorii 2 (Carc. 2), tj. kategorii substancji, co do których podejrzewa się, że są rakotwórcze dla człowieka. Substancje przypisuje się do tej kategorii na podstawie dowodów uzyskanych z informacji dotyczących ludzi lub badań przeprowadzanych na zwierzętach, które jednak nie są wystarczająco przekonujące, by umieścić je w kategorii 1A lub 1B na podstawie dowodów. Od 22 marca 2022 r. MEKO jest zaliczany do kategorii 1B (Carc. 1B), tj. substancji, co do których wiadomo lub istnieje domniemanie, że są rakotwórcze dla człowieka [5]. Substancje klasyfikuje się w kategorii 1 na podstawie danych epidemiologicznych lub wyników badań przeprowadzonych na zwierzętach. Substancja może być następnie klasyfikowana jako rakotwórcza kategorii 1A lub 1B.

Jeżeli związek chemiczny cechuje się potencjalnym działaniem rakotwórczym dla ludzi, przy czym dowody przemawiające za klasyfikacją opierają się przede wszystkim na danych dotyczących ludzi, które wskazują na związek przyczynowo-skutkowy pomiędzy narażeniem człowieka na działanie substancji a rozwojem raka, substancję zalicza się do kategorii 1A. Jeżeli klasyfikacja opiera się na badaniach przeprowadzonych na zwierzętach, substancję przypisuje się do kategorii 1B. Ponadto w indywidualnych przypadkach ocena naukowa może potwierdzać decyzję dotyczącą domniemanej rakotwórczości dla człowieka na podstawie wyników badań wykazujących ograniczone dowody na rakotwórczość u człowieka wraz z ograniczonymi dowodami na rakotwórczość u zwierząt doświadczalnych [4].

Oksym butan-2-onu znajduje zastosowanie w formułacjach podkładów, lakierów, powłok ochronnych, w tym farb i żywic alkidowych, oraz żywic epoksydowych i poliuretanów jako środek przeciwkożuszeniu i twardnieniu. Zapobiega wysychaniu oksydacyjnemu i powstawaniu twardych, galaretowatych filmów na powierzchni produktu w pojemniku. W mniejszym stopniu występuje w wielu środkach do konserwacji drewna i farbach przeciwporostowych, a także w niektórych

klejach, uszczelniaczach silikonowych i tuszach drukarskich [6–8]. Oksym butan-2-onu o wysokiej czystości może być także stosowany w syntezie silikonowych środków sieciujących i silikonowych środków utwardzających jako surowiec do produkcji utwardzaczy do mieszanek gumy silikonowej i powłok galwanicznych lub jako środek blokujący w procesie wytwarzania polimerów uretanowych. Ponadto może być uwalniany z produktów budowlanych, takich jak farby lub masy szpachlowe.

Oksym butan-2-onu cechuje się stosunkowo dużą prężnością par w temperaturze pokojowej, tj. 0,14 kPa, co oznacza, że stężenie jego pary nasyconej może osiągać wartości rzędu 5000 mg/m³. W rezultacie w pojedynczych przypadkach w powietrzu pomieszczeń wewnętrznych mogą występować jego znaczne stężenia [3].

W badaniu przeprowadzonym przez Niemiecki Instytut Bezpieczeństwa i Zdrowia w Pracy w 2012 r. oceniono wielkość stężenia MEKO w powietrzu strefy oddychania pracowników z różnych gałęzi przemysłowych, takich jak produkcja i obróbka powłok, przemysł chemiczny, elektrotechniczny, mechaniczny i tworzyw sztucznych, obróbka metali oraz prace przy układaniu drewnianych podłóg. Łącznie w latach 1998–2011 wykonano 248 pomiarów. Oceniane według grup obszarów roboczych mediany stężeń MEKO wynosiły 0,35–0,5 mg/m³, a stężenie 95 percentyla wynosiło 1,1–4,7 mg/m³ [9]. Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (International Agency for Research on Cancer – IARC) wskazuje MEKO jako jedną z głównych substancji, na które mogą być narażeni pracownicy podczas malowania [6–8]. Malarze używający farb alkidowych zawierających tę substancję są na nią narażeni w stężeniach do 3,62–7,24 mg/m³ [10]. Prognozowane za pomocą modeli bezpomiarowych maksymalne stężenia MEKO w pomieszczeniach podczas stosowania farb alkidowych ściennych mogą wynosić nawet 227 mg/m³, a średnie stężenie mierzone 8-godzinnym czasem zmiany roboczej może wynosić 195 mg/m³ [11,12].

Do wchłaniania MEKO dochodzi przez skórę. Oszacowano, że narażenie przez skórę na tę substancję podczas jej stosowania jako półproduktu w syntezach i w formułacjach farb płynnych wynosi ok. 0,69 mg/kg/mc./dobę [13].

Celem pracy było przedstawienie i ocena dowodów zmiany kategorii rakotwórczości MEKO oraz skutków wynikających z tej zmiany dla przedsiębiorstw go produkujących i stosujących na podstawie badań naukowych dotyczących zależności pomiędzy narażeniem a występowaniem nowotworów u zwierząt i ludzi oraz analizy aktów prawnych w obszarze chemikaliów.

METODY PRZEGLĄDU

Przeprowadzono przegląd literatury z wykorzystaniem internetowych baz danych czasopism naukowych: PubMed, Google Scholar, Scopus i EBSCO Discovery Service, używając następujących słów kluczowych w językach angielskim lub polskim odnoszących się do ekspozycji: oksym butan-2-onu, metyloetyloketoxim, oksym ketonu etylowo-metylowego, zastosowanie, narażenie zawodowe i dopuszczalne wielkości narażenia zawodowego, oraz efektu zdrowotnego: toksyczność, rakotwórczość i mutagenność oksymu butan-2-onu. Odpowiednie badania zostały również zidentyfikowane poprzez przegląd piśmiennictwa w każdej z publikacji. Przegląd przeprowadzono uwzględniając badania na zwierzętach.

W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych nt. skutków działania toksycznego i odległych skutków narażenia na MEKO u ludzi. Uwzględniono również dostępne na stronie Europejskiej Agencji ds. Chemikaliów 4 raporty, opinie, komentarze i oceny dotyczące harmonizacji klasyfikacji i oznakowania MEKO na poziomie Unii Europejskiej (UE) oraz dane z dokumentacji rejestracyjnej, przedłożonej w ramach rozporządzenia REACH. Z każdego badania wyodrębniono następujące informacje: rodzaj efektu zdrowotnego, dowody działania rakotwórczego i genotoksycznego, narażenie, najniższy poziom wywołujący szkodliwe działanie (*lowest observed adverse effect level* – LOAEL) oraz poziom niewywołujący dających się zaobserwować szkodliwych skutków (*no observed adverse effect level* – NOAEL).

W pracy uwzględniono 41 badań, w tym 15 dotyczących działania toksycznego, 13 dotyczących działania rakotwórczego, genotoksycznego i mutagennego, 2 oceny narażenia i 6 aktów prawnych. Przegląd literatury obejmował lata 1980–2021. Oceniono działanie rakotwórcze MEKO w odniesieniu do najbardziej aktualnych, odpowiednich kryteriów zawartych w rozporządzeniu CLP. Większość badań rakotwórczości i genotoksyczności prowadzono w latach 1990–2012. Analiza wykazała, że nie ma nowych dowodów uzasadniających zmianę ustalonej kategorii rakotwórczości MEKO i nie są dostępne żadne badania epidemiologiczne, które wykazałyby, że wywołuje on raka u ludzi.

WYNIKI PRZEGLĄDU

Skutki działania toksycznego MEKO u zwierząt

Oksym butan-2-onu wykazuje niską inhalacyjną toksyczność ostrą u szczurów – mediana stężenia śmiertelnego mieści się w zakresie 4830–14 410 mg/m³ [1,14].

Badania toksyczności MEKO przeprowadzono na szczurach i myszach po podaniu wielokrotnym drogą inhalacyjną oraz *per os*. Przewlekłe narażenie drogą inhalacyjną prowadziło do methemoglobinemii, niedokrwistości hemolitycznej, obejmującej pozaszpikową proliferację komórek krwiotwórczych i hemosyderozę śledziony, nienowotworowego działania na wątrobę oraz zmian zwyrodnieniowych nabłonka węchowego w nosie [15–17].

Wartość najniższego stężenia wywołującego szkodliwe działanie (*lowest observed adverse effect concentration level* – LOAEC) dla hematotoksycznego działania MEKO wyznaczono na poziomie 54 mg/m³ na podstawie badań toksyczności przewlekłej przeprowadzonych wg metody OECD TG 453/EU B.33 u obu gatunków [15–17]. Zwiększenie stężenia methemoglobiny we krwi oraz zmiany w śledzionie i pozaszpikowej hematopoezie w wątrobie przypisuje się produktowi hydrolizy MEKO, tj. hydroksyloaminie, która jest utleniana do azotynu [18]. Oksym butan-2-onu powodował zależny od dawki wpływ na parametry krwi wskazujący na niedokrwistość hemolityczną oraz pozaszpikową hematopoezę w śledzionie i wątrobie także po narażeniu drogą pokarmową, zgłębnikiem do żołądka i w wodzie do picia. Za LOAEL dla działania hematotoksycznego w badaniu 28-dniowym uznano dawkę 20 mg/kg mc./dobę [1].

Opisano występowanie przemijających zmian neurobehawioralnych (zaburzeń równowagi i postawy, upośledzenia chodu, pobudzenia, zwiększenia reaktywności na bodźce, objawów pobudzenia układu wegetatywnego, np. ślinienia, wzmożonej reakcji na dotyk) w 90-dniowym badaniu na szczurach zgodnym z metodą OECD TG 408 po podaniu MEKO w dawce 400 mg/kg mc./dobę [2].

Wpływ na układ oddechowy obserwowano w badaniach toksyczności przewlekłej u szczurów i myszy (wg metody OECD TG 453/EU B.33). Myszy były podatniejsze na działanie MEKO na komórki nabłonka nosa niż szczury. Za najmniejszą wartość LOAEC dla wpływu na drogi oddechowe u myszy przyjęto stężenie 54 mg/m³ (po zarówno 12 mies., jak i 18 mies. ekspozycji) [15–17].

W rozważaniach toksykokinetycznych wykazano 2 szlaki metaboliczne MEKO. Założono, że jest on hydrolizowany w organizmie do butan-2-onu (ketonu metylo-etylowego) i hydroksyloaminy oraz że ten szlak jest preferowany. Istnieje też inny szlak metaboliczny, ilościowo mniej istotny, który może być związany z potencjalnym działaniem genotoksycznym MEKO, polegający na powolnym utlenianiu go do karboanionu, tj. 2-nitrobutanu w postaci anionu przy udziale mikrosomalnych monooksygenaz [11,19–23].

Działanie mutagenne i genotoksyczne

Oksym butan-2-onu nie indukował mutacji w testach na bakteriach *Salmonella typhimurium*, w testach *in vitro* na komórkach ssaków ani w badaniach *in vivo* [1,14,20,24–26]. W systemach *in vitro* ssaków nie wywoływał aberracji chromosomowych w hepatocytach szczura, mutacji genów w komórkach chłoniaka myszy, wymiany chromatyd siostrzanych ani aberracji chromosomów w komórkach CHO chomika. Badanie chłoniaka myszy wykazało działanie mutagenne przy braku aktywacji S9, ale w obecności cytotoksyczności (zahamowanie wzrostu o 50–92,5% przy dawkach 2,8–6,5 µl/ml). Oksym butan-2-onu nie indukował mutacji *in vivo* w mikrojądrach erytrocytów krwi obwodowej u samców i samic myszy B6C3F1 narażanych z wodą do picia ani nie wykazywał znaczącego wzrostu aberracji chromosomowych w szpiku kostnym szczura. W DNA wątroby szczurów narażonych inhalacyjnie przez 6 godz. na MEKO nie zaobserwowano adduktów DNA. Wyniki badań działania mutagennego MEKO zestawiono w tabeli 1 [1,14,20,21,25–30].

Działanie rakotwórcze na wątrobę

Hepatokancerogenność MEKO jest prawdopodobnie ogólną właściwością ketoksymów [21–23]. Rakotwórczość jest wynikiem utleniania ketoksymów do odpowiednich drugorzędowych nitroalkanów w reakcji zależnej od sulfotransferazy. Uważa się, że reakcja jest katalizowana przez cytochrom P450 [31]. Zakłada się, że potencjalne mechanizmy są wysoce złożone i obejmują wiele zdarzeń i czynników, które wciąż są nieznanne. Założono udział efektów cytotoksycznych (wzrost proliferacyjny) w kancerogenezie wątroby [3].

Punktem wyjścia działania rakotwórczego na wątrobę są nierakotwórcze skutki działania na ten narząd. W badaniach obejmujących cały okres życia (badania inhalacyjne, połączone badania toksyczności przewlekłej i rakotwórczości) obserwowano wpływ MEKO na wątrobę u szczurów i myszy w sposób zależny od stężenia. Oddziaływanie MEKO na wątrobę zaobserwowano u myszy jako przerost i martwicę zrazików centralnych w stężeniach >54 mg/m³ [15–17].

U szczurów w tym stężeniu działanie toksyczne na wątrobę manifestowało się zapaleniem torbielowatym wątroby, ogniskami bazofilnymi i wakuolizacją. Nie wyznaczono NOAEC dla wpływu MEKO na wątrobę u szczurów, ponieważ jej uszkodzenie wystąpiło już przy najniższym stężeniu ekspozycji. Uznano, że torbielowate zwyrodnienie wątroby jest źródłem działania rakotwórczego, ale wkładu tego nie można określić

ilościowo. Nierakotwórcze działanie na wątrobę było wyraźniejsze u samców zwierząt w odniesieniu do powstawania guzów i torbieli oraz występowania gąbczastej tkanki wątrobowej. Masy wątroby były znacząco zwiększone u samców zwierząt z grupy wysokich stężeń w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi, ale przyrost masy nie był już znaczący, gdy wykluczono zwierzęta z nowotworami [15–17]. W tabeli 2 przedstawiono zależność nierakotwórczych skutków działania MEKO na wątrobę u samców i samic szczurów od stężenia.

W części badań dotyczącej rakotwórczości szczury F344 (♂, ♀, 50/płeć/dawka) i myszy CD-1 (50/płeć/dawka) poddawano ekspozycji całym ciałem na MEKO o rozmiarze cząstek wyrażonym jako średnica aerodynamiczna masy 2,3–2,6 µm (*mass median aerodynamic diameter* – MMAD), o geometrycznym odchyleniu standardowym 2,1–2,8 µm (*geometric standard deviation* – GSD) w przypadku szczurów oraz MMAD 2,1–2,7 µm i GSD 2,7–3,4 µm w przypadku myszy. Zwierzęta narażano przez 6 godz. dziennie, 5 dni w tygodniu przez 26 mies. (szczury) lub 18 mies. (myszy) na MEKO w stężeniach wynoszących 0 mg/m³, 54 mg/m³, 270 mg/m³ lub 1346 mg/m³. Metoda spełniała kryteria zgodne z OECD TG 453/EU B.33. Satelitarne grupy zwierząt były narażone przez 3 mies., 12 mies. lub 18 mies. (szczury) lub 12 mies. (myszy) [15–17].

Długotrwałe narażenie drogą inhalacyjną na MEKO spowodowało rozwój nowotworów wątroby zarówno u samców, jak i u samic szczurów. Zaobserwowano znacznie zwiększoną częstość występowania raka i gruczolaków wątroby u samców szczurów przy stężeniach 270 mg/m³ lub 1346 mg/m³ w porównaniu z równoczesnymi kontrolami i historycznymi danymi kontrolnymi. U samic szczurów odnotowano również wzrost częstości występowania gruczolaka wątrobowokomórkowego, ale różnica w porównaniu z grupą kontrolną nie osiągnęła istotności statystycznej. U myszy zmiany w wątrobie pojawiły się z większą częstością u zwierząt narażanych na związek w stężeniu 1346 mg/m³ po 18 mies. narażenia. Zmiany te obejmowały zwiększoną częstość występowania gruczolaków i raków wątroby, głównie u samców myszy w porównaniu z równoczesnymi kontrolami. U samców myszy zaobserwowano wzrost indukcji guzów w wątrobie w grupie narażanej na stężenie 1346 mg/m³, w porównaniu z grupą kontrolną, i grupami narażanymi na stężenia 54 mg/m³ i 270 mg/m³. Wystąpił niewielki wzrost częstości występowania gruczolaka wątroby u samic z grupy 1346 mg/m³, jednak nie był statystycznie istotny.

Tabela 1. Zestawienie wyników badań mutagenności i genotoksyczności oksymu butan-2-onu (MEKO) [1,14,20,21,25–30]
Table 1. Summary of the results of butan-2-one oxime (MEKO) mutagenicity and genotoxicity tests [1,14,20,21,25–30]

Test/Dawka Test/Dose	Układ badawczy Research system	Wyniki Results			Piśmiennictwo Bibliography
		mutagenność mutagenicity		cytotoksyczność cytotoxicity	
		bez aktywacji metabolicznej without metabolic activation	z aktywacją metaboliczną with metabolic activation		
Test na bakteriach / Test on bacteria (test Ames / Ames test)					
0, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0 mg/płytki / mg/plate	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	–	–	+	14
0, 5–10 000 µg/płytki / µg/plate	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	–	–	–	14
0, 100–10 000 µg/płytki / µg/plate	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA97	–	–	–	20
0, 100–10 000 µg/płytki / µg/plate	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	–	–	–	25, 27
dawki nie podano / dose not given	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, 2637, <i>Escherichia coli</i> WP2uvr	–	–	–	28
Test na komórkach ssaków <i>in vitro</i> / Mammalian cell tests <i>in vitro</i>					
mutacje genowe / gene mutations 1,7–6,5 µl/ml	komórki chłoniaka myszy / mouse lymphoma cells L5178Y	+	–	+	14, 26, 27
		w obecności cytotoksyczności / in the presence of cytotoxicity		wzrost zależny od dawki / dose- dependent increase	
naprawa DNA do / DNA repair to 5000 pg/ml	hodowle hepatocytów szczura F344 / rat hepatocyte cultures F344	–	b.d. / n.d.	+	1
wymiana SCE do / exchange of SCE to 500 µg/ml (–S9); 5000 µg/ml (+S9)	komórki CHO chomika chińskiego / Chinese hamster CHO cells	–	–	b.d. / n.d.	14, 20
aberracje chromosomowe do / chromosomal aberrations to 5000 µg/ml (+/-S9)	komórki CHO chomika chińskiego / Chinese hamster CHO cells	–	–	b.d. / n.d.	14, 20
Badanie <i>in vivo</i> / <i>In vivo</i> test					
aberracje chromosomowe / chromosomal aberrations 300, 600, 1200 mg/kg mc./ dzień / mg/kg b.w./day	komórki szpiku kostnego szczura Sprague-Dawley / rat Sprague- Dawley bone marrow cells ♂, ♀, N = 5/dawka/dose podanie <i>per os</i> zgłębnikiem / administered by gavage okres obserwacji 6, 24, 48 godz. / observation period 6, 24, 48 h	–	–	–	1
test mikrojądrowy / micronucleus test 0; 625; 1250; 2500; 5000; 10 000 ppm (dawki nominalne / nominal doses) (samce / males do/to 1330 mg/kg mc. / mg/kg b.w.; females do/to 3170 mg/kg mc. / mg/kg b.w.)	komórki szpiku kostnego / bone marrow cells myszy B6C3F1 (N = 5/dawka/pleć) / mouse B6C3F1 (N = 5/dose/sex) podanie z wodą do picia / administered with drinking water czas ekspozycji: 13 tygodni / time of exposure: 13 weeks	–	–	–	20

Tabela 1. Zestawienie wyników badań mutagenności i genotoksyczności oksymu butan-2-onu (MEKO) [1,14,20,21,25–30] – cd.
Table 1. Summary of the results of butan-2-one oxime (MEKO) mutagenicity and genotoxicity tests [1,14,20,21,25–30] – cont.

Test/Dawka Test/Dose	Układ badawczy Research system	Wyniki Results			Piśmiennictwo Bibliography
		mutagenność mutagenicity		cytotoksyczność cytotoxicity	
		bez aktywacji metabolicznej without metabolic activation	z aktywacją metaboliczną with metabolic activation		
Badanie <i>in vivo</i> / <i>In vivo</i> test addukty z DNA i RNA / / adducts with DNA and RNA komórki wątroby szczura Wistar samce, samice / Wistar rat liver cells males, females 375–1000 ppm (1350–3600 mg/m ³) / 6 h	szczury, inhalacja	– brak adduktów z DNA / no adducts with DNA	+ indukcja adduktów z RNA wątroby szczura / induction of adducts from rat liver RNA		1, 29, 30

b.d. / n.d. – brak danych / no data.

+ Wynik dodatni / positive result, – wynik ujemny / negative result.

Tabela 2. Skutki nierakotwórczego działania oksym butan-2-onu (MEKO) na wątrobę u samców i samic szczurów [16–18]
Table 2. Results of non-carcinogenic effects of butan-2-one oxime (MEKO) in male and female rats [16–18]

Skutki nierakotwórcze Non-carcinogenic effect	Szczury Rats [n]							
	0 mg/m ³ MEKO		54 mg/m ³ MEKO		270 mg/m ³ MEKO		1346 mg/m ³ MEKO	
	samce males (N = 50)	samice females (N = 50)	samce males (N = 51)	samice females (N = 50)	samce males (N = 51)	samice females (N = 50)	samce males (N = 51)	samice females (N = 51)
Guzy / Tumors	1	2	4	2	7	4	21	2
Cysty / Cysts	0	0	1	0	1	0	14	0
Ogniska bazofilne / Basophilic foci	22	37	23	29	25	40	35	46
Gąbczastość wątroby / Hepatic spongiosis	12	1	18	0	20	0	25	4
Wakuolizacja / Vacuolization (po 18 mies. badania / / after 18 months of the study)	14	9	12	12	22	12	22	15

Po zakończeniu badania zaobserwowano zwiększoną częstość występowania gruczolakowłókników gruczołu sutkowego u samców i samic szczurów w porównaniu z równoczesnymi kontrolami w największym stężeniu (odpowiednio, 9/51 vs 1,17/50 w grupie kontrolnej i 17/50 vs 23/50 w grupie kontrolnej). Statystyczne testy istotności wykazały znamieną odpowiedź w największym stężeniu tylko u samców ($p < 0,05$) [15–17].

W tabeli 3 przedstawiono zależność częstości występowania nowotworów wątroby u samców i samic szczurów oraz myszy w wyniku narażenia na MEKO.

Przeprowadzono modelowanie dawki wyznaczającej dla skutków działania rakotwórczego i nierakotwórczego

MEKO na wątrobę. Na podstawie danych dotyczących częstości występowania nowotworów wątroby przeprowadzono modelowanie dawki referencyjnej (BMD10) przy poziomie ryzyka 10%. Żeby dopasować dane eksperymentalne, zastosowano oprogramowanie dawki referencyjnej, w wersji 2.2 USA EPA. Krzywą dopasowano przy użyciu metody największej wiarygodności. Model liniowy kwantowy najlepiej spośród dostępnych modeli dopasował dane eksperymentalne. W ekstrapolacji liniowej oszacowano następującą zależność ryzyka raka wątroby dla 40-letniego narażenia zawodowego od stężenia [3]:

- 7,0 mg/m³ dla ryzyka 4:1000 (0,4%)
- 0,7 mg/m³ dla ryzyka 4:10 000 (0,04%)
- 0,07 mg/m³ dla ryzyka 4:100 000 (0,004%).

Tabela 3. Częstość zmian nowotworowych u szczurów F344 i myszy CD-1 narażonych na oksym butan-2-onu (MEKO) [1,16–18]
Table 3. The incidence of neoplastic changes in F344 rats and CD-1 mice exposed to butan-2-one oxime (MEKO) [1,16–18]

Nowotwór Cancer	Częstość zmian nowotworowych Incidence of neoplastic changes [n/total n (%)]							
	0 mg/m ³ MEKO		54 mg/m ³ MEKO		270 mg/m ³ MEKO		1346 mg/m ³ MEKO	
	samece males	samice females	samece males	samice females	samece males	samice females	samece males	samice females
Gruczolaki wątroby / Liver adenoma								
szczury / rats	0/50 (0)	0/50 (0)	2/51 (3,9)	0/50 (0)	5/51 (9,8)*	2/50 (4,0)	18**/51 (35,3)	4/50 (7,8)
myszy / mice	4/50 (8)	0/50 (0)	11/50 (22)	0/50 (0)	10/50 (20)*	1/50 (2)	11/50 (22)	3/50 (6)
Raki wątroby / Liver carcinoma								
szczury / rats	0/50 (0)	0/50 (0)	0/51 (0)	0/50 (0)	1/51 (2,0)	0/50 (0)	12**/51 (23,5)	0/50 (0)
myszy / mice	2/50 (4)	0/50 (0)	2/50 (4)	0/50 (0)	1/50 (2)	0/50 (0)	10/50 (20)	0/50 (0)

* Średnia wartość istotnie różna od równoczesnej kontroli przy $p \leq 0,05$ / Mean value significantly different from concurrent control at $p \leq 0.05$.

** Średnia wartość istotnie różna od kontroli przy $p \leq 0,01$ / Mean value significantly different from the control at $p \leq 0.01$.

Chociaż zwiększoną częstość występowania nowotworów odnotowano również w gruczole sutkowym, uznano, że – w przeciwieństwie do wątroby – genotoksyczny mechanizm działania jest w nim mało prawdopodobny. W związku z tym dla niegenotoksycznego mechanizmu działania liniowa ocena ryzyka nie jest odpowiednia. Modelowanie wykazało, że powstawanie guzów w wątrobie samców było najwrażliwszym parametrem dla nierakotwórczych skutków działania na wątrobę. Oszacowane ryzyko wystąpienia nierakotwórczych skutków działania MEKO w wątrobie w wyniku 40-letniego narażenia zawodowego wynosiło, odpowiednio, 4:1000 dla narażenia w stężeniu 7,7 mg/m³ (2,1 ppm), 4:10 000 dla narażenia w stężeniu 1,4 mg/m³ (0,4 ppm) i 4:100 000 w stężeniu 0,7 mg/m³.

Według OSHA oszacowane ryzyko jednostkowe gruczolaka wątroby wynosi $2,53 \times 10^{-6}$, a raka wątroby $1,13 \times 10^{-6}$. Obliczone ryzyko zawodowe wystąpienia raka wątroby w wyniku 40-letniego narażenia na MEKO w stężeniu 4,4 mg/m³ wynosi 4:1000 [3].

Dyskusja

Mimo że w piśmiennictwie nie znaleziono nowych dowodów uzasadniających zmianę ustalonej kategorii rakotwórczości MEKO z kategorii 2 do kategorii 1B i nie są dostępne żadne solidne dane epidemiologiczne, które wykazałyby, że związek ten wywołuje raka u ludzi, Komitet ds. Oceny Ryzyka (Risk Assessment Committee – RAC), działający przy Europejskiej Agencji ds. Chemikaliów (European Chemical Agency – ECHA) dokonał ponownej oceny działania rakotwórczego MEKO w odniesieniu do najbardziej aktualnych, odpowiednich

kryteriów zawartych w rozporządzeniu CLP. Komitet ds. Oceny Ryzyka wziął pod uwagę siłę i ciężar dowodu zgodnie z kryteriami dla kategorii 1B i przyjął, że brak wystarczających danych dla ludzi nie wyklucza, że MEKO może powodować raka u ludzi.

Dowody rakotwórczości MEKO oceniono w odniesieniu do ich znaczenia dla człowieka. Jak pokazano, największe domniemanie, że MEKO jest rakotwórczy dla człowieka, budzą wyraźne dowody uzyskane w badaniach na zwierzętach, dobrze udokumentowanych i przeprowadzonych zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej według międzynarodowych wytycznych. Najmocniejsze dowody rakotwórczości MEKO uzyskano w warunkach narażenia inhalacyjnego u szczurów F344 i myszy CD-1. Oksym butan-2-onu powodował guzy wątroby (gruczolaki i raki) u obu gatunków przy wszystkich badanych stężeniach [1,15–17]. Zależność dawka–odpowiedź dla indukcji nowotworu w wątrobie szczurów i myszy zaobserwowano u obu płci. Najniższy poziom narażenia powodujący znaczny wzrost częstości guzów wątroby, przy którym u 9,8% samców szczurów rozwinął się gruczolak wątrobowokomórkowy, wynosił 270 mg/m³. Statystycznie istotny wzrost częstości występowania obserwowano przy stężeniu 270 mg/m³ lub 1346 mg/m³ dla gruczolaków wątroby u samców szczurów i przy 1346 mg/m³ dla raka wątroby u samców szczurów i myszy. Zwiększona częstość występowania gruczolaków wątroby wystąpiła również u samic szczurów oraz myszy przy stężeniach 270 mg/m³ i 1346 mg/m³, choć nie była ona istotna statystycznie.

Wystąpiły też pewne oznaki odpowiedzi wielostronnej. Obserwowano kombinację nowotworów niezłośliwych

i złośliwych w 2 niezależnych badaniach przeprowadzonych w różnym czasie w różnych laboratoriach według innych protokołów [1,15–17].

Narażenie na MEKO miało miejsce drogą inhalacyjną, całym ciałem – jest to odpowiednia fizjologiczna droga narażenia, uważana za bezpośrednio mającą związek z narażeniem zawodowym człowieka. Nie ma sugestii o wyjątkowym szlaku metabolicznym MEKO u gryzoni. Guzy znalezione u szczurów i myszy pozostają istotne dla ludzi. W raporcie zharmonizowanej klasyfikacji i oznakowania (Harmonised classification and labelling – CLH) [1] rozważono możliwość wystąpienia omyłkowego skutku nadmiernej toksyczności przy dawkach badawczych: najwyższa dawka w teście rakotwórczości powinna idealnie odzwierciedlać maksymalną tolerowaną dawkę (MTD). Nadmierna toksyczność przekraczająca MTD może wpływać na odpowiedź rakotwórczą. Na przykład działanie toksyczne prowadzące do martwicy z towarzyszącym rozrostem regeneracyjnym może prowadzić do rozwoju nowotworu jako wtórna konsekwencja niezwiązana z wewnętrznym potencjałem rakotwórczym samej substancji. W odniesieniu do całego zwierzęcia nie było oznak nadmiernej toksyczności. W badaniach przeprowadzonych na myszach i szczurach nie stwierdzono związanego z narażeniem zwiększenia liczby zgonów. Masy ciała zwierząt pozostawały porównywalne z kontrolą przez całe badanie.

Czy działanie toksyczne MEKO na wątrobę było głównym prekursorem nowotworów wątroby? U szczurów i myszy wystąpiły oznaki działania hepatotoksycznego, manifestujące się torbielowatym zwyrodnieniem wątroby, co w większym lub mniejszym stopniu mogło wpływać na reakcję rakotwórczą. Zarówno u samców, jak i u samic zaobserwowano przebarwienia i nieznaczny wzrost częstości występowania wakuoli wewnątrzcytoplazmatycznych oraz wzrost częstości występowania ognisk zasadochłonnych w hepatocytach. Pomimo zmian w wątrobie zarówno u samców, jak i u samic, wyraźny wzrost gruczolaka i raka zaobserwowano tylko u samców. Nie było dowodów na martwicę, przerost regeneracyjny lub ciężką toksyczność wątroby u samców i samic szczurów. U myszy, zarówno u samców, jak i u samic w grupie o największej ekspozycji, zaobserwowano przerost śródzrakowych komórek wątrobowych i zapalenie ziarniniakowe. Niewielki wzrost częstości występowania martwicy zaobserwowano tylko u samic myszy z grupy narażonej na największe stężenie. Zwiększona częstość występowania gruczolaków wątroby, która wystąpiła również u samic szczurów i myszy przy

stężeniach 270 mg/m³ lub 1346 mg/m³, ale nie była istotna statystycznie, wskazuje na ograniczone dowody na raka [15–17].

Istnieją ograniczone dowody sugerujące sposób działania MEKO, który wiązał się z cytotoksycznością, w przypadku zwiększonej częstości występowania guzów wątroby obserwowanej u szczurów i myszy. Nie zidentyfikowano żadnego innego swoistego mechanizmu działania, a zatem w raporcie CLH uznano domyślnie obserwowane nowotwory za istotne dla ludzi [1].

Uznaje się, że genotoksyczność odgrywa główną rolę w procesie rozwoju nowotworu. Istnieją jednak mocne dowody sugerujące, że MEKO nie jest genotoksyczny. Badania genotoksyczności MEKO, w tym na komórkach ssaków i *in vivo* na zwierzętach, okazały się ujemne. Poza pojedynczymi obserwacjami widocznego, związanego z narażeniem wzrostu częstości mutacji, indukowanego w jednym testowym szczepie *S. typhimurium* oraz w teście na komórkach chłoniaka myszy, badania wykazują, że MEKO nie jest genotoksyczny [1,14,20,24–26]. Jest to argument, że klasyfikacja MEKO do kategorii 2 rakotwórczości pozostaje właściwa.

Ocenę stopnia niepewności działania rakotwórczego MEKO u ludzi podsumowano w tabeli 4.

Tylko w przypadku 3 z 11 rozpatrywanych czynników można stwierdzić, że budzą one duże obawy o działanie rakotwórcze MEKO u ludzi.

Szczególnie istotne, spełniające funkcje pomocniczą w ocenie rakotwórczości MEKO mogą być doświadczenia i obserwacje wieloletnich formulatorów mieszanin go zawierających, ich dystrybutorów i dalszych użytkowników, wynikające ze stosowania tej substancji zarówno w działalności zawodowej, jak i przez konsumentów. Jakie stanowisko zajmują przedsiębiorstwa, które od wielu lat są producentami szeroko stosowanych w budownictwie farb alkidowych zawierających MEKO?

Oksym butan-2-onu jest stosowany od dziesięcioleci przeciw kożuszeniu w materiałach powłokowych. Typowe stężenia MEKO w konwencjonalnych farbach alkidowych wynoszą 0,3–2%, w zależności od rodzaju żywicy i wymaganej szybkości schnięcia, aby zapobiec utwardzeniu farby w pojemniku. Według niemieckiej firmy CD-Color GmbH MEKO, ze względu na wysoką prężność pary, szybko odparowuje w trakcie aplikacji i po niej, dzięki czemu nie opóźnia znacząco schnięcia lakieru. Z wielu badań emisji wynika, że w fazie użytkowania z materiału powłokowego nie uwalnia się MEKO, dlatego ryzyko dla użytkownika związane z jego stosowaniem w pomieszczeniach wewnętrznych jest bardzo

Tabela 4. Ocena stopnia niepewności działania rakotwórczego oksymu butan-2-onu (MEKO) u ludzi
Table 4. Assessment of the level of concern about the carcinogenic effect of butan-2-one oxime (MEKO) in humans

CLP kryterium CLP criterion	Wynik Result	Działanie rakotwórcze MEKO u ludzi Carcinogenic effect of MEKO in humans
a) Rodzaj nowotworu i jego podstawowe występowanie / Tumour type and background incidence	łagodne i złośliwe nowotwory wątroby, mające znaczenie dla ludzi / benign and malignant liver tumors of importance to humans	duże obawy / high concern kategoria 1B / category 1B
b) Reakcje wielostronne / Multi-site responses	kombinacja gruczolaków i raków wątroby oraz zwiększona częstość występowania łagodnego gruczolakowłóknaka gruczołu sutkowego / combination of liver adenomas and carcinomas and increased incidence of benign fibroadenoma of the mammary gland	wystarczające dowody na działanie rakotwórcze w wątrobie / clear evidence in liver ograniczone dowody w gruczole sutkowym / insufficient evidence in mammary gland przynajmniej kategoria 2 / at least category 2
c) Przeobrażanie zmian w złośliwe / Progression of lesions to malignancy	nowotwory złośliwe wątroby / malignant tumors of the liver	duże obawy / high concern kategoria 1b / category 1B
d) Skrócony okres utajenia nowotworu / Reduced tumour latency	brak dowodów / no evidence	brak dowodów / no evidence
e) Czy reakcje występują u jednej czy u obojga płci / Whether responses are in single or both sexes	gruczolaki i raki wątroby u obu gatunków, przy wszystkich badanych stężeniach / liver adenomas and cancers in both species, at all concentrations tested	silne dowody u samców, dowody u samic ograniczone / strong evidence in males, limited evidence in females przynajmniej kategoria 2 / at least category 2
f) Czy reakcje występują u jednego gatunku czy u kilku gatunków / Whether responses are in a single species or several species	dwa gatunki (szczury i myszy / two species (rats and mice)	silne dowody u szczurów i myszy / strong evidence in rats and mice duże obawy / high concern kategoria 1b / category 1B
g) Podobieństwo w budowie chemicznej do substancji, w przypadku których istnieją odpowiednie dowody na rakotwórczość / Structural similarity to a substance(s) for which there is good evidence of carcinogenicity	nie zidentyfikowano żadnych strukturalnie podobnych czynników rakotwórczych / no structurally similar carcinogens have been identified	brak dowodów / no evidence
h) Drogi narażenia / Routes of exposure	narażenie inhalacyjne / inhalation exposure	przynajmniej kategoria 2 / at least category 2
i) Porównanie przyswajania, rozmieszczania, przemiany materii i wydalania pomiędzy badanymi zwierzętami i ludźmi / Comparison of absorption, distribution, metabolism and excretion between test animals and humans	brak oznak istotnych różnic gatunkowych w toksykokinetyce / there are no signs of significant species differences in toxicokinetics	przynajmniej kategoria 2 / at least category 2
j) Możliwość wystąpienia omyłkowego skutku nadmiernej toksyczności przy dawkach badawczych / The possibility of a confounding effect of excessive toxicity at test doses	brak nadmiernej toksyczności / no excessive toxicity	przynajmniej kategoria 2 / at least category 2
k) Tryb działania i jego znaczenie dla ludzi, takie jak cytotoksyczność ze stymulacją wzrostu, proces wywołania mitozy, immunosupresja, mutagenność / Mode of action and its relevance for humans, such as cytotoxicity with growth stimulation, mitogenesis, immunosuppression, mutagenicity	cytotoksyczność wątroby mogła być czynnikiem prowadzącym do raka wątroby, jednak mechanizm działania MEKO nie został ustalony / liver cytotoxicity may have been a contributing factor to liver cancer, but the mechanism of action of MEKO has not been established	przynajmniej kategoria 2 / at least category 2

CLP – rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin / Regulation (EC) No. 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures [4].

małe. W przeglądzie własnych danych firma CD-Color GmbH nie stwierdziła żadnych zgłoszonych incydentów związanych z powszechnym użytkowaniem farb dekoracyjnych i przemysłowych zawierających MEKO ani narażenia konsumentów. Zwykli konsumenci są narażeni na małe, bliskie zeru ilości MEKO, a przeciętny użytkownik w społeczeństwie zużywa ok. 5 l farby, czyli 25–100 g, być może raz w roku [32].

Firma Iberica de Componentes Quimicos SL od kilkudziesięciu lat wprowadza do obrotu w przemyśle powłok oraz żywic produkty zawierające MEKO i nie obserwuje problemów zdrowotnych wynikających z narażenia na tę substancję u osób zatrudnionych przy pracy z tymi produktami ani ich użytkownikami. Maksymalne stężenie w powłokach wynosi 0,5% i do tej pory nie zgłoszono żadnych problemów zdrowotnych

związanych z MEKO. Według tego producenta bardzo niskie poziomy narażenia w rzeczywistych zastosowaniach stanowią zatem więcej niż wystarczający dowód na to, że badania na zwierzętach nie są reprezentatywne. Podobne stanowisko przedstawiła firma Sensopolis Ltd. z Wielkiej Brytanii [32].

Nie ma obserwacji wynikających ze stosowania MEKO w Polsce. Należy jednak podkreślić, że według Centralnego Rejestru Chorób Zawodowych w Polsce w latach 2012–2021 nie stwierdzono przypadków chorób zawodowych spowodowanych narażeniem na MEKO.

Skutki prawne dla przedsiębiorstw wynikające ze zmiany klasyfikacji MEKO pod względem działania rakotwórczego z kategorii 2 do kategorii 1B

Oksym butan-2-onu, jako substancja zaklasyfikowana do kategorii rakotwórczości 1B, podlega ograniczeniu w ramach rozporządzenia REACH, które obejmuje restrykcjami jego wprowadzanie do powszechnej sprzedaży. Biorąc pod uwagę zastosowanie MEKO w farbach, powłokach ochronnych, żywicach epoksydowych i poliuretanach, środkach do konserwacji drewna, produktach budowlanych itd., może to okazać się szczególnie dotkliwe dla przedsiębiorców [33]. Ograniczenie wymienione w pozycji nr 28 załącznika XVII do rozporządzenia REACH dotyczy m.in. substancji, które są zaklasyfikowane jako rakotwórcze kategorii 1B, i mówi, że substancje te nie są wprowadzane do obrotu lub stosowane jako składniki innych substancji lub w mieszaninach, gdy indywidualne stężenie w substancji lub mieszaninie jest równe lub większe niż odpowiednie swoiste stężenie graniczne określone w części 3 załącznika VI do rozporządzenia (WE) nr 1272/2008, lub odpowiedniego ogólnego stężenia granicznego określonego w części 3 załącznika I do rozporządzenia (WE) nr 1272/2008.

W przypadku MEKO stężenie to wynosi 0,1%. Przed wprowadzeniem do obrotu dostawcy dopilnowują, aby opakowania takich substancji i mieszanin były opatrzone widocznym, czytelnym i nieusuwalnym napisem o treści: „Produkt przeznaczony wyłącznie do użytku zawodowego”. Odstępstwo obejmuje jedynie farby przeznaczone dla artystów [4].

Europejska Agencja ds. Chemikaliów może wszcząć procedurę stosowania ograniczeń, może również zaproponować wprowadzenie ograniczenia w odniesieniu do wyrobów, które zawierają substancje, a przemysł musi przestrzegać ograniczenia po jego przyjęciu. Dotyczy

to wszystkich podmiotów, w tym producentów, importerów, dystrybutorów, dalszych użytkowników i sprzedawców detalicznych. Zgodnie z art. 57 rozporządzenia REACH substancje spełniające kryteria klasyfikacji w klasie zagrożenia „rakotwórczość” kategorii 1B mogą podlegać włączeniu do załącznika XIV, zgodnie z procedurą udzielania zezwoleń, ustanowioną w rozporządzeniu REACH [33]. Proces uzyskiwania zezwoleń ma zapewnić, że substancje stanowiące bardzo duże zagrożenie (*substances of very high concern* – SVHC) są stopniowo zastępowane mniej niebezpiecznymi substancjami lub technologiami, o ile odpowiednie rozwiązania alternatywne są dostępne i możliwe do zastosowania z ekonomicznego i technicznego punktu widzenia.

Należy zauważyć, że przedsiębiorstwa, które od wielu lat stosują MEKO, jak Berceo Chemicals SL z Hiszpanii w swoich komentarzach do opinii RAC proponującej zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie oksymu butan-2-onu na poziomie UE zwróciły uwagę na to, że obecnie nie jest dostępny żaden inny produkt zapobiegający kożuszeniu farb, tak dobrze przebadany i z tak dobrze przeprowadzoną oceną ryzyka, przeznaczony do użytku ogólnego. Nie ma praktycznego zamiennika MEKO mimo prób znalezienia go w ostatnich latach [32].

Do tej pory w Polsce nie było obowiązku przekazywania danych o narażeniu na MEKO do Centralnego Rejestru Danych o Narażeniu na Czynniki Rakotwórcze i Mutagenne w pracy, prowadzonego przez Instytut Medycyny Pracy zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 24 lipca 2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy [34]. Zgodnie z tym rozporządzeniem substancje chemiczne i ich mieszaniny o działaniu rakotwórczym lub mutagennym stanowią:

- 1) substancje chemiczne spełniające kryteria klasyfikacji jako rakotwórcze lub mutagenne kategorii 1A lub 1B zgodnie z rozporządzeniem Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającym i uchylającym dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 (Dz. Urz. UE L 353 z 31.12.2008, str. 1);
- 2) mieszaniny zawierające substancje wymienione w pkt 1 w stężeniach powodujących spełnienie kryteriów klasyfikacji mieszaniny jako rakotwórczej lub mutagennej kategorii 1A lub 1B zgodnie z rozporządzeniem, o którym mowa w pkt 1.

Tabela 5. Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń oksym butan-2-onu (MEKO) w środowisku pracy [38–40]
Table 5. Occupational exposure limits (OEL values) for butan-2-one oxime (MEKO) in working environment [38–40]

Państwo Country	Dopuszczalny poziom narażenia zawodowego Occupational exposure limits	
	TWA-8h	STEL
Dania / Denmark	25 ppm	n.u. / n.e.
Niemcy (AGS) / Germany (AGS)	1 mg/m ³ (0,3 ppm) skóra / skin	8 mg/m ³ (2,4 ppm) 15 min
Irlandia / Ireland	10 mg/m ³ (3 ppm)	33 mg/m ³ (10 ppm) 15 min
AIHA USA / AIHA USA	10 ppm	n.u. / n.e.

AGS (Ausschuss für Gefahrstoffe) – Komitet ds. Substancji Niebezpiecznych / Dangerous Substances Committee, AIHA – Amerykańskie Towarzystwo Higienistów Przemysłowych / American Industrial Hygien Association.

STEL – krótkoterminowa wartość stężenia / short term exposure limit value, TWA-8h – średnie stężenie ważone czasem / threshold weighted average.

n.u. / n.e. – nie ustalono / not established.

Skóra / Skin – substancja wchłaniająca się przez skórę / substance absorbed through the skin.

Zaklasyfikowanie MEKO do kategorii 1B będzie skutkowało nowymi obowiązkami dla pracodawcy, takimi jak:

- prowadzenie rejestru prac, których wykonywanie powoduje konieczność pozostawania w kontakcie z MEKO lub jego mieszaninami zawierającymi MEKO w stężeniu $\geq 0,1\%$;
- prowadzenie rejestru pracowników narażonych na MEKO.

Pracodawca zatrudniający pracownika w warunkach narażenia na MEKO jest obowiązany wykonywać jego pomiary w trybie i z częstotliwością określonymi w przepisach wydanych na podstawie art. 227 § 2 Ustawy z dnia 26 czerwca 1974 r. – Kodeks pracy [35]. W przypadku występowania czynnika o działaniu rakotwórczym lub mutagennym badania i pomiary wykonuje się z inną częstotliwością niż dla pozostałych substancji, niezaklasyfikowanych pod kątem działania rakotwórczego, tj. co najmniej raz na 6 miesięcy, jeżeli podczas ostatniego badania i pomiaru stwierdzono stężenie czynnika o działaniu rakotwórczym lub mutagennym powyżej 0,1 do 0,5 wartości NDS i co najmniej raz na 3 mies. jeżeli podczas ostatniego badania i pomiaru stwierdzono stężenie czynnika o działaniu rakotwórczym lub mutagennym $>0,5$ wartości NDS. Częstotliwość zależy więc od wartości NDS badanej substancji [36]. Normatywy higieniczne w środowisku pracy dla MEKO ustalono w Niemczech, Danii i Irlandii, w Polsce dotychczas nie ustalono wartości NDS tej substancji [37,38].

W Stanach Zjednoczonych American Industrial Association zaleca wartość WEEL (*workplace environmental exposure levels*) odpowiadającą wartości NDS na poziomie 10 ppm, tj. 36,2 mg/m³ [39]. Niemcy rekomendują także wartość dopuszczalną w powietrzu atmosferycznym dla

MEKO na poziomie 0,02 mg/m³ [40]. Wartości najwyższych dopuszczalnych stężeń zestawiono w tabeli 5.

WNIOSKI

Dziewiętnastego maja 2020 r., rozporządzeniem delegowanym Komisji UE 2020/1182 [5] bezpośrednio stosowanym we wszystkich państwach członkowskich wprowadzono zharmonizowaną klasyfikację i oznakowanie pod względem działania rakotwórczego MEKO do kategorii 1B. Rozporządzenie stosuje się od 1 marca 2022 r.

Indukcja nowotworów, tj. istnienie związku pomiędzy stężeniem MEKO a zwiększoną częstotliwością występowania nowotworów złośliwych wątroby, charakter i ich znaczenie dla ludzi oraz wrażliwość 2 badanych gatunków u obu płci – wszystkie te czynniki wspierają jego klasyfikację do kategorii rakotwórczości 1B.

Dotrzymanywanie dopuszczalnych stężeń w powietrzu środowiska pracy na poziomie ok. 0,7 mg/m³ powinno zabezpieczyć pracowników przed działaniem rakotwórczym MEKO. Ryzyko dodatkowego raka wątroby w przypadku 40-letniego narażenia zawodowego na MEKO w tym stężeniu wynosi 4:100 000. Jest to ryzyko akceptowalne zgodnie z przyjętymi w Polsce ustaleniami.

W badaniach genotoksyczności, w tym na komórkach ssaków i *in vivo* na zwierzętach, MEKO okazał się negatywny. Jest to argument, że jego klasyfikacja do kategorii 2 rakotwórczości pozostaje właściwa.

Ze zmiany kategorii rakotwórczości MEKO z kategorii 2 do kategorii 1B wynikają skutki prawne dla przedsiębiorstw, jak dotrzymanie warunków ograniczenia REACH, które obejmuje restrykcjami wprowadzanie MEKO do powszechnej sprzedaży, prowadzenie rejestru prac, których wykonywanie powoduje konieczność

pozostawiania w kontakcie z MEKO lub mieszaninami zawierającymi go w stężeniu $\geq 0,1\%$, a także prowadzenie rejestru pracowników na niego narażonych.

Zgodnie z opinią dostawców MEKO obecnie nie ma praktycznego, tak dobrze zbadanego jego zamiennika, mimo prób znalezienia go w ostatnich latach. Powinien zostać wprowadzony dłuższy okres przejściowy na stosowanie kategorii rakotwórczości 1B MEKO w praktyce.

Niezbędne jest ustalenie wartości NDS dla MEKO, ponieważ brak prawnie obowiązującej dopuszczalnej wartości substancji w powietrzu środowiska pracy powoduje, że nie przeprowadza się monitoringu środowiska pracy, a tym samym oceny ryzyka zdrowotnego dla pracownika, będącego rezultatem ekspozycji. Jednocześnie nie jest też znana skala problemu narażenia zawodowego na MEKO w Polsce (liczba narażonych, wielkość narażenia, skutki zdrowotne).

PIŚMIENNICTWO

1. Federal Institute for Occupational Safety and Health (BAuA) [Internet]. Dortmund: Federal Office for Chemicals; 2017 [cited 2022 June 9]. CLH Report for Butanone Oxime. Available from: <https://echa.europa.eu/documents/10162/973f4ac8-f234-6de5-dd48-0d5d6ac202c9>.
2. Committee for Risk Assessment (RAC) [Internet]. Helsinki: European Chemicals Agency; 2018 [cited 2022 June 9]. Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of butanone oxime; ethyl methyl ketoxime; ethyl methyl ketone oxime z dnia 14.09.2018 r. Available from: <https://echa.europa.eu/documents/10162/fa6a43c5-6b2a-4c20-023b-801846dd19e3>.
3. Ausschuss für Gefahrstoffe (AGS) [Internet]. Dortmund: Geschäftsführung-BAuA; 2013 [cited 2022 June 9]. Begründung zu Butanonoxim in TRGS 900. s. 1–46. Available from: <https://www.bgbau.de/fileadmin/Gisbau/900-butanonoxim.pdf>. German.
4. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniającego i uchylającego dyrektywę 67/648/EWG i 1999/45/WE oraz zmieniającego rozporządzenie WE nr 1907/2006. DzUrz UE L 353 z 2008 r. z późn. zm.
5. Rozporządzenie Delegowane Komisji (UE) 2020/1182 z dnia 19 maja 2020 r. zmieniające, w celu dostosowania do postępu naukowo-technicznego, część 3 załącznika VI do rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1272/2008 w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin. DzUrz UE L 261 z 11.08.2020.
6. International Agency for Research on Cancer (IARC) [Internet]. Lyon: World Health Organization Agency; 1989 [cited 2022 June 9]. Some Organic Solvents, Resin Monomers and Related Compounds, Pigments and Occupational Exposures in Paint Manufacture and Painting. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 47:1–442. PMID:2636273. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK524828/pdf/Bookshelf_NBK524828.pdf.
7. International Agency for Research on Cancer (IARC) [Internet]. Lyon: World Health Organization Agency; 2010 [cited 2022 June 9]. Painting, firefighting, and shiftwork. IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum, 98: 1–804. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326814/pdf/Bookshelf_NBK326814.pdf.
8. International Agency for Research on Cancer (IARC) [Internet]. Lyon: World Health Organization Agency; 2012 [cited 2022 June 9]. Chemical agents and related occupations volume 100 F. A review of human carcinogens. Occupational Exposure as a Painter. s. 509–539. Available from: <https://monographs.iarc.who.int/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-35.pdf>.
9. Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) [Internet]. The German Institute; 2012 [cited 2022 June 9]. Available from: https://www.dguv.de/medien/ifa/en/fac/reach/mega_auswertungen/butanonoxim_en.pdf.
10. American Industrial Hygiene Association (AIHA). American Industrial Hygiene Association Workplace Environmental Exposure Level Guide. Fairfax VA, USA, 1990.
11. Environment Canada, Health Canada [Internet]. Ottawa: Government Canada Center; 2010 [cited 2022 June 9]. Screening Assessment for the Challenge. 2-Butanone, oxime (Butanone oxime). Available from: https://www.ec.gc.ca/ese-ees/32AD1FD8-68E2-4782-AFB3-A198A23AF330/batch7_96-29-7_en.pdf.
12. United States Environmental Protection Agency (EPA) [Internet]. Washington: The Agency; 2001 [cited 2022 June 9]. Wall Paint Exposure Assessment Model (WPEM). Available from: <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/wall-paint-exposure-assessment-model-wpem>.
13. Federal Institute for Occupational Safety and Health (BAuA) [Internet]. Dortmund: Federal Office for Chemicals; 2014 [cited 2022 June 9]. Substance evaluation report Butanone Oxime (MEKO). Available from: https://echa.europa.eu/documents/10162/13628/sev_202_496_6_report_15338_en.pdf/2f03502e-c4f8-5498-b713-cbae02c9d5a1.
14. MAK-Collection for Occupational Health and Safety [Internet]. Berlin: MAK-Collection; 2013 [cited 2022 June 9].

- Part I, MAK Value Documentations. Butanone oxime. DFG, Deutsche Forschungsgemeinschaft. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/3527600418.mb9629e2413>.
15. Newton PE, Wooding WL, Bolte HF, Derelanko MD, Hardisty JF, Rinehart WE. A chronic inhalation/oncogenicity study of methylethylketoxime in rats and mice. *Inhal Toxicol.* 2001;13(12):1093–1116. <https://doi.org/10.1080/08958370152647636>.
 16. Rinehart WE. An Inhalation Oncogenicity Study of Methylethylketoxime in Rats and Mice. Part I – Mice. Study No. 89-8243M. Final Report (Abbreviated Copy – Individual Animal Data Removed) Industrial Health Foundation Inc. Pittsburgh Pennsylvania. 1993.
 17. Rinehart WE. An Inhalation Oncogenicity Study of Methylethylketoxime in Rats and Mice. Part II – Rats. Study No. 89-8243R. Final Report (Abbreviated Copy – Individual Animal Data Removed) Industrial Health Foundation Inc. Pittsburgh Pennsylvania 1994.
 18. Kiese M. Methemoglobinemia: A comprehensive treatise. CRC Press, Cleveland, Ohio. 1st Edition 1974;48–71.
 19. Janku SE, Faller TH, Dekant W, Csanády GA, Filser JG. Inhalation kinetics of methyl ethyl ketoxime in male and female rats: differentiation between three pathways. Abstract 237, *Toxicol Lett.* 2000;116(1):1,64–65.
 20. National Toxicology Program Toxicity Report Series Number 51. (NTP Report); 1999. NTP Technical Report on the Toxicity Studies of Methyl Ethyl Ketoxime (CAS No. 96-29-7) Administered in Drinking Water to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. Leo T. Burka, Ph.D., Study Scientist National Toxicology Program P.O. Box 12233. Research Triangle Park, NC 27709. July 1999 NIH Publication 99-3947. U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service National Institutes of Health.
 21. Fiala ES, Sodum RS, Hussain NS, Rivenson A, Dolan L. Secondary nitroalkanes: Induction of DNA repair in rat hepatocytes, activation by aryl sulfotransferase and hepatocarcinogenicity of 2-nitrobutane and 3-nitropentane in male F344 rats. *Toxicology.* 1995;99:89–97. [https://doi.org/10.1016/0300-483x\(94\)03004-1](https://doi.org/10.1016/0300-483x(94)03004-1).
 22. Hussain NS, Conaway CC, Guo N, Asaad W, Fiala ES. Oxidative DNA and RNA damage in rat liver due to acetoxime: Similarity to effects of 2-nitropropane. *Carcinogenesis.* 1990;11:1013–1016. <https://doi.org/10.1093/carcin/11.6.1013>.
 23. Mirvish SS, Salmasi S, Runge RG. Carcinogenicity Test of Acetoxime in MRC-Wistar Rats. *J Nat Canc Inst.* 1982;69(4):961–962.
 24. European Chemical Agency (ECHA) [Internet]. Helsinki: The Agency; 2022 [cited 2022 June 9]. Registration dossier Butanone oxime. Available from: <https://echa.europa.eu/pl/registration-dossier/-/registered-dossier/14908/1/2>.
 25. National Cancer Institute (NCI). Salmonella/mammalian-microsome plate incorporation mutagenesis assay (Ames Test). Test Article Code 83890. Microbiological Associates Inc, No. C40.501017, NTIS OTS 524715. 1985.
 26. National Cancer Institute (NCI). Mouse lymphoma mutagenesis assay. Microbiological Associates Inc, No. N01-CP-41004, NTIS OTS 524716. 1985.
 27. Rogers-Back AM, Lawlor TE, Cameron TP, Dunkel VC. Genotoxicity of six oxime compounds in the Salmonella/mammalian-microsome assay and mouse lymphoma TK+/-assay. *Mutation Research – Genet. Toxicol.* 1988;204:149-162. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(88\)90085-7](https://doi.org/10.1016/0165-1218(88)90085-7).
 28. Araki A, Takahashi F, Matsushima T. Mutagenicities of oxime compounds in *S. typhimurium* TA98, TA100, TA2637 and *E. coli* WP2uvrA/pKM101. *Mutat Res.* 1986;164:263. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(86\)90060-9](https://doi.org/10.1016/0165-1161(86)90060-9).
 29. Friedewald M, Filser J, Janku S, Derelanko M, Dekant W. RNA-Modifications after inhalation of Methyl Ethyl Ketoxime in rats. *The Toxicologist*, Oxford University Press 2001;60(1) SOT 40th annual meeting.
 30. Völkel W, Wolf N, Derelanko M, Dekant W. Slow oxidation of acetoxime and methylethyl ketoxime to the corresponding nitronates and hydroxy nitronates by liver microsomes from rats, mice and humans. *Toxicol Sci.* 1999;47:144–15. <https://doi.org/10.1093/toxsci/47.2.144>.
 31. Caro AA, Cederbaum AI, Stoyanovsky DA. Oxidation of the Ketoxime Acetoxime to Nitric Oxide by Oxygen Radical-Generating Systems. *Nitric Oxide: Biol. and Chem.* 2001;5(4):413–424. <https://doi.org/10.1006/niox.2001.0362>.
 32. Committee for Risk Assessment (RAC) [Internet]. Helsinki: European Chemicals Agency; 2018 [cited 2022 June 9]. Response to comments document (RCOM) to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at EU level of butanone oxime; ethyl methyl ketoxime; ethyl methyl ketone oxime. Available from: <https://echa.europa.eu/documents/10162/2ff765e5-fb21-e81c-6e15-1aa191bb84bc>.
 33. Rozporządzenie (WE) nr 1907/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 grudnia 2006 r. w sprawie rejestracji, oceny, udzielania zezwoleń i stosowanych ograniczeń w zakresie chemikaliów (REACH), utworzenia Europejskiej Agencji Chemikaliów, zmieniające dyrektywę 1999/45/WE oraz uchylające rozporządzenie Rady (EWG) nr 793/93 i rozporządzenie Komisji (WE) nr 1488/94, jak również dyrektywę Rady 76/769/EWG i dyrektywę Komisji 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/WE i 2000/21/WE. *DzUrz UE L 136 z 2007 r. z późn. zm. i sprostowaniami*, s. 3.

34. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 24 lipca 2012 r. w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy (tekst jednolity: Obwieszczenie Ministra Zdrowia z dnia 3 listopada 2021 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu rozporządzenia Ministra Zdrowia w sprawie substancji chemicznych, ich mieszanin, czynników lub procesów technologicznych o działaniu rakotwórczym lub mutagennym w środowisku pracy. DzU z 2021 r., poz. 2235.
35. Ustawa z dnia 26 czerwca 1974 r. – Kodeks pracy. DzU z 2016 r., poz. 1666.
36. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 2 lutego 2011 r. w sprawie badań i pomiarów czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy. DzU z 2011 r. nr 33, poz. 166.
37. Gefahrstoffinformationssystem der Deutschen Gesetzlichen (GESTIS) [Internet]. International Occupational Exposure Limit Database [cited 2022 June 9]. 2-Butanone oxime. Available from: <https://limitvalue.ifa.dguv.de>.
38. Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). List of MAK and BAT Values Permanent Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area 2020 Report 56. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim 2020.
39. American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). The Governmental Organisation. Guide to Occupational Exposures Values Compiled by ACGIH. Cincinnati Ohio United States 2022.
40. Bekanntmachung des Umweltbundesamtes. Announcement by the Federal Environment Agency. Richtwerte für Butanonoxim in der Innenraumluft Mitteilung der Ad-hoc-Arbeitsgruppe Innenraumrichtwerte der Kommission Innenraumluftthygiene und der Obersten Landesgesundheitsbehörden. Bundesgesundheitsblatt 2015; 58:505–512. <https://doi.org/10.1007/s00103-015-2132-7>. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00103-015-2132-7.pdf>. German.