

Trihalometany v pitné vodě

Podkladový dokument pro vývoj
Směrnice WHO pro kvalitu pitné vody

„Bromované trihalomethany“ a „Celkové trihalomethany“ původně publikované v *Pokyny pro kvalitu pitné vody*, 2. vyd. sv. 2. *Zdravotní kritéria a další podpůrné informace*. Ženeva, Světová zdravotnická organizace, 1996; „Chloroform“ původně publikovaný v *pokynech pro kvalitu pitné vody*, 2. vyd. dodatek k sv. 2. *Zdravotní kritéria a další podpůrné informace*. Ženeva, Světová Zdravotnická Organizace, 1998.

© Světová zdravotnická organizace 2004

Žádosti o povolení reprodukovat nebo překládat publikace WHO – ať už za účelem prodeje nebo komerční distribuce – zasílejte na Publikace (Fax: +41 22 791 4806; e-mail: permissions@who.int)
Použitá označení a prezentace materiálu v této publikaci neimplikují vyjádření jakéhokoli názoru ze strany Světové zdravotnické organizace ohledně právního status jakékoli země, území, města nebo oblasti nebo jejích orgánů nebo pokud jde o jejich vymezení hranice nebo hranice. Zmínka o konkrétních společnostech nebo o produktech určitých výrobců neznamená, že tomu tak je schválila nebo doporučila Světová zdravotnická organizace přednostně před jinými podobnými, které nejsou zmíněny. Chyby a opomenutí vyhrazeny, názvy proprietárních produktů jsou odlišené počátečními velkými písmeny. Světová zdravotnická organizace nezaručuje, že informace obsažené v této publikaci jsou úplné a správné a neodpovídá za žádné škody vzniklé v důsledku jeho použití.

Předmluva

Jedním z primárních cílů WHO a jejích členských států je, aby „všichni lidé bez ohledu na fázi svého rozvoje a své sociální a ekonomické podmínky měli právo na přístup k adekvátnímu zásobování nezávadnou pitnou vodou. Hlavní funkcí WHO pro dosažení takových cílů je odpovědnost „navrhovat ... nařízení a vydávat doporučení s ohledem na mezinárodní zdravotní záležitosti“.

První dokument WHO zabývající se specificky kvalitou pitné vody pro veřejnost byl publikován v roce 1958 jako Mezinárodní standardy pro pitnou vodu. Následně byl revidován v roce 1963 a v roce 1971 pod stejným názvem. V letech 1984–1985 bylo publikováno první vydání Pokynů WHO pro jakost pitné vody (GDWQ) ve třech svazcích: Svazek 1, doporučení; Svazek 2, Zdravotní kritéria a další podpůrné informace; a svazek 3, Dozor a kontrola komunitních dodávek. Druhé vydání těchto svazků bylo vydáno v letech 1993, 1996 a 1997. V roce 1998 byly publikovány dodatky ke svazkům 1 a 2 druhého vydání, které se zabývaly vybranými chemickými látkami. V roce 2002 byl publikován dodatek o mikrobiologických aspektech přezkumu vybraných mikroorganismů.

GDWQ jsou předmětem průběžných revizí. Tímto postupem jsou mikrobiální, chemické a radiologické aspekty pitné vody podrobovány pravidelnému přezkumu, a dokumentace týkající se aspektů ochrany a kontroly kvality pitné vody pro veřejnost je proto připravena/aktualizována.

Who od prvního vydání GDWQ zveřejňovala informace o zdravotních kritériích a dalších podpůrných informacích pro GDWQ, popisovala přístupy používané při odvození směrných hodnot a předkládala kritické přezkumy a hodnocení účinky látek nebo kontaminantů zkoumaných v pitné vodě na lidské zdraví.

Pro každou uvažovanou chemickou kontaminující látku nebo látku připravila vedoucí instituce dokument o zdravotních kritériích, v němž se hodnotí rizika pro lidské zdraví vyplývající z expozice dané chemické látky v pitné vodě. Požadované dokumenty týkající se zdravotních kritérií připravily instituce z Kanady, Dánska, Finska, Francie, Německa, Itálie, Japonska, Nizozemska, Norska, Polska, Švédska, Spojeného království a Spojených států amerických.

V rámci odpovědnosti koordinátorů za skupinu chemických látek posuzovaných v pokynech byly návrhy dokumentů týkajících se zdravotních kritérií předloženy řadě vědeckých institucí a vybraných odborníků k vzájemnému hodnocení. Koordinátoři a autoři vzali připomínky v úvahu před tím, než byly dokumenty předloženy ke konečnému vyhodnocení na schůzích odborníků. „Závěrečná

pracovní skupina“ na svém zasedání přezkoumala hodnocení zdravotních rizik a připomínky veřejnosti a vzájemného hodnocení a tam, kde to bylo vhodné, rozhodla o směrných hodnotách. Během přípravy třetího vydání GDWQ bylo rozhodnuto, že se do procesu tvorby dokumentů týkajících se zdravotních kritérií zahrne i veřejná recenze prostřednictvím celosvětového webu.

Během přípravy dokumentů týkajících se zdravotních kritérií a na setkáních odborníků byly pečlivě zváženy informace dostupné v předchozích posouzeních rizik provedených Mezinárodním programem chemické bezpečnosti, v jeho monografiích Environmentální zdravotní kritéria a stručných mezinárodních dokumentech pro posuzování chemických látek, Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny, společnými zasedáními FAO/WHO o reziduích pesticidů a společným výborem odborníků FAO/WHO pro potravinářské přídatné látky (který hodnotí kromě potravinářských přídatných látek také kontaminanty, jako je olovo, kadmium, dusičnan a dusitan).

Další aktuální informace o GDWQ a procesu jejich vývoje jsou k dispozici na internetových stránkách WHO a v aktuálním vydání GDWQ.

Poděkování

Při rozvoji trihalomethanů v pitné vodě měla zásadní význam práce těchto koordinátorů, Podkladový dokument pro vypracování pokynů WHO pro jakost pitné vody:

Bromované trihalometany

J.K. Fawell, Water Research Centre, Spojené království (anorganické složky)

U. Lund, Water Quality Institute, Dánsko (organické složky a pesticidy)

B. Mintz, Environmental Protection Agency, USA (dezinfekční prostředky a vedlejší produkty dezinfekce)

Chloroform

P. Chambon, Laboratoř hygieny životního prostředí v Lyonu, Lyon, Francie (anorganické složky)

U. Lund, Water Quality Institute, Horsholm, Dánsko (organické složky)

H. Galal-Gorchev, Urban Environmental Health, World Health Organizace, Ženeva, Švýcarsko (pesticidy)

E. Ohanian, Environmental Protection Agency, Washington, DC, USA (dezinfekční prostředky a vedlejší produkty dezinfekce)

Koordinátoři WHO pro druhé vydání (bromovaný trihalomethan) byli následující:

Hlavní sídlo:

H. Galal-Gorchev, Mezinárodní program chemické bezpečnosti

R. Helmer, Divize environmentálního zdraví

Regionální kancelář pro Evropu:

X. Bonnefoy, Životní prostředí a zdraví

O. Espinoza, Životní prostředí a zdraví

Koordinátory pro celkové administrativní a technické aspekty dodatku k druhému vydání (chloroform) byli J. Kennym a H. Galal-Gorčev, Urban Environmental Health, WHO, Ženeva, Švýcarsko.

Svolání schůzek odborníků pro druhé vydání (bromovaný trihalomethan) bylo umožněno finanční podporou, kterou WHO poskytla Dánská mezinárodní rozvojová agentura (DANIDA), Norská agentura pro rozvojovou spolupráci (NORAD), Správa zámořského rozvoje Spojeného království (ODA) a Asociace vodních služeb ve Spojeném království, švédský Mezinárodní úřad pro rozvoj (SIDA) a tyto sponzorující země: Belgie, Kanada, Francie, Itálie, Japonsko, Nizozemsko, Velká Británie a USA.

Přípravu chloroformového dokumentu (dodatku k druhému vydání) umožnila finanční podpora, kterou WHO poskytly Kanada, Evropská komise, Japonsko a USA.

První návrh chloroformové části tohoto podkladového dokumentu připravila paní M.E. Meek, Health Canada, jimž patří zvláštní poděkování.

Paní Marla Shefferová z kanadské Ottawy byla zodpovědná za vědeckou úpravu celého dokumentu.

Vděčně se uznává úsilí všech, kteří pomáhali s přípravou a finalizací tohoto dokumentu, včetně těch, kteří sepisovali a recenzovali návrhy.

Zkratky a zkratky použité v textu

BDCM	bromdichlormethan
CAS	Chemical Abstracts Service
CHO	vaječník čínské křečka
DBCM	dibromchlormethan
DNA	deoxyribonukleová kyselina
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
IUPAC	Mezinárodní unie čisté a aplikované chemie
LD50	střední letální dávka
LOAEL	nejnižší hladina pozorovaného nežádoucího účinku
NCI	Národní instituce pro výzkum rakoviny (USA)
NOAEL	úroveň bez pozorovaného nepříznivého účinku
NOEL	úroveň bez pozorovaného účinku
NTP	Národní toxikologický program(USA)
SGPT	sérová glutamát-pyruvát transamináza
TDI	Denní příjem tolerovaný
THM	trihalomethan
USA	Spojené státy americké
USP	US Pharmacopeia

Obsah

A. CHLOROFORM	1
1. OBECNÝ POPIS.....	1
1.1 Totožnost	1
1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti	1
1.3 Organoleptické vlastnosti	1
1.4 Hlavní použití.....	1
1.5 Osud životního prostředí.....	2
2. ANALYTICKÉ METODY	2
3. ÚROVNĚ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A EXPOZICE ČLOVĚKA.....	2
3.1 Venkovní vzduch	2
3.2 Vnitřní vzduch	2
3.3 Voda	3
3.4 Jídlo	4
3.5 Odhadovaná celková expozice a relativní příspěvek pitné vody.....	5
4. KINETIKA A METABOLISMUS U LABORATORNÍCH ZVÍŘAT A LIDÉ	6
5. ÚČINKY NA EXPERIMENTÁLNÍ ZVÍŘATA A TESTOVACÍ SYSTÉMY IN VITRO.	7
5.1 Akutní expozice	7
5.2 Krátkodobá expozice	7
5.3 Dlouhodobá expozice	9
5.4 Toxicita pro reprodukci a vývoj	9
5.5 Mutagenita a související koncové body.....	9
5.6 Karcinogenita.....	10
5.6.1 Mechanismus karcinogenity.....	13
5.7 Další speciální studia	15
5.8 Faktory ovlivňující toxicitu.....	15
6. ÚČINKY NA ČLOVĚKA.....	16
7. SMĚRNÁ HODNOTA	17
8. REFERENCE	18
B. BROMOVANÉ TRIHALOMETHANY	23
1. OBECNÝ POPIS.....	23
1.1 Totožnost	23
1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti	24
1.3 Organoleptické vlastnosti	24
1.4 Hlavní použití.....	24

1.5 Osud životního prostředí.....	24
2. ANALYTICKÉ METODY	25
3. ÚROVNĚ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A EXPOZICE ČLOVĚKA.....	25
3.1 Vzduch	25
3.2 Voda	25
3.3 Jídlo	26
3.4 Odhadovaná celková expozice a relativní příspěvek pitné vody.....	26
4. KINETIKA A METABOLISMUS U LABORATORNÍCH ZVÍŘAT A LIDÍ.....	26
5. ÚČINKY NA LABORATORNÍ ZVÍŘATA A TESTOVACÍ SYSTÉMY IN VITRO.....	26
5.1 Bromoform.....	26
5.1.1 Akutní expozice	26
5.1.2 Krátkodobá expozice	27
5.1.3 Dlouhodobá expozice	27
5.1.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita.....	28
5.1.5 Mutagenita a související koncové body.....	28
5.1.6 Karcinogenita.....	28
5.2 Dibromchlormethan	29
5.2.1 Akutní expozice	29
5.2.2 Krátkodobá expozice	29
5.2.3 Dlouhodobá expozice	29
5.2.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita.....	30
5.2.5 Mutagenita a související koncové body.....	30
5.2.6 Karcinogenita.....	31
5.3 Bromdichlormethan.....	31
5.3.1 Akutní expozice	31
5.3.2 Krátkodobá expozice	31
5.3.3 Dlouhodobá expozice	32
5.3.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita.....	32
5.3.5 Mutagenita a související koncové body.....	32
5.3.6 Karcinogenita.....	33
6. ÚČINKY NA ČLOVĚKA.....	33
7. SMĚRNÉ HODNOTY	34
7.1 Bromoform.....	34
7.2 Dibromchlormethan	34
7.3 Bromdichlormethan.....	35
8. REFERENCE	35
C. CELKOVÉ TRIHALOMETHANY	38
1. SMĚRNÁ HODNOTA	38

A. CHLOROFORM

1. OBECNÝ POPIS

1.1 Totožnost

Číslo CAS: 67-66-3
Molekulární vzorec: CHCl_3

Chloroform je nejběžněji se vyskytující trihalomethan (THM); THM jsou halogenem substituované jednouhlíkové sloučeniny obecného vzorce CHX_3 .

1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti¹

Chloroform se odbourává fotochemicky, není hořlavý a je ve většině organických rozpouštědel rozpustný. Jeho rozpustnost ve vodě je však omezená. Fosgen a kyselina chlorovodíková může vznikat chemickou degradací. Nejdůležitější fyzikální vlastnosti chloroformu jsou uvedeny níže (IARC, 1979; Budavari et al., 1989):

<i>Položka</i>	<i>hodnota</i>
Fyzikální stav	Čirá, bezbarvá kapalina
Bod varu při 101,3 kPa	61,3 °C
Teplota tání	-63,2 °C
Relativní hustota (20 °C)	1,484
Teplota samovznícení	>1000 °C
Rozpustnost ve vodě (25 °C)	7,5–9,3 g/litr
Hustota par (101,3 kPa, 0 °C)	4,36 kg/m ³
Tlak par	8,13 kPa při 0 °C; 21,28 kPa při 20 °C
Stabilita	Citlivé na vzduch a světlo; rozkládá se na fosgen, chlorovodík a chlór

Log rozdělovací koeficient oktanol-voda 1,97

1.3 Organoleptické vlastnosti

Chloroform má charakteristický zápach a palčivou sladkou chuť. Jeho pachový práh hodnoty jsou 2,4 mg/litr ve vodě a 420 mg/m³ ve vzduchu (Budavari et al., 1989; ATSDR, 1993).

1.4 Hlavní použití

Komerční produkce chloroformu byla v roce 1987 440.000 t. Používá se především při výrobě chlordifluormethanu, i když v menších množstvích se také používají jako rozpouštědla, jako čisticí prostředky a ve fumigantech. Ačkoli chloroform se v minulosti používal jako anestetikum a ve speciálních lécích, tyto aplikace byly v mnoha zemích zakázány.

1 Konverzní faktor ve vzduchu: 1 mg/m³ = 0,20 ppm.

1.5 Osud v životním prostředí

Předpokládá se, že většina chloroformu přítomného ve vodě se nakonec přenáší do vzduchu v důsledku její těkavosti. Chloroform má v atmosféře několikaměsíční rezidenční dobu a je chemickou přeměnou z atmosféry odstraňován. Je odolný vůči biologickému rozkladu aerobními mikrobiálními populacemi půd a zvodnělých vrstev, které se podřizují endogenním substrátům nebo jsou doplněny acetátem. V anaerobních podmínkách může dojít k biologickému rozkladu. Biokoncentrace ve sladkovodních rybách je nízká. Depurace je rychlá (IPCS, 1994a).

2. ANALYTICKÉ METODY

Pro analýzu chloroformu ve vzduchu, vodě a biologických materiálech existuje několik metod. Většina těchto metod je založena na přímém vstřikování kolony, adsorpci na aktivovaném adsorbentu nebo kondenzaci v chladném lapáku, poté desorpci extrakcí rozpouštědlem nebo odpařováním zahřátím a následnou analýzou plynovou chromatografií. Ve vodě jsou detekční limity od 0,02 do 1 µg/l (IPCS, 1994a; ISO, 1997).

3. ÚROVNĚ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A EXPOZICE ČLOVĚKA

3.1 Venkovní vzduch

Hladina chloroformu ve vnějším vzduchu v odlehlých oblastech USA se pohybuje v rozmezí od 0,1 do 0,25 µg/m³. V městských oblastech a oblastech, kterým dominují zdroje, jsou koncentrace 0,3–9,9 µg/m³ a 4,1–110 µg/m³, resp. (ATSDR, 1993). Průměrná koncentrace chloroformu vážená populací v 17

městských lokalitách, z nichž se v roce 1989 odebíraly vzorky v celé Kanadě, byla 0,2 µg/m³ (Environment Canada, 1992).

Hodinové průměrné koncentrace chloroformu v Nizozemsku, stanovené v letech 1979–1981, byly obecně 0,15 µg/m³ (odhadovaná mez detekce) nebo nižší, maximální hodnota je 10 µg/m³ (den Hartog, 1980, 1981). Průměrné koncentrace chloroformu se v průběhu roku 1990 ve čtyřech německých městech (Berlín, Tübingen, Freudenstadt a Lipsko) pohybovaly v rozmezí 0,26 až 0,9 µg/m³ ; maximální hodnota byla 30 µg/m³ , zjištěná v Tübingenu (Toxicology and Environmental Health Institute of Munich Technical University, 1992).

3.2 Vnitřní vzduch

Koncentrace chloroformu ve vnitřním vzduchu jsou obecně vyšší než koncentrace ve vnějším venkovním vzduchu, a to především v důsledku odpařování při používání vody. V populačním průzkumu v USA byl pozorovaný nárůst přibližně 85%, což odpovídalo předpokladům ohledně denní spotřeby vody a pravděpodobného uvolňování chloroformu z vody do vzduchu (Wallace, 1987).

V celostátním průzkumu mezi 757 náhodně vybranými rodinnými domy v Kanadě, z nichž byl v roce 1991 odebrán vzorek za desetiměsíční období, byla průměrná hladina chloroformu ve vnitřním ovzduší 4,1 µg/m³ ; maximální hodnota byla 69 µg/m³ (Otson a kol., 1992). Ullrich (1982) udávané srovnatelné koncentrace ve vnitřním vzduchu (1–3 µg/m³) v Německu.

V důsledku přenosu z vody se zvyšuje i hladina chloroformu v ovzduší uzavřených bazénů. Liší se v závislosti na několika faktorech, jako je stupeň větrání, úroveň chlorování, teplota vody, stupeň mísení na vodní hladině a množství přítomných organických prekurzorů (Lahl et al., 1981a). Za období 11 měsíců se hladina chloroformu přímo nad vodní hladinou ve vnitřních veřejných plaveckých bazénech v německých Brémách pohybovala od 10 do 380 µg/m³ , s průměrem asi 100 µg/m³ (Bätjer a kol., 1980; Lahl a kol., 1981a). Ullrich (1982) uvedl podobnou průměrnou hodnotu ve čtyřech veřejných bazénech v Německu.

V experimentální studii, v níž byla průměrná koncentrace chloroformu ve vodě v krytém bazénu zvýšena ze 159 na 553 µg/l, odpovídaly průměrné hladiny chloroformu vzduchu v rozmezí od 2,9 do 8,0 mg/m³ (Levesque a kol., 1994).

3.3 Voda

Mezi zdroje chloroformu ve vodním prostředí patří bělení papíru chlórem, chlorování rekreační (bazénové) vody, chladicí voda a odpadní vody. Chloroform je přítomen v pitné vodě přímou kontaminací zdroje a tvorbou z přirozeně se vyskytujících organických sloučenin během chlorování. Rychlost a stupeň tvorby chloroformu během chlorace jsou primárně funkcí koncentrací chloru a kyseliny huminové, teploty a pH. Úrovně se liší sezónně, přičemž koncentrace jsou obecně vyšší v létě než v zimě (IPCS, 1994a).

Koncentrace chloroformu v podzemních vodách se značně liší v závislosti především na blízkosti míst s nebezpečnými odpady (ATSDR, 1993). Například chloroform byl zjištěn v hodnotách od 11 do 866 $\mu\text{g/l}$ ve vzorcích z pěti ze šesti monitorovacích vrtů vyvrtných 64 m od sebe ve směru kolmém k severnímu toku podzemních vod v kontaminované lokalitě v Pittmanu v Nevadě v USA (hloubka neohrazených podzemních vod byla na tomto vybraném místě 2–4 m) (Kerfoot, 1987).

Dokončená pitná voda nashromážděná v letech 1988–1989 z 35 amerických zdrojů, z nichž 10 se nacházelo v Kalifornii, ve všech čtyřech ročních obdobích obsahovala střední koncentrace chloroformu v rozmezí od 9,6 do 15 $\mu\text{g/l}$. Celkový medián všech čtyř ročních období byl 14 $\mu\text{g/litr}$ (Krasner et al., 1989). V průzkumu z let 1987–1989 provedeném v USA byla průměrná koncentrace chloroformu v konečné vodě u systémů povrchových vod sloužících více než 10 000 lidem 38,9 $\mu\text{g/litr}$ (90. percentil, 74,4 $\mu\text{g/litr}$). Srovnatelná průměrná hodnota v distribučním systému byla 58,7 $\mu\text{g/l}$ (US EPA, 1992).

V celostátním průzkumu zásob vody 70 obcí v Kanadě, který byl proveden v zimě 1976–1977, činily koncentrace chloroformu v upravené vodě distribuční soustavy 0,8 km od čistírny v průměru 22,7 $\mu\text{g/litr}$ (Williams et al., 1980). Koncentrace na 10 různých místech v jižním Ontariu, z nichž se odebíraly vzorky na počátku 80. let, činily 4,5–60 $\mu\text{g/l}$ ve vodě opouštějící čistírnu odpadních vod a 7,1–63 $\mu\text{g/l}$ 1,6 km od závodu (Oliver, 1983). Při novějším průzkumu vzorků odebraných během zimy a léta roku 1993 na 53 místech v devíti provinciích Kanady byl chloroform hlavním THM zjištěným na všech místech kromě tří, jednalo se o zdroje podzemních vod, které byly ošetřeny s minimálním chlorováním. Podíl chloroformu na celkových THM (v rozmezí od 75,5 do 91,4 %) byl v létě vyšší než v zimě a byl mírně vyšší u chlor-chlorinu oproti chlor-chloraminové nebo ozon-chloraminové léčbě. I když většina léčebných zařízení měla relativně nízkou celkovou hladinu THM (<50 $\mu\text{g/l}$), malé množství mělo relativně vysokou hladinu (>100 $\mu\text{g/l}$), zejména v létě (s výjimkou dezinfekce chloraminem a chloraminem) (Health Canada, 1995).

Hodnoty chloroformu v pitné vodě ve 100 německých městech odebraných v roce 1977 se pohybovaly v rozmezí <0,1 až 14,2 $\mu\text{g/l}$ a v průměru 1,3 $\mu\text{g/l}$.

Koncentrace byly podobné i v jiných průzkumech prováděných v Německu na přelomu 70. a 80. let (Lahl et al., 1981a).

Průměrné hodnoty chloroformu v pitné vodě byly v Nizozemsku v roce 1994 v rozmezí až 8,9 µg/litr (Versteegh et al., 1996).

3.4 Jídlo

V rané studii v Německu byl chloroform zjištěn v několika potravinách, zejména v kávě bez kofeinu (20 µg/kg), olivovém oleji (28 µg/kg), vepřovém mase (10 µg/kg) a uzeninách (17 µg/kg). Ojediněle byly koncentrace vyšší: až 80 µg/kg v kávě a 90 µg/kg v uzeninách. Hodnoty 1–10 µg/kg byly zjištěny v moučných výrobcích, bramborách, oleji z tresčích jater, margarínu, sádle, rybách, slávkách a mléce; ve většině potravin však byly hodnoty nižší než 1 µg/kg (Bauer, 1981).

Chloroform byl zjištěn v asi 90 ze 300 vzorků v průzkumu tržního koše, který se týkal 231 „stolních“ potravin (připravených a vařených podle běžného servírování) v USA, nejčastěji ve vzorcích obsahujících tuk (Daft, 1988). V pozdějším výčtu (Daft, 1989) se uvádělo, že koncentrace chloroformu 2–830 µg/kg potravin byly zjištěny v 68 % z 549 vzorků potravin získaných při průzkumu tržního koše (v průměru 71 µg/kg).

Chloroform nebyl zjištěn ve složených vzorcích masa/ryb/drůbeže ani ve složených vzorcích oleje/tuku v 39 různých potravinách v USA, i když je třeba poznamenat, že kvantifikační limity byly vyšší (18–28 µg/kg) než ve výše popsáných studiích. V kompozitu mléčných potravin však byla zjištěna koncentrace chloroformu 17 µg/l (Entz et al., 1982).g).

Koncentrace chloroformu v nealkoholických nápojích se pohybují v rozmezí od 3 do 50 µg/l, přičemž obsah y koly je na horním konci rozpětí (Abdel-Rahman, 1982; Entz a kol., 1982; Wallace a kol., 1984).

3.5 Odhadovaná celková expozice a relativní příspěvek pitné vody

Na základě denního objemu inhalace pro dospělé o velikosti 20 m³, tělesná hmotnost 60 kg, předpoklad, že 20 z 24 hodin je stráveno uvnitř a průměrné hodnoty chloroformu ve vnitřním vzduchu uvedené výše (1–4 µg/m³), průměrný příjem chloroformu z vnitřního vzduchu pro běžnou populaci se odhaduje na 0,3–1,1 µg/kg tělesné hmotnosti za den.

Jedinci mohou být během sprchování vystaveni zvýšeným koncentracím chloroformu z chlorované vodovodní vody (Jo et al., 1990a,b). Na základě experimentálních studií s lidmi dospěli tito autoři k závěru, že příspěvek dermální

expozice je přibližně rovnocenný inhalační expozici během sprchování a že průměrný příjem chloroformu (inhalační a dermální absorpce) činí u osoby s hmotností 70 kg 0,5 µg/kg tělesné hmotnosti na sprchu.

Na základě přehledu relevantních odhadů, Maxwell a kol. (1991) dospěl k závěru, že poměr dávky chloroformu obdržené za celý život od inhalace k dávce získané požitím pitné vody je pravděpodobně v rozmezí 0,6–1,5, ale mohl by být až 5,7. Poměr dávky podané dermálně v porovnání s dávkou podávanou perorálně během života z pitné vody byl považován za přibližně 0,3, ale mohl být až 1,8.

Na základě denního spotřeby 2 litrů pitné vody pro dospělého, tělesná hmotnost 60 kg a průměrné hladiny chloroformu uvedené výše (obecně <20 µg/litr), průměrný příjem chloroformu z pitné vody pro běžnou populaci je méně než 0,7 µg/kg tělesné hmotnosti za den. Skutečné úrovně expozice mohou být nižší než odhadované na základě průměrných úrovní v pitné vodě, jako většina chloroform by byl vyloučen z pitné vody, která se před konzumací zahřívá (čaj, káva, polévky, omáčky). Například přibližně 96 % celkových volatilních frakcí halogenovaných setkání byla eliminována ve vodě vroucí po dobu 5 minut, zatímco 50–90 % bylo eliminováno zahřátím na 70–90 °C (Bauer, 1981). Vzhledem k širokému kolísání buněk chloroformu ve vodě, příjem z pití vody by mohl být v některých segmentech mnohem větší, než se zde odhaduje pro některé segmenty obecné populace.

Na základě denního požití pevných potravin pro dospělé o hmotnosti 1,5 kg (IPCS, 1994b), průměrné tělesné hmotnosti 60 kg a průměrné hladiny a procenta detekce chloroformu v potravinách v průzkumu tržního koše, který uvádí Daft (1989), činí odhadovaný příjem chloroformu z potravin přibližně 1 µg/kg tělesné hmotnosti za den.

Na základě odhadů průměrné expozice z různých médií je proto běžná populace vystavena chloroformu především v potravinách, pitné vodě a vnitřním vzduchu, a to v přibližně stejných množstvích. Odhadovaný příjem z venkovního vzduchu je podstatně nižší. Celkový odhadovaný průměrný příjem je přibližně 2–3 µg/kg tělesné hmotnosti za den. U některých jedinců žijících v obydlích, která jsou zásobována vodovodní vodou obsahující relativně vysoké koncentrace chloroformu, činí odhadovaný celkový příjem pitné vody po požití, vdechnutí a dermální kontakt až 10 µg/kg tělesné hmotnosti za den.

Bazény jsou také důležitým zdrojem vystavení chloroformu pro plavce. Na základě experimentálně určeného vztahu, Levesque et al. (1994) odhadl, že denní dávka chloroformu vznikající při 1 hodinovém plavání (65 µg/kg tělesné hmotnosti denně) v podmínkách běžně se vyskytujících ve veřejných bazénech je

141 krát vyšší než při sprchování na 10 minut a 93 krát vyšší než při požití vody z vodovodu.

4. KINETIKA A METABOLISMUS U LABORATORNÍCH ZVÍŘAT A LIDÍ

Kinetika a metabolismus chloroformu byly zkoumány v IPCS (1994a). Chloroform se u zvířat i lidí po orálním podání dobře vstřebává, ale absorpční kinetika je závislá na nosiči dávky. Po inhalační expozici u člověka se vstřebá 60–80% inhalovaného množství, přičemž kinetika je závislá na koncentraci a druhově specifických metabolických kapacitách. Chloroform se snadno vstřebává kůží lidí i zvířat a byla prokázána významná dermální absorpce chloroformu z vody během sprchování (Jo et al., 1990a). Zdá se, že hydratace pokožky urychluje vstřebávání chloroformu.

Chloroform je distribuován po celém těle, přičemž nejvyšší hladiny jsou v tucích, krvi, játrech, ledvinách, plicích a nervovém systému. Distribuce je závislá na expoziční cestě; extrahepatální tkáně dostávají vyšší dávku z inhalovaného nebo dermálně absorbovaného chloroformu než z požitého chloroformu. U několika živočišných druhů a lidí byl prokázán placentární přenos chloroformu. Nemetabolizovaný chloroform se v tuku zadržuje déle než v jakékoli jiné tkáni.

Oxidační biotransformace chloroformu je katalyzována cytochromem P-450 za vzniku trichlormethanolu. Ztráta chloridu vodíku z trichlormethanolu vytváří fosgen jako reaktivní meziprodukt. Fosgen může být detoxikován reakcí s vodou za účelem produkce oxidu uhličitého nebo thioly, včetně glutathionu a cysteinu, za účelem tvorby adduktů. Reakce fosgenu na tkáňové proteiny je spojena s poškozením buněk a smrtí. Je pozorována malá vazba chloroformních metabolitů na DNA. Chloroform také prochází reduktivní biotransformací katalyzovanou cytochromem P-450 za vzniku dichlormethylového radikálu, který se kovalentně váže na tkáňové lipidy. Úloha redukční biotransformace v cytotoxicitě chloroformu nebyla stanovena.

U zvířat a lidí vystavených chloroformu se v prošlém vzduchu vylučuje oxid uhličitý a nezměněný chloroform. Část dávky vyloučená ve formě oxidu uhličitého se mění s dávkou a druhem. Rychlost biotransformace na oxid uhličitý je vyšší u hlodavců (křeččích, myších, potkaních) hepatálních a ledvinových mikrozomů než u lidských hepatálních a ledvinových mikrozomů. Také chloroform se biotransformuje rychleji u myší než u ledvinových mikrozomů potkanů.

5. ÚČINKY NA EXPERIMENTÁLNÍ ZVÍŘATA A TESTOVACÍ SYSTÉMY IN VITRO

5.1 Akutní expozice

Játra jsou cílovým orgánem akutní toxicity u potkanů a několika kmenů myší. Poškození jater je charakterizováno hlavně ranou tukovou infiltrací a balonovými buňkami, postupujícími do centrilobulární nekrózy a následně masivní nekrózou. Ledviny jsou cílovým orgánem u myších samců jiných citlivějších kmenů. Poškození ledvin začíná hydropickou degenerací a postupuje do nekrózy proximálních tubulů. Signifikantní ledvinová toxicita nebyla pozorována u myších samic žádného kmene.

Akutní toxicita se liší v závislosti na kmeni, pohlaví a vehikulu. U myší se hodnoty LD50 pro orální podání pohybují v rozmezí 36 až 1366 mg/kg tělesné hmotnosti; u potkanů se pohybují v rozmezí 450 až 2000 mg/kg tělesné hmotnosti (IPCS, 1994a).

5.2 Krátkodobá expozice

Mezi nejrozšířenější toxické účinky chloroformu patří poškození jater a ledvin. Závažnost těchto účinků na podanou jednotkovou dávku závisí na druhu, vehikulu a způsobu, jakým se chloroform podává.

Mnoho histologických a biochemických parametrů bylo zkoumáno u myších samic a samců CD1 (7-12 každého pohlaví na skupinu), kterým byl podáván chloroform v dávkách 0, 50, 125 nebo 250 mg/kg tělesné hmotnosti na den ve vodě žaludeční sondou po dobu 14 a 90 dnů (Munson a kol., 1982). Po 90 dnech byl u obou pohlaví zjištěn útlum počtu buněk tvořících protilátky při nejvyšší dávce. U samic v nejvyšší dávce byl pozorován pokles přecitlivělosti zprostředkovaného buněčnými buňkami. Hmotnost jater se zvýšila po 90 dnech expozice při všech dávkách u samic a při nejvyšší dávce u samců. Po 90 dnech expozice zvířata prokázala toleranci proti náročné dávce 1 000 mg/kg tělesné hmotnosti. Histologické změny pozorované v ledvinách všech podaných zvířat zahrnovaly malé mezitubulární sbírky chronických zánětlivých buněk; v játrech zahrnovaly generalizovanou hydropickou degeneraci hepatocytů a příležitostně malé fokální sbírky lymfocytů. U samic bylo v sinusových kupfferových buňkách občas zaznamenáno malé množství extravazované žluči.

Jorgenson & Rushbrook (1980) podávali chloroform myším samicím B6C3F1 kvůli 90 dnů při koncentracích 0, 200, 400, 600, 900, 1800 nebo 2700 mg/l pitné vody (rovnající se 0, 34, 66, 92, 132, 263 a 400 mg/kg tělesné hmotnosti). V prvním v týdnu experimentu některé myši ve skupině s nejvyšší dávkou uhynuly

na dehydrataci v důsledku snížené spotřeby vody. V souvislosti s koncentrací se objevila deprese centrálního nervového systému. Jediné histopatologické nálezy související s léčbou spočívaly v mírné adaptivní a přechodné změně tuku v játrech zvířat, kterým bylo podáváno 66 mg/kg tělesné hmotnosti denně nebo více, a v mírné lymfoidní atrofii sleziny v dávce 92 mg/kg tělesné hmotnosti denně a ve vyšších dávkách.

Je prokázáno, že vehikulum, ve kterém se chloroform podává, významně ovlivňuje jeho toxicitu. Bull et al. (1986) uvádělo, že chloroform podávaný sondou v kukuřičném oleji byl výrazně více hepatotoxický než ekvivalentní dávky podávané ve vodné emulzi (2% Emulphor, polyoxyetylovaný rostlinný olej, GAF Corp.) myším samcům a samicím B6C3F1 (10 od každého pohlaví ve skupině) byly podávány dávky 0, 60, 130 nebo 270 mg/kg tělesné hmotnosti denně po dobu 90 dnů na základě vyšetření sérových jaterních enzymů a hepatální histopatologie.

U myších samic B6C3F1 exponovaných po dobu 1 týdne výparům chloroformu v koncentracích 0, 4,9, 14,7, 49, 147, 490 nebo 1470 mg/m³, došlo ke zvýšené proliferaci buněk v nosních průchodech. Tato odpověď byla výrazně menší než u potkanů f344, kteří byli vystaveni podobným koncentracím (Mery a kol., 1994).

Palmer et al. (1979) denně po dobu 13 týdnů vystaveno chloroformu 10 samců a 10 samic potkanů SPF Sprague-Dawley nitrožaludeční sondou (v zubní pastě). Dávky byly 0, 15, 30, 150 nebo 410 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Při dávkách 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně byl „zřetelný vliv na relativní hmotnost jater a ledvin“ (významnost není specifikována). Při nejvyšší dávce byla zvýšená hmotnost jater s tukovými změnami a nekrózou, gonadální atrofií u obou pohlaví a zvýšenou buněčnou proliferací kostní dřeně.

V 90denní studii chu a kol. (1982), skupiny 20 samců a 20 samic potkanů Sprague-Dawley byly vystaveny chloroformu v pitné vodě v dávkách 0, 0,17, 1,3, 12 nebo 40 mg/den u samců a 0, 0,12, 1,3, 9,5 nebo 29 mg/den u samic; následovalo 90 dní rekonvalescence. Ve skupině s nejvyšší dávkou byl snížen příjem vody a potravy. Při dávce 40 mg/den byla mortalita zvýšena. Při histologickém vyšetření byly mírné léze na játrech a štítné žláze, zvláště ve skupině s nejvyšší dávkou. V játrech samců i samic došlo ke zvýšení cytoplazmické homogenity, hustoty hepatocytů v periportální oblasti, zvýšení objemu cytoplazmy ve středním pásmu a centrilobulu, vakuolizaci v důsledku infiltrace tuků a příležitostně nukleové vezikulaci a hyperplazii biliárních epitelových buněk. Léze štítné žlázy spočívaly ve zmenšení velikosti folikulů a koloidní hustotě, zvýšení výšky epitelových buněk a občasném kolapsu folikulů.

Poškození jater a štítné žlázy během 90denního období rekonvalescence závažnosti poklesla.

Jorgenson & Rushbrook (1980) podávali chloroform v pitné vodě samcům potkanů Osborne-Mendelovi 90 dní v koncentracích 0, 200, 400, 600, 900 nebo 1800 mg/litr (rovnají se 0, 20, 38, 57, 81 a 160 mg/kg tělesné hmotnosti denně). Byla pozorována deprese centrálního nervového systému související s koncentrací. Tělesná hmotnost ve skupině s nejvyšší dávkou byla v průběhu studie snížena. Při biochemických vyšetřeních séra nedošlo k žádným významným odchylkám od kontrolních hodnot kromě na dávce závislého zvýšení cholesterolu při dávkách 38 mg/kg tělesné hmotnosti denně nebo více po 60 dnech a snížení triglyceridů ve skupině s nejvyšší dávkou od 30 dnů dále. Po 90 dnech podávání však byly tyto parametry ovlivněny pouze ve dvou skupinách s nejvyšší dávkou. Nebyly hlášeny žádné histopatologické změny související s dávkou.

Expozice samců potkanů F-344 výparům chloroformu po dobu 1 týdne v koncentracích 0, 4,9, 14,7, 49, 147, 490 nebo 1470 mg/m³ vyústily v na koncentraci závislé léze v nosních dutinách. Změny zahrnovaly zvýšený výskyt epiteliálních sliznic v respiračním epitelu nasofaryngeálního meatu a komplexní soubor reakcí ve specifických oblastech ethmoidních turbinátů. NOEL se u těchto odpovědí pohybovala v rozmezí od 14,7 do 490 mg/m³, s histologickými změnami a indukovanou proliferací buněk jsou nejcitlivější parametry (Mery a kol., 1994).

5.3 Dlouhodobá expozice

Bíglům psům (osm pohlaví na dávku) byl podáván chloroform v základu zubní pasty v želatinových kapslích, 6 dní v týdnu po dobu 7,5 roku, v dávkách 15 nebo 30 mg/kg živé hmotnosti denně (Heywood a kol., 1979). Po 6 týdnech léčby došlo u psů, kterým byla podávána vysoká dávka, k významnému zvýšení hladin SGPT. Při nízké dávce byla pozorována signifikantní zvýšení po 34 týdnech léčby a po ní. Podobné účinky nebyly pozorovány v kontrolní skupině s vehikulem (16 psů každého pohlaví) ani ve skupině s neléčenou kontrolou (8 psů každého pohlaví). Na konci této studie byly u obou dávkových skupin pozorovány „tukové cysty“ v játrech. LOAEL v této studii činil 15 mg/kg tělesné hmotnosti denně.

5.4 Toxicita pro reprodukci a vývoj

Nežádoucí účinky na reprodukci u ICR myši byly pozorovány, ale pouze při dávkách, které jsou hepatotoxické (Borzelleca & Carchman, 1982). Existují také některé omezené údaje, které naznačují, že chloroform je toxický pro plod ve studiích na potkanech Sprague-Dawley, ale pouze v dávkách toxických pro

matku (>20 mg/kg tělesné hmotnosti denně) (Thompson et al., 1974; Ruddick a kol., 1983).

5.5 Mutagenita a související koncové body

Výsledky zkoušek genotoxicity chloroformu je třeba zvážit s ohledem na dva důležité aspekty, které by mohly potenciálně ohrozit interpretaci. Za prvé existuje možnost, že ethylkarbonát a diethylkarbonát, produkované reakcí fosgenu s etanolem, který se běžně přidává do chloroformu USP, by mohly vést k falešně pozitivním výsledkům. Za druhé, vzhledem ke své těkavosti musí být chloroform testován v uzavřeném systému, aby se zabránilo falešně negativním výsledkům.

Ve třech samostatných studiích provedených za uzavřených podmínek k zajištění retence chloroformu byly výsledky v Amesově testu negativní. V validovaných systémech *Salmonella typhimurium* a *Escherichia coli* byly výsledky negativní jak s metabolickou aktivací, tak bez ní. Pouze v jednom méně častém testu s *Photobacterium fosforum* byly zaznamenány pozitivní výsledky (Wecher & Scher, 1982).

Chloroform nevyvolával genové mutace v buňkách čínského křečka V79 (Sturrock, 1977) ani chromozomální aberace v lidských lymfocytech *in vitro* (Kirkland a kol., 1981).

Ve třech ze čtyř mikronukleárních testů u myší. byly výsledky negativní (Gocke et al., 1981; Salamone a kol., 1981; Tsuchimoto & Matter, 1981). Ve čtvrtém mikronukleárním testu byl hlášen slabě pozitivní výsledek (San Augustin & Lim-Sylianco, 1978). Stejní autoři zjistili pozitivní účinek v testu zprostředkovaném myším hostitelem se *Salmonella typhimurium* TA1537, ale ne s TA1535.

Při zkoumání potenciálu chloroformu indukovat neplánovanou syntézu DNA *in vitro* a *in vivo* (jednotlivé dávky 238 a 477 mg/kg tělesné hmotnosti žaludeční sondou v kukuřičném oleji) v nejcitlivějším místě pro tvorbu nádoru, v myších játrech, byly výsledky stejnoměrně negativní a odpovídají náznaku, že ani chloroform, ani jeho metabolity nereagují přímo s DNA *in vivo*. V čerstvě připravených primárních kulturách lidských hepatocytů nebylo pozorováno zvýšení opravy DNA z vyřazeného chirurgického materiálu od čtyř různých jedinců vystavených koncentracím až 1 mmol chloroformu na litr (Butterworth et al., 1989).

Vzhledem k velkému počtu citlivých zkoušek, ke kterým byl chloroform předložen, stojí za povšimnutí, že hlášených pozitivních odpovědí je tak málo. Kromě toho bylo těchto několik pozitivních odpovědí náhodně rozděleno mezi různé testy bez zjevného schématu nebo shlukování pro jakýkoli testovací

system. Z průkaznosti důkazů celkově vyplývá, že ani chloroform, ani jeho metabolity zřejmě neinteragují přímo s DNA nebo nemají genotoxickou aktivitu (IPCS, 1994a).

5.6 Karcinogenita

Roe a kol. (1979) podávala 0, 17 nebo 60 mg chloroformu třídy USP na kg tělesné hmotnosti a den v základu zubní pasty (vehikul) myším ICI (kontrolní skupina 104 zvířat každého pohlaví, skupiny s dávkou 52 zvířat každého pohlaví) žaludeční sondou, 6 dní v týdnu po dobu 80 týdnů, poté následovalo 16týdenní období pozorování. Kontrolní zubní pasta neobsahovala eukalyptol a mátový olej, zatímco zubní pasta obsahující chloroform tyto látky obsahovala. Léčba chloroformem vedla k mírnému zvýšení přežívání, zejména u samců. Nejčastější příčinou úmrtí bylo respirační selhání. U zvířat léčených chloroformem byla pozorována mírně zvýšená incidence tukové degenerace a u myších samců došlo k mírnému nárůstu celkového výskytu nádorů. Nádory ledvin (3 hypernefromy a 5 kortikálních adenomů) byly hlášeny u 8 z 38 mužů ve skupině s vysokou dávkou.

V druhém experimentu Roea a kol. (1979) byl vliv mátového oleje, eukalyptolu a chloroformu stanoven odděleně. V této studii dostávali samci myši ICI 60 mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti denně, a to podobným způsobem jako ve studii uvedené výše. Kontrola vehikulem (zubní pasta bez chloroformu, eukalyptol a mátový olej) a skupiny dávek tvořilo 260, respektive 52 samců (skupiny, které dostávaly dávku mátového oleje nebo eukalyptolu, sestávaly rovněž z 52 zvířat). Opět platí, že přežití ve skupině s dávkou chloroformu bylo lepší než v kontrolní skupině. Podání chloroformu však vedlo k frekvenci nádorů na ledvinách 9/49 (2 hypernefropatie a 7 adenomů) ve srovnání s 6/240 u kontrolních skupin.

Ve třetí studii roea a kol. (1979) byla podávána dávka chloroformu 60 mg/kg tělesné hmotnosti v zubní pastě (obsahující eukalyptol a mátový olej) samcům myši (52 v každé skupině) kmenů ICI, CBA, C57BL a CF1 denně po dobu 80 týdnů. Chemická látka byla v arachisovém oleji podávána také myším samcům kmene ICI. Každý kmen měl svou vlastní kontrolní skupinu. Terminální obětování bylo 93, 97–99, 104 a 104 týdnů pro kmeny CF1, ICI, C57BL a CBA. V této studii bylo u všech testovaných kmenů s výjimkou kmene CF1 zjištěno prodloužení přežití související s léčbou. Léčba chloroformem měla za následek vyšší incidenci změn funkce ledvin kmenů CBA a CF1, nikoli však kmene C57BL. Příčinou úmrtí u všech čtyř kmenů byly neoplazie ledvin v kombinaci s respiračním a ledvinovým onemocněním. U kmenů C57BL, CBA a CF1 nebyly pozorovány žádné změny četnosti nádorů. U ICI myši byl po léčbě chloroformem

ve vehikulu na zubní pastu nebo v arachisovém oleji zaznamenán zvýšený výskyt zhoubných nádorů ledvin.

Ve studii kancerogenity NCI myši B6C3F1 (20 zvířat každého pohlaví v kontrolní skupině; 50 zvířat od každého pohlaví v dávkových skupinách) dostávalo chloroform třídy USP stabilizovaný ethanolem (0,5–1 %) v kukuřičném oleji 5krát týdně žaludeční sondou (NCI, 1976a,b). Dávkování bylo po 78 týdnech zastaveno a zvířata byla po 92 týdnech utracena. Úrovně dávky se po 18 týdnech změnilly, což vedlo k časově váženým průměrným úrovním dávek 138 (nízká) a 277 (vysoká) mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti denně u myších samců a 238 (nízká) a 477 (vysoká) mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti samic a den. Podání vyšší dávky chloroformu snížilo přežití u samic myší. Příčiny úmrtí souvisely s pozorovanými nádory jater, plicními záněty a srdeční trombózou. Tato léze nebyla pozorována ani u kontrolní, ani u skupiny s nízkou dávkou. U mužů a žen byla v závislosti na dávce zaznamenána zvýšená incidence hepatocelulárních karcinomů. Myši vykazovaly klinické známky nemoci (tj. snížený příjem potravy a neupravený vzhled), ale jasné informace o neoplastických lézích nebyly poskytnuty.

Zvýšený výskyt nádorů nebyl pozorován při biologické zkoušce karcinogenity, při níž byly samice myší B6C3F1 vystaveny 0, 200, 400, 900 nebo 1800 mg chloroformu na litr pitné vody (počet zvířat: 430, 430, 150, 50 a 50) po dobu 2 let. Tyto koncentrace (monitorované analýzou) odpovídají časově váženým průměrným denním dávkám chloroformu 0, 34, 65, 130 a 263 mg/kg tělesné hmotnosti (Jorgenson a kol., 1985). Shodné kontroly (50 samic) dostávaly množství vody bez chloroformu, které se rovnalo spotřebovanému skupinou 1800 mg/l. Zpočátku 25 % zvířat ve dvou skupinách s nejvyšší dávkou uhynulo, později však byla úmrtnost víceméně stejná jako v kontrolní skupině. Po 3 měsících měla játra zvířat vystavených koncentracím chloroformu 65 mg/kg živé hmotnosti denně nebo více vyšší obsah tuku než játra kontrol (zkoumané chemickými technikami). Po 6 měsících se zvýšil obsah tuku v játrech ve všech exponovaných skupinách. Údaje o hmotnosti orgánů nebyly poskytnuty. Nebyly pozorovány žádné účinky související s léčbou ani na játra, ani na celkový výskyt nádorů.

Palmer et al. (1979) vystavilo 50 samců a 50 samic potkanů SPF Sprague-Dawley dávce 60 mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti denně po dobu 80 týdnů, poté je po 95 týdnech obětovalo. Stejný počet ovládacích prvků byl upraven zubní pastou obsahující esenciální oleje. Respirační onemocnění bylo pozorováno u obou pohlaví. V 95. týdnu bylo přežití 32 % u exponovaných mužů a 22 % u kontrol. U samic bylo přežití 26 % u exponovaných zvířat a 14 % u kontrol. V incidenci žádných nádorů nebyly významné rozdíly. Došlo k významnému poklesu cholinesterázy v plazmě. Přestože došlo k významnému poklesu relativní hmotnosti jater, nebyly nalezeny žádné histologické důkazy o toxicitě.

Krasy Osborne-Mendel (20 zvířat každého pohlaví v kontrolní skupině; 50 zvířat každého pohlaví na jednu dávkovou skupinu) dostávalo chloroform třídy USP stabilizovaný ethanolom (0,5-1%) v kukuřičném oleji 5krát týdně žaludeční sondou (NCI, 1976a,b). Dávkování bylo zastaveno po 78 týdnech a zvířata byla utracena po 111 týdnech. Hladiny dávek se po 23 týdnech změny, což vedlo k časově váženým průměrným denním dávkám 90 a 180 mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti u samců a 100 a 200 mg chloroformu na kg živé hmotnosti u samic. Podání chloroformu snížilo přežití u samců i samic potkanů ve všech dávkových skupinách. Jasný patologický důvod tohoto účinku u potkanů nebyl uveden. U samců potkanů byla v závislosti na dávce pozorována zvýšená četnost nádorů epitelu ledvin. U samic bylo zjištěno nesignifikantní zvýšení frekvence nádorů štítné žlázy. U potkanů se projevíly klinické známky onemocnění (tj. snížený příjem potravy a neupravený vzhled). Nebyly však poskytnuty jasné informace o jiných než neoplastických lézích.

Reuber (1979) přehodnotil histologické úseky studie NCI (1976a,b) a hlásila stejné neoplastické léze jako NCI. Navíc si všiml, že u samic potkanů dodávaných chloroformem se vyvinuly jaterní léze, které nebyly u kontrolních samic pozorovány.

Samci potkanů Osborne-Mendel byli vystaveni 0, 200, 400, 900 nebo 1800 mg chloroformu na litr pitné vody (počet zvířat: 330, 330, 150, 50 a 50) po dobu 2 let (Jorgenson a kol., 1982). Tyto koncentrace (monitorované analýzou) odpovídají časově váženým průměrným denním dávkám chloroformu 0, 19, 38, 81 a 160 mg/kg tělesné hmotnosti (Jorgenson a kol., 1985). Porovnané kontroly obdržely množství vody bez chloroformu, které se rovnalo množství spotřebovanému skupinou o objemu 1800 mg/l. Další potkani byli použiti pro střední biochemické a histopatologické vyšetření. Jako pravděpodobný důsledek sníženého pití alkoholu a snížené tělesné hmotnosti se snížila úmrtnost se zvyšující se dávkou chloroformu a ve sladěné kontrolní skupině. Biochemické vyšetření krve po 6, 12 a 18 měsících ukázalo, že hladiny chloru, draslíku, celkového železa a albuminu a poměru albumin/globulin se po léčbě chloroformem obvykle zvyšovaly, zatímco hladiny cholesterolu, triglyceridů a laktátdehydrogenázy byly sníženy ve všech léčených skupinách. Tyto odchylky byly také pozorovány u odpovídajících kontrol, ale poklesy sérových hladin triglyceridů a cholesterolu byly závažnější při dvou nejvyšších dávkách než u odpovídající kontrolní skupiny. Údaje o hmotnosti orgánů nebyly poskytnuty. Jediným zřetelným účinkem závislým na dávce bylo zvýšení adenomu ledvinných tubulárních buněk a adenokarcinomů. Od 38 mg/kg tělesné hmotnosti denně směrem nahoru byla četnost všech nádorů ledvin statisticky významná. Přestože zvýšený výskyt non-neoplastických histopatologických účinků nebyl hlášen, histologické řezy byly v poslední době přehodnoceny (ILSI v přípravě).

V řadě iniciačních/propagačních testů v játrech chloroform indukci nádoru nezahájil. Přestože chloroform měl v několika studiích propagační aktivitu, zejména při podávání v kukuřičném oleji (Capel et al., 1979; Deml & Oesterle, 1985, 1987), inhiboval růst nebo tvorbu prekancerózních nebo rakovinných buněk ve většině testů v játrech (Pereira a kol., 1985; Herren-Freund & Pereira, 1986; Klaunig a kol., 1986; Reddy a kol., 1992) a v několika v trávicím traktu (Daniel a kol., 1989, 1991).

5.6.1 Mechanismus karcinogenity

Váha dostupných důkazů naznačuje, že chloroform má jen malou, pokud vůbec nějakou, schopnost vyvolat genovou mutaci nebo jiné typy přímého poškození DNA. Navíc se nezdá, že by chloroform byl schopen iniciovat jaterní nádory u myši nebo indukovat neplánovanou syntézu DNA in vivo (IPCS, 1994a).

Vzorec karcinogenity indukované chloroformem u hlodavců v dosud prováděných biologických zkouškách lze shrnout takto. Chloroform vyvolával nádory jater u myši B6C3F1 (samců i samic), pokud byl podáván žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách v rozmezí 13– 477 mg/kg živé hmotnosti denně (NCI, 1976a,b). Při podání podobných dávek stejnému kmenu v pitné vodě však nedošlo ke zvýšení výskytu nádorů jater (Jorgenson a kol., 1985). Nádory jater jsou proto pozorovány pouze u myši po podání žaludeční sondou v kukuřičném oleji. Toto pozorování je v souladu s pozorováním v iniciačních/propagačních testech, v nichž chloroform podporoval vznik nádorů jater, zejména při podávání sondou ve vehikulu s kukuřičným olejem.

Chloroform také indukuje nádory ledvin, ale v menší míře než nádory jater u myši. Chloroform vyvolal nádory ledvin u samců Osborne-Mendelových potkanů v dávkách 90– 200 mg/kg tělesné hmotnosti denně v kukuřičném oleji žaludeční sondou (NCI, 1976a,b). U tohoto kmene však byly výsledky podobné, když byla chemická látka podána v pitné vodě, což naznačuje, že reakce není zcela závislá na použitém vehikulu (Jorgenson a kol., 1985). Je však třeba poznamenat, že při vyšších dávkách v této studii došlo k významnému snížení tělesné hmotnosti. Při časném, omezenějším zkoumání došlo ke zvýšení nádorů ledvin u ICI myši, nikoli však u myši CBA, C57BL nebo CF1, kterým byl podán chloroform žaludeční sondou v zubní pastě (Roe a kol., 1979). Proto je tumorigenní odpověď v ledvinách, i když byla pozorována jak u potkanů, tak u myši (samců), vysoce kmenově specifická.

Za účelem prozkoumání možné úlohy replikativních proliferativních účinků v karcinogenitě chloroformu byla provedena široká škála studií, ve kterých byly zkoumány replikativní proliferativní účinky u podobných kmenů potkanů a myši

vystavených podobným dávkám nebo koncentracím chloroformu, i když po kratší dobu, jako v hlavních karcinogenezních biotestech (Larson et al., 1993, 1994a,b,c, 1995a,b, 1996; Lipsky a kol., 1993; Pereira, 1994; Templin a kol., 1996a,b,c). Většina z těchto studií zahrnovala hodnocení histopatologických změn a proliferace buněk v ledvinách a játrech, ta byla stanovena jako index značení BrdU v histologických tkáňových řezech.

Váha důkazů týkajících se genotoxicity, pohlavní a kmenové specifičnosti a shody cytotoxicity, regenerační proliferace a nádorů je v souladu s hypotézou, že výrazná cytotoxicita souběžná s obdobím trvalé buněčné proliferace může být základem sekundárního mechanismu nelineární indukce metabolitem nádorů souvisejících s chloroformem. Průkaznost důkazů je v tomto ohledu nejsilnější u nádorů jater a ledvin u myši, ale omezenější u nádorů ledvin u potkanů.

Konkrétně byly po podání sondou v kukuřičném oleji důsledně pozorovány histopatologické účinky a regenerační proliferace, nikoli však následně podávání žaludeční sondou v pitné vodě nebo kontinuální podávání v pitné vodě v játrech myši B6C3F1 (Larson et al., 1994a; Pereira, 1994) a ledviny F344 potkani (Lipsky a kol., 1993; Larson a kol., 1994b). Tyto údaje jsou v souladu s hypotézou, že chloroformem vyvolaná rakovina po podání žaludeční sondy je druhotná ve vztahu k příhodám spojeným s indukovanou cytoletalitou a proliferací buněk. Výsledky dostupných studií také ukazují, že proliferativní odpověď je menší, pokud expozice není kontinuální (např. inhalace po dobu 5 dní v týdnu versus 7 dní v týdnu) (Larson et al., 1996; Templin a kol., 1996c) a vrací se na výchozí úroveň po období rekonvalescence.

Korelace u nádorů ledvin u potkanů jsou méně zřetelné především kvůli relativnímu nedostatku údajů o středních koncových bodech a rakovině ledvin u různých kmenů a obou pohlaví. Existují určité důkazy o rozdílech v citlivosti mezi kmeny, přičemž nejcitlivější jsou kmeny s nejzávažnějším onemocněním ledvin; dostupné údaje jsou však v tomto ohledu omezené. Nádory se vyskytují v místě poškození ledvin po expozici žaludeční sondou v kukuřičném oleji i v pitné vodě. Na základě studií provedených primárně u kmene potkanů, u kterého nebyly pozorovány nádory, je možný mechanismus účinku na karcinogenitu v ledvinách na základě cytotoxicity a tubulární regenerace buněk.

V nedávném recenzním článku (Chiu a kol., 1996) chybí pozorování histopatologických účinků u testovacích skupin s nádory a chybí korelace mezi cytotoxicitou a nádory ledvin jednotlivých potkaních samců při pitvě ve studii Jorgenson et al. (1982) jsou považovány za neslučitelné s výše uvedeným zdánlivě přijatelným mechanismem. Snímky z této biologické zkoušky byly nedávno přehodnoceny (ILSI, v přípravě).

Na základě studií provedených primárně u potkanů F344 jsou dostupné údaje konzistentní s mechanismem účinku kancerogenity v ledvinách na základě tubulární regenerace buněk. Studie u tohoto kmene naznačují, že chloroform způsobuje poškození a zvyšuje replikaci buněk v ledvinách při dávkách podobných těm, které vyvolávají nádory u Osborne-Mendelových potkanů po žaludeční sondě v kukuřičném oleji po dobu až 3 týdnů (Larson a kol., 1995a,b). U potkanů f344 vystavených koncentracím v pitné vodě, které byly podobné těm, které vyvolávaly nádory u Osborne-Mendelových potkanů v biotestu kancerogeneze jorgensena a kol., však nebyla zaznamenána žádná jednoznačná dávková odpověď na poškození ledvin nebo proliferaci. (1985) (Larson a kol., 1995b). V jediné studii, ve které byla porovnávána proliferativní odpověď u potkanů F344 a Osborne-Mendel 2 dny po podání jedné sondy, se dospělo k závěru, že tyto kmeny byly přibližně stejně citlivé na poškození ledvin způsobené chloroformem, ačkoli statisticky významné zvýšení indexu označování bylo pozorováno při mnohem nižší dávce u potkanů Osborne-Mendel (10 mg/kg tělesné hmotnosti) než u potkanů F344 (90 mg/kg tělesné hmotnosti); toto poslední pozorování mohlo být funkcí nízké hodnoty v kontrolách u krys Osborne-Mendel.

Údaje o proliferativní odpovědi u kmene, u kterého byly pozorovány nádory ledvin (Osborne-Mendelovi potkani), jsou omezeny na vyšetření 2 dny po jednorázovém podání žaludeční sondou v kukuřičném oleji (Templin a kol., 1996b); studie, ve kterých byla zkoumána proliferativní odpověď u Osborne-Mendelových potkanů po podání v pitné vodě, nebyly identifikovány. I když výsledky této studie nejsou v rozporu se způsobem působení indukce nádorů založeným na tubulární buněčné regeneraci, jsou samy o sobě považovány za nedostatečné kvantitativně charakterizovat vztah mezi dávkou a odezvou pro střední koncový bod pro indukci rakoviny.

5.7 Další speciální studie

Společnost Balster & Borzelleca (1982) podávala chloroform ve vodě samcům myši ICR (8–12 ve skupině) a zkoumala jejich účinnost v baterii neurobehaviorálních testů (několik expozičních období a několik úrovní dávek). Jediným pozorovaným účinkem byla snížená úspěšnost testu operantního chování po 60 dnech podávání 100 nebo 400 mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti ve vodě. Při hladině chloroformu 400 mg/kg živé hmotnosti uhynula přibližně polovina ošetřených zvířat. Po 90 dnech podávání 31 mg chloroformu na kg tělesné hmotnosti ve vodě nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky na chování.

Podle Burkhalter & Balster (1979) nemělo orální podání chloroformu myším od 3 týdnů před pářením až do konce kojící periody (u obou pohlaví byla dávka 31 mg/kg tělesné hmotnosti) za následek zpomalení vývoje odpovědí na baterii neurobehaviorálních testů u mlád'at.

5.8 Faktory ovlivňující toxicitu

In vivo toxicita chloroformu se modifikuje řadou faktorů. Rychlost jeho biotransformace je významným určujícím faktorem jeho toxicity. Proto faktory, které zvyšují nebo snižují biotransformaci chloroformu, mohou změnit intenzitu toxicity vyvolané chloroformem. Navíc aktivity enzymů, které metabolizují chloroform, mohou být expozicí chemickým látkám zvýšeny nebo sníženy a expozice samotnému chloroformu může změnit metabolismus chloroformu.

Kromě rozdílů v rychlosti bioaktivace chloroformu jsou důležitými determinanty chloroformem navozené toxicity také léčby, které mění citlivost. Buněčná koncentrace glutathionu je důležitým určujícím faktorem citlivosti a perturbace glutathionové homeostázy může výrazně ovlivnit toxicitu chloroformu.

V experimentálních studiích zvýšily kontaminující látky v pitné vodě kyselinu monochloroctovou, kyselinu dichloroctovou a kyselinu trichloroctovou toxicitu chloroformu, i když mechanismy nebyly rozpracovány (Davis, 1992; Davis & Berndt, 1992).

6. EFFECTS ON HUMANS

Chloroform obecně vyvolává u člověka stejné příznaky toxicity jako u zvířat. U člověka může anestezie vést k úmrtí v důsledku respiračních a srdečních arytmií a selhání. U lidí byly také pozorovány nekróza ledvinných tubulů a dysfunkce ledvin. Nejnižší hladiny, při kterých byla jaterní toxicita v důsledku expozice chloroformu při práci hlášena, se pohybují v rozmezí 80–160 mg/m³ (s dobou expozice kratší než 4 měsíce) v jedné studii a v rozmezí 10–1 000 mg/m³ (s dobou expozice 1–4 roky) v jiné studii (IPCS, 1994a). Průměrná smrtelná orální dávka pro dospělého člověka je odhadována asi na 45 g, ale objevují se velké interindividuální rozdíly v citlivosti.

Analytické epidemiologické studie možných souvislostí mezi požitím chlorované pitné vody a kolorektálním karcinomem byly provedeny v USA ve Wisconsinu (Young a kol., 1990), New Yorku (Lawrence a kol., 1984) a Iowě (Cantor a kol., 1996). Podobná vyšetření rakoviny močového měchýře byla provedena v Coloradu, USA (McGeehin a kol., 1993), Ontariu, Kanadě (King & Marrett, 1996) a Iowě, USA (Cantor a kol., 1996). Kumulativní expozice THM byla mírně

vyšší v New Yorku než ve Wisconsinu, ale ani v jedné studii nebylo pozorováno zvýšené riziko rakoviny tlustého střeva spojené s expozicí THM. Dosud nahlášené údaje ze studie v Iowě naznačují, že rakovina tlustého střeva nebyla spojena s odhady dřívější expozice vedlejším produktům chlorace, ale riziko rakoviny konečníku bylo spojeno s měřítky expozice vedlejším produktům chlorace, délkou expozice chlorované vodě a zvyšujícím se množstvím celoživotní expozice THM. Hladiny THM nebyly hlášeny. V této době je nutno považovat důkazy o souvislosti mezi expozicí THM u rakoviny pitné vody a rekta za neprůkazné. Nejsou k dispozici žádné důkazy naznačující zvýšené riziko rakoviny tlustého střeva, ale studie byly provedeny v oblastech, kde jsou kumulované expozice obecně nízké.

Údaje dosud nahlášené ze studie v Iowě naznačují, že riziko rakoviny močového měchýře není spojeno s odhady dřívější expozice vedlejším produktům chlorace, s výjimkou mužů a kuřáků, u nichž se riziko rakoviny močového měchýře zvyšovalo s délkou expozice po kontrole kvůli kouření cigaret. S expozicí THM v Coloradu nebylo spojeno žádné zvýšené riziko rakoviny močového měchýře; kumulovaná expozice v této studii byla podobná jako v New Yorku a Wisconsinu, kde nebylo zvýšené riziko rakoviny tlustého střeva. V ontariu king & marrett (1996) zjistili zvýšené riziko rakoviny močového měchýře s prodlužující se dobou expozice hladinám THM, nicméně až po 35 a více letech expozice je tato asociace statisticky významná a vyššího rozsahu. Výskyt rakoviny močového měchýře byl asi o 40 % vyšší u osob exponovaných THM ve vodě více než 1956 ($\mu\text{g/litr}$) let ve srovnání s osobami vystavenými působení méně než 584 ($\mu\text{g/litr}$) let. Ačkoli na základě dostupných údajů nelze dospět k závěru, že tato souvislost je kauzální, pozorování asociací v dobře provedených studiích, kde byly expozice největší, nelze snadno odmítnout; stupeň důkazů by však měl být považován za omezený. Kromě toho není možné tyto excesy připisovat chloroformu jako takovému, i když se obecně jedná o dezinfekční vedlejší produkt přítomný v nejvyšší koncentraci v pitné vodě. Došlo také k menšímu počtu epidemiologických výzkumů souvislostí mezi konzumací chlorované pitné vody a vývojovými/reprodukčními účinky. V nedávném přehledu relevantních informací Reif a kol. (1996) dospěl k závěru, že stávající databáze nedostačuje k určení spojitosti mezi expozicí dezinfekčním vedlejším produktům a nepříznivými účinky na reprodukci a vývoj, přičemž upozorňuje zejména na proměnlivost hodnocení expozice a zkoumaných konečných bodů a na možnost chybné klasifikace a matoucí expozice.

7. SMĚRNÁ HODNOTA

Váha důkazů pro genotoxicitu je považována za negativní (IPCS, 1994a). Váha důkazů u nádorů jater u myši je konzistentní s prahovým mechanismem indukce.

I když je možné, že nádory ledvin u potkanů mohou být obdobně spojeny s prahovým mechanismem, existují v tomto ohledu určitá omezení databáze.

Na základě TDI pro prahové účinky lze proto vypracovat směrnou hodnotu. Nejuniverzálněji pozorovaným toxickým účinkem chloroformu je poškození centrilobulární oblasti jater. Závažnost těchto účinků na podanou jednotkovou dávku závisí na druhu, vehikulu a způsobu, jakým se chloroform podává. Nejnížší dávka, při které bylo pozorováno poškození jater, je 15 mg/kg živé hmotnosti denně, podávaná bíglům psům v základu zubní pasty po dobu 7,5 roku. Účinky při nižších dávkách nebyly zkoumány. Poněkud vyšší dávky jsou nutné k vyvolání hepatotoxických účinků u jiných druhů. Účinky v proximálních tubulech kůry ledvin byly pozorovány u samců myši citlivých kmenů a u samců i samic potkanů několika kmenů. V některých studiích byly u citlivých kmenů zaznamenány hladiny vyvolávající nežádoucí histopatologické účinky v rozmezí 30 mg/kg tělesné hmotnosti denně.

Na základě studie Heywooda a kol. (1979), ve kterém byla pozorována mírná hepatotoxicita (zvýšení jaterních sérových enzymů a tukových cyst) u bíglů, kteří požívali 7,5 roku v zubní pastě 15 mg/kg tělesné hmotnosti denně a zahrnovali faktor nejistoty 1000 (100 pro mezidruhovou a intradruhovou variaci a 10 pro použití LOAEL namísto NOAEL a subchronické studie), se odvozuje TDI 13 µg/kg tělesné hmotnosti (korigováno na dávkování 6 dní v týdnu). Přidělení 50% celkového příjmu do pitné vody je rozumným selháním na základě odhadů průměrné expozice, které naznačují, že celková populace je vystavena chloroformu především v potravinách, pitné vodě a vnitřním vzduchu v přibližně stejných množstvích a že většina chloroformu ve vnitřním vzduchu je přítomen v důsledku odpařování z pitné vody. Kromě toho je populace dodatečně vystavena dermalně chloroformu v pitnou vodou během sprchování. Na základě průměrné tělesné hmotnosti 60 kg a při denním požití 2 litrů pitné vody je směrná hodnota 200 µg/l (zaokrouhlený údaj).

Je třeba poznamenat, že koncentrace pitné vody při nadměrném celoživotním riziku vzniku rakoviny, odhadnutá na základě výchozího linearizovaného víceúrovňového modelu pro nádory ledvin u potkanů, je podobná hodnotě, která byla vyvinuta na základě jiných než neoplastických účinků.

Upozorňuje se, že v případech, kdy místní okolnosti vyžadují, aby byla učiněna volba mezi splněním mikrobiologických pokynů nebo pokynů pro dezinfekci vedlejších produktů, jako je chloroform, musí mít vždy přednost mikrobiologická kvalita. Účinná dezinfekce nesmí být nikdy ohrožena.

8. REFERENCE

Abdel-Rahman HS (1982) The presence of trihalomethanes in soft drinks. *Journal of Applied Toxicology*, 2:165–166.

ATSDR (1993) Toxicological profile for chloroform (update). Atlanta, GA, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Balster RL, Borzelleca JF (1982) Behavioral toxicity of trihalomethane contaminants of drinking water in mice. *Environmental Health Perspectives*, 46:127–136.

Bätjer K et al. (1980) Chloroform emission into urban atmosphere. *Chemosphere*, 9:311–316.

Bauer U (1981) [Human exposure to environmental chemicals - investigations on volatile organic halogenated compounds in water, air, food and human tissues. III. Communication: results of investigations.] *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene, 1. Abteilung Originale B, Hygiene*, 174:200–237 (in German).

Borzelleca JF, Carchman RA (1982) Effect of selected organic drinking water contaminants on male reproduction. Research Triangle Park, NC, US Environmental Protection Agency (EPA 600-/1-82-009; PB82-259847).

Budavari S, O'Neill M, Smith A, eds. (1989) *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals*, 11th ed. Rahway, NJ, Merck and Co.

Bull RJ et al. (1986) Enhancement of the hepatotoxicity of chloroform in B6C3F1 mice by corn oil: implications for chloroform carcinogenesis. *Environmental Health Perspectives*, 69:49–58.

Burkhalter JE, Balster RL (1979) Behavioral teratology evaluation of trichloromethane in mice. *Neurobehavioral Toxicology*, 1:199–205.

Butterworth BE et al. (1989) Use of primary cultures of human hepatocytes in toxicology studies. *Cancer Research*, 49:1075–1084.

Cantor KP, Lynch CF, Hildeshiem M (1996) Chlorinated drinking water and risk of glioma: a case– control study in Iowa, USA. *Epidemiology*, 7(4)(Suppl.):S83.

Capel ID et al. (1979) The effect of chloroform ingestion on the growth of some murine tumours. *European Journal of Cancer*, 15:1485–1490.

Chiu N et al. (1996) Characterization of cancer risk associated with exposure to chloroform. *Journal of Environmental Science and Health*, C14:81–104.

Chu I et al. (1982) Toxicity of trihalomethanes. II. Reversibility of toxicological changes produced by chloroform, bromodichloromethane, chlorodibromomethane and bromoform in rats. *Journal of Environmental Science and Health*, B17:225–240.

Daft JL (1988) Fumigant contamination during large-scale food sampling for analysis. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 17:177–181.

Daft JL (1989) Determination of fumigants and related chemicals in fatty and non-fatty foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 37:560–564.

Daniel FB et al. (1989) Chloroform inhibition of 1,2-dimethylhydrazine-induced gastrointestinal tract tumors in the Fischer 344 rat. *Fundamental and Applied Toxicology*, 13:40–45.

Daniel FB et al. (1991) Site-specific modulation of carcinogen-induced gastrointestinal tract nuclear anomalies in B6C3F1 mice by chloroform. *Anticancer Research*, 11:665–670.

Davis ME (1992) Dichloroacetic acid and trichloroacetic acid increase chloroform toxicity. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 37:139–148.

Davis ME, Berndt WO (1992) Sex differences in monochloroacetate pretreatment effects on chloroform toxicity in rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 18:66–71.

Deml E, Oesterle D (1985) Dose-dependent promoting activity of chloroform in rat liver foci bioassay. *Cancer Letters*, 29:59–63.

Deml E, Oesterle D (1987) Dose-response of promotion by polychlorinated biphenyls and chloroform in rat liver foci bioassay. *Archives of Toxicology*, 60:209–211.

den Hartog JC (1980) [Analysis of gaseous organic components in the outdoor air.] Rijswijk, TNO, Prins Maurits Laboratory (Report PML-TNO No. 1980-182) (in Dutch).

den Hartog JC (1981) [Analysis of gaseous organic components in the outdoor air.] Rijswijk, TNO,

Prins Maurits Laboratory (Reports PML-TNO Nos. 1981-149, 1981-155, 1981-158) (in Dutch).

Entz RC, Thomas KW, Diachenko GW (1982) Residues of volatile halocarbons in foods using headspace gas chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 30:846–849.

Environment Canada (1992) Volatile organic compounds measurements in Canadian urban and rural areas: 1989–1991. Ottawa, Ontario, Environment Canada, Technology Development Branch (Internal Report 92-75.16).

Gocke E et al. (1981) Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European Communities. *Mutation Research*, 90:91–109.

Health Canada (1995) A national survey of chlorination byproducts in Canadian drinking water. Ottawa, Ontario, Health Canada, Environmental Health Directorate (95-EHD-197).

Herren-Freund SL, Pereira MA (1986) Carcinogenicity of by-products of disinfection in mouse and rat liver. *Environmental Health Perspectives*, 69:59–65.

Heywood R et al. (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. III. Long-term study in beagle dogs. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:835–851.

IARC (1979) Chloroform. In: Some halogenated hydrocarbons. Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 401–427 (IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 20).

ILSI (in preparation) An evaluation of EPA's proposed guidelines for carcinogen risk assessment using chloroform and dichloroacetate as case studies: Report of an expert panel. Washington, DC, International Life Sciences Institute, Health and Environmental Sciences Institute.

IPCS (1994a) Chloroform. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 163).

IPCS (1994b) Assessing human health risks of chemicals: derivation of guidance values for health-based exposure limits. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 170).

ISO (1997) Water quality — Determination of highly volatile halogenated hydrocarbons — Gas- chromatographic methods. Geneva, International Organization for Standardization (ISO10301: 1997 (E)).

Jo WK, Weisel CP, Liroy PJ (1990a) Routes of chloroform exposure and body burden from showering with chlorinated tap water. *Risk Analysis*, 10:575–580.

Jo WK, Weisel CP, Liroy PJ (1990b) Chloroform exposure and the health risk associated with multiple uses of chlorinated tap water. *Risk Analysis*, 10:581–585.

Jorgenson TA, Rushbrook CJ (1980) Effects of chloroform in the drinking water of rats and mice.

Ninety-day subacute toxicity study. Washington, DC, US Environmental Protection Agency (EPA-600/1-80-030; NTIS PB80-219108).

Jorgenson TA, Rushbrook CJ, Jones DC (1982) Dose–response study of chloroform carcinogenesis in the mouse and rat: status report. *Environmental Health Perspectives*, 46:141–149.

Jorgenson TA et al. (1985) Carcinogenicity of chloroform in drinking water to male Osborne-Mendel rats and female B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 5:760–769.

Kerfoot HB (1987) Shallow-probe soil-gas sampling for indication of ground-water contamination by chloroform. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 30:167–181.

King WD, Marrett LD (1996) Case–control study of bladder cancer and chlorination by-products in treated water. *Cancer Causes and Control*, 7:596–604.

Kirkland DJ, Smith KL, van Abbé NJ (1981) Failure of chloroform to induce chromosome damage or sister-chromatid exchanges in cultured human

lymphocytes and failure to induce reversion in *Escherichia coli*. *Food and Cosmetics Toxicology*, 19:651–656.

Klaunig JE, Ruch RJ, Pereira MA (1986) Carcinogenicity of chlorinated methane and ethane compounds administered in drinking water to mice. *Environmental Health Perspectives*, 69:89–95.

Krasner SW et al. (1989) The occurrence of disinfection by-products in U.S. drinking water. *Journal of the American Water Works Association*, 81:41–53.

Lahl U et al. (1981a) Distribution and balance of volatile halogenated hydrocarbons in the water and air of covered swimming pools using chlorine for water disinfection. *Water Research*, 15:803–814.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1993) Acute hepatotoxic and nephrotoxic effects of chloroform in male F-344 rats and female B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 20:302–315.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1994a) Induced cytotoxicity and cell proliferation in the hepatocarcinogenicity of chloroform in female B6C3F1 mice: comparison of administration by gavage in corn oil vs ad libitum in drinking water. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22:90–102.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1994b) Induced cytolethality and regenerative cell proliferation in the livers and kidneys of male B6C3F1 mice given chloroform by gavage. *Fundamental and Applied Toxicology*, 23(4):537–543.

Larson JL et al. (1994c) The toxicity of 1-week exposures to inhaled chloroform in female B6C3F1 mice and male F-344 rats. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22:431–446.

Larson JL et al. (1995a) Toxicity and cell proliferation in the liver, kidneys and nasal passages of female F-344 rats, induced by chloroform administered by gavage. *Food and Chemical Toxicology*, 33(6):443–456.

Larson JL, Wolf DC, Butterworth BE (1995b) Induced regenerative cell proliferation in livers and kidneys of male F-344 rats given chloroform in corn oil by gavage or ad libitum in drinking water. *Toxicology*, 95:73–86.

Larson JL et al. (1996) A 90-day chloroform inhalation study in female and male B6C3F1 mice: implications for cancer risk assessment. *Fundamental and Applied Toxicology*, 30(1):118–137.

Lawrence CE et al. (1984) Trihalomethanes in drinking water and human colorectal cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 72:563–568.

Levesque B et al. (1994) Evaluation of dermal and respiratory chloroform exposure in humans. *Environmental Health Perspectives*, 102(12):1082–1087.

Lipsky MM, Skinner M, O'Connell C (1993) Effects of chloroform and bromodichloromethane on DNA synthesis in male F344 rat kidney. *Environmental Health Perspectives*, 101(Suppl. 5):249–252.

Maxwell NI, Burmaster DE, Ozonoff D (1991) Trihalomethanes and maximum contaminant levels: the significance of inhalation, dermal exposures to chloroform in household water. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 14:297–312.

McGeehin MA et al. (1993) Case–control study of bladder cancer and water disinfection in Colorado. *American Journal of Epidemiology*, 138(7):492–501.

Mery S et al. (1994) Nasal toxicity of chloroform in male F-344 rats and female B6C3F1 mice following a 1-week inhalation exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 125:214–227.

Munson AE et al. (1982) Toxicology of organic drinking water contaminants: trichloromethane, bromodichloromethane, dibromochloromethane and tribromomethane. *Environmental Health Perspectives*, 46:117–126.

NCI (1976a) Carcinogenesis bioassay of chloroform. Bethesda, MD, National Cancer Institute (NTIS PB-264018/AS). NCI (1976b) Report on carcinogenesis bioassay of chloroform. Bethesda, MD, National Cancer Institute (NTIS PB-264-018).

Oliver BG (1983) Dihaloacetonitriles in drinking water. Algae and fulvic acid as precursors. *Environmental Science and Technology*, 17:80–83.

Otson R, Fellin P, Whitmore R (1992) A national pilot study of airborne VOCs in residences — design and progress. Presented at the 1992 US Environmental Protection Agency/Air & Waste Water

Management Association Symposium on Measurement of Toxic and Related Air Pollutants, Durham, NC, 4–8 May. Pittsburgh, PA, Air & Waste Water Management Association.

Palmer AK et al. (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. II. Long term studies in rats. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:821–833.

Pereira MA (1994) Route of administration determines whether chloroform enhances or inhibits cell proliferation in the liver of B6C3F1 mice. *Fundamental and Applied Toxicology*, 23(1):87–92.

Pereira MA, Knutsen GL, Herren-Freund SL (1985) Effect of subsequent treatment of chloroform or phenobarbital on the incidence of liver and lung tumors, initiated by ethylnitrosourea in 15 day old mice. *Carcinogenesis*, 6:203–207.

Reddy TV et al. (1992) Chloroform inhibits the development of diethylnitrosamine-initiated, phenobarbital-promoted gamma-glutamyltranspeptidase and placental form glutathione S-transferase positive foci in rat liver. *Carcinogenesis*, 13:1325–1330.

Reif JS et al. (1996) Reproductive and developmental effects of disinfection by-products in drinking water. *Environmental Health Perspectives*, 104:1056–1061.

Reuber MD (1979) Carcinogenicity of chloroform. *Environmental Health Perspectives*, 31:171–182.

Roe FJC et al. (1979) Safety evaluation of toothpaste containing chloroform. 1. Long-term studies in mice. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 2:799–819.

Ruddick JV et al. (1983) A teratological assessment of four trihalomethanes in the rat. *Journal of Environmental Science and Health*, B18:333–349.

Salamone MF, Heddle JA, Katz M (1981) Mutagenic activity of 41 compounds in the in vivo micronucleus assay. In: de Serres FJ, Ashby J, eds. *Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the international collaborative study*. Amsterdam, Elsevier North/Holland, pp. 686–697 (Progress in Mutation Research, Vol. 1).

San Augustin J, Lim-Sylianco CY (1978) Mutagenic and clastogenic effects of chloroform. *Bulletin of the Philippine Biochemical Society*, 1:17–23.

Sturrock J (1977) Lack of mutagenic effect of halothane or chloroform on cultured cells using the azaguanine test system. *British Journal of Anaesthesia*, 49:207–210.

Templin MV et al. (1996a) Chloroform-induced cytotoxicity and regenerative cell proliferation in the kidneys and liver of BDF1 mice [abstract]. *The Toxicologist*, 30 (1 part 2):134.

Templin MV et al. (1996b) Comparison of chloroform-induced toxicity in the kidneys, liver, and nasal passages of male Osborne-Mendel and F-344 rats. *Cancer Letters*, 104:71–78.

Templin MV et al. (1996c) A 90-day chloroform inhalation study in F-344 rats: profile of toxicity and relevance to cancer studies. *Fundamental and Applied Toxicology*, 32:109–125.

Thompson DJ, Warner SD, Robinson VB (1974) Teratology studies on orally administered chloroform in the rat and rabbit. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 29:348–357.

Toxicology and Environmental Health Institute of Munich Technical University (1992) [Recommendations on chloroform emission data. BUA plenary session in Merseburg, 24–25 August 1992.] Berlin, Federal Office of the Environment (BUA) (in German).

Tsuchimoto T, Matter BE (1981) Activity of coded compounds in the micronucleus test. In: de Serres FJ, Ashby J, eds. *Evaluation of short-term tests for carcinogens: Report of the international collaborative study*. Amsterdam, Elsevier North/Holland, pp. 705–711 (Progress in Mutation Research, Vol. 1).

Ullrich D (1982) [Organic halogen compounds in the air of some Berlin indoor swimming pools.] *WoBoLu-Berlin*, 1:50–52 (in German).

US EPA (1992) *Disinfection by-products field study data base*. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Ground Water and Drinking Water, Technical Support Division.

Versteegh JFM et al. (1996) *The quality of drinking water in the Netherlands in 1994*. Nieuwegein, KIWA (Report 1996/105, VROM 8323/133).

Wallace LA (1987) *The total exposure assessment methodology (TEAM) study: Summary and analysis*. Vol. I. Washington, DC, US Environmental Protection Agency (EPA/600/6-87/002a).

Wallace LA et al. (1984) Personal exposure to volatile organic compounds. I. Direct measurements in breathing-zone air, drinking water, food and exhaled breath. *Environmental Research*, 35:293–319.

Wecher RA, Scher S (1982) Bioassay procedures for identifying genotoxic agents using light emitting bacteria as indicator organisms. In: Seno M, Pazzagli M, eds. *Luminescent assays: perspectives in endocrinology and clinical chemistry*. New York, NY, Raven Press Ltd., pp. 109–113.

Williams DT et al. (1980) Trihalomethane levels in Canadian drinking water. *Environmental Science Research*, 16:503–512.

Young TB et al. (1990) Case-control study of colon cancer and volatile organics in Wisconsin municipal groundwater supplies. In: Jolley RL et al., eds. *Water chlorination: Chemistry, environmental impact and health effects*. Vol. 6. Chelsea, MI, Lewis Publishers, Inc., p. 373.

B. BROMOVANÉ TRIHALOMETHANY

1. OBECNÝ POPIS

1.1 Identita

<i>Sloučenina</i>	<i>Číslo CAS</i>	<i>Molekulární vzorec</i>
<i>Bromoform</i>	75-25-2	<i>CHBr₃</i>
<i>Dibromchlormethan (DBCM)</i>	124-48-1	<i>CHBr₂Cl</i>
<i>Bromdichlormethan (BDCM)</i>	75-27-4	<i>CHBrCl₂</i>

Trihalomethany (THM) jsou halogenem substituované jednouhlíkové sloučeniny s obecným vzorcem CHX₃, kde X může být fluor, chlor, brom nebo jod, nebo jejich kombinace. Pouze z hlediska kontaminace pitné vody významní jsou čtyři členové skupiny — bromoform, DBCM, BDCM a chloroform (viz část A), přičemž poslední z nich je ten, který se nejčastěji vyskytuje. Název bromoformu podle IUPAC je tribrommethan.

23

TRIHALOMETHANY V PITNÉ VODĚ

1.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti (*Verschueren, 1977; US EPA, 1980, 1985; Hawley, 1981; Hansch & Leo, 1985; Budavari a kol., 1989; Montgomery & Welkom, 1990*)

<i>Vlastnost</i>	<i>Bromoform2</i>	<i>DBCM3</i>	<i>BDCM4</i>
Bod varu (°C)	149–150	119	90
Teplota tání (°C)	8,3	–	-57,1
Hustota při 20°C(g/cm ³)	2,90	2,38	1,98
Tlak par (kPa)	0,75 (25 °C)	2,0 (10 °C)	6,67 (20 °C)
Rozpustnost ve vodě(mg/litr)	3190(30°C)	1050(30°C)	3320(30°C)
Log rozdělovací koeficient oktanol-voda	2,38	2,08	1,88

1.3 Organoleptické vlastnosti

Prahová hodnota zápachu pro bromoform ve vodě je 0,3 mg/litr (Hansch & Leo, 1985; Budavari a kol., 1989).

1.4 Hlavní použití

Bromované THM se používají jako laboratorní reagentie, jako chemické meziproducty pro syntézu organických sloučenin a jako tekutiny pro separaci minerální rudy. Dříve se používaly jako rozpouštědla pro tuky, vosky a pryskyřice a jako zpomalovače hoření. Bromoform se používá jako sedativum a potlačuje kašel (ATSDR, 1989a).

1.5 Osud v životním prostředí

Ve vzduchu mohou být bromované THM degradovány fotooxidativní interakcí s atmosférickými hydroxylovými radikály; jejich typický atmosférický poločas rozpadu je asi 2 měsíce (Radding et al., 1977; US EPA, 1980).

Volatilizace je pro THM významný transportní proces. Odhadovaný poločas odpařování z řek a potoků je 1 hodina až 24 dnů u bromoformu, 0,7 hodiny až 16 dnů u bromoformu DBCM a 0,5–24 h pro BDCM (Mackay a kol., 1982; Kaczmar a kol., 1985).

V anaerobních podmínkách se bromované THM snadno biologicky rozloží během několika dní přítomnost bakterií produkujících metan a v denitrifikačních a sulfátových podmínkách (Bouwer a kol., 1981; Bouwer & McCarty, 1983). Hydrolyza bromované THM ve vodních médiích jsou velmi pomalé; odhadované poločasy jsou 1000, 274 a 686 let pro BDCM, DBCM a bromoform (Mabey et al., 1982). Na základě rozdělovacích koeficientů může dojít k bioakumulaci THM ve vodních organismech, ale pouze v omezené míře (ATSDR, 1989a).

Očekává se, že bromované THM budou mobilní v půdě, a to na základě jejich rozdělovacích koeficientů a údajů ze studií perkolací. Studie ve vodných médiích naznačují, že anaerobní biologický rozklad by mohl být hlavním procesem odstraňování v půdě, pokud je omezována odpařování (ATSDR, 1989a).

. 2 Přepočítací koeficient ve vzduchu: 1 ppm = 10,34 mg/m³

. 3 Přepočítací koeficient ve vzduchu: 1 ppm = 8,52 mg/m³

. 4 Přepočítací koeficient ve vzduchu: 1 ppm = 6,70 mg/m³

2. ANALYTICKÉ METODY

Preferovanou technikou stanovení THM je plynová chromatografie s detekcí pomocí plamenové ionizace, záchytu elektronů nebo hmotnostní spektroskopie (Fishbein, 1985). Postup plynové chromatografiky pro čištění a zachycování je vhodný pro biologické a environmentální vzorky, které jsou rozpustné ve vodě; detekční limit je přibližně 0,5 µg/l (US EPA, 1979).

3. ÚROVNĚ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A EXPOZICE ČLOVĚKA

3.1 Vzduch

Koncentrace ve vnějším ovzduší na několika městských místech v USA byly v průměru 37 ng/m³ u bromoformu, 32 ng/m³ pro DBCM a 7,4 ng/m³ pro BDCM (nejvyšší hodnoty hlášeny byly 0,73; 0,23 a 1,3 µg/m³, resp. Maximální koncentrace bromoforma ve vzorku vzduchu v kanadském Torontu byla 0,1 µg/m³ (54 vzorků) (Environment Canada, 1986; Odbor národního zdravotnictví a sociální péče, 1990).

3.2 Voda

THM vznikají především jako vedlejší produkty chlorace pitné vody. Kyselina hypochlorová oxiduje bromidový iont na tvorbu kyseliny bromové, která reaguje s endogenními organickými materiály (např. huminovými nebo fulvovými kyselinami) a vytváří bromované THM (US EPA, 1980). Množství každého vzniklého THM závisí na teplotě, pH a koncentracích chloru a bromidových iontů (Aizawa et al., 1989). THM se zřídka vyskytují v syrové vodě, ale jsou často přítomny v hotové vodě (Rook, 1974; Boland, 1981).

V kanadském průzkumu zásob vody v 70 obcích byly průměrné koncentrace bromoformu, DBCM a BDCM 0,1, 0,4 a 2,9 µg/litr (Department of National Health and Welfare, 1977). V průzkumu 105 systémů v USA využívajících povrchovou vodu byl bromform nalezen u 14 zásob s hodnotou < 1,0 – 5,7 µg/litr (medián 1,3 µg/litr), DBCM u 70 zásob s hodnotou < 0,5 – 45 µg/litr (medián 3,2

µg/litr) a BDCM u 99 dodávek s hodnotou < 0,5 – 62 µg/litr (medián 8,2 µg/litr). V průzkumu 315 systémů využívajících podzemní vody byl bromform nalezen u 81 zásob při teplotě <1,0-110 µg/l (medián 3,0 µg/litr), DBCM u 107 zásob při teplotě <0,5-32 µg/litr (medián 4,1 µg/litr) a BDCM u 104 zásob při koncentraci <0,5-51 µg/litr (medián 3,5 µg/litr) (Brass et al., 1981).

THM lze nalézt v chlorovaných bazénech, celkové koncentrace se pohybují v rozmezí od 120 do 660 µg/l (Beech, 1980). Koncentrace BDCM byly přibližně stejné ve slané vodě jako ve sladkovodních bazénech (13–34 µg/l) (ATSDR, 1989b).

3.3 Jídlo

BDCM není běžnou kontaminující látkou v potravinách, ale v některých vzorcích byl nalezen ve stopovém množství: 1,2 µg/kg v jednom mléčném kompozitu a 7 µg/kg v másle (Entz et al., 1982).

3.4 Odhadovaná celková expozice a relativní příspěvek pitné vody

Hlavní cesty expozice THM vedou přes pitnou vodu a inhalaci. Kontaminace vnitřního vzduchu z takových zdrojů, jako je odpařování chlorované vody z domácností (např. sprchy, čištění), pravděpodobně přispívá k expozici člověka více než venkovní vzduch.

4. KINETIKA A METABOLISMUS U LABORATORNÍCH ZVÍŘAT A LIDÍ

Dostupné studie ukazují, že vstřebávání v trávicím traktu je vysoké u všech THM (Lehman & Hasegawa, 1910; Norek a kol., 1986). Vzhledem k jejich vysoké lipofilitě je akumulace vyšší v tkáních s vysokým obsahem lipidů, včetně tělesného tuku, jater a ledvin (Mink a kol., 1986).

U potkanů jsou THM oxidovány smíšeným systémem oxidázy jaterního cytochromu P-450 na trihalomethanoly, které se pak rozkládají za vzniku vysoce reaktivních dihalokarbonylů (Gopinath & Ford, 1975; Ahmed a kol., 1977). Množství metabolizované závisí na druhu, u myši je vyšší než u potkanů (Mink a kol., 1986). Vzhledem k tomu, že reaktivní metabolity THM mohou být zodpovědné za jejich toxicitu nebo karcinogenitu (US EPA, 1985), měly by být při extrapolaci údajů o toxicitě nebo karcinogenitě pokusných zvířat na člověka zohledněny mezidruhové rozdíly ve vzorcích metabolismu (Reitz et al., 1978).

K vylučování nezměněných sloučenin a oxidu uhličitého dochází především ve vydechovaném vzduchu, močí se vylučují jen malá množství (Mink a kol., 1986).

5. ÚČINKY NA LABORATORNÍ ZVÍŘATA A TESTOVACÍ SYSTÉMY IN VITRO

5.1 Bromoform

5.1.1 Akutní expozice

Orální hodnoty LD50 pro bromoform podávané ve vodném vehikulu myším samcům a samicím byly 1400, respektive 1550 mg/kg tělesné hmotnosti (Bowman et al., 1978). U samců a samic potkanů, kterým byla v kukuřičném oleji podána bromoform, byly LD50 1388, respektive 1147 mg/kg tělesné hmotnosti (Chu et al., 1980).

5.1.2 Krátkodobá expozice

Bromoform byl podáván v pitné vodě v množstvích 0, 5, 50, 500 nebo 2 500 mg/l (0, 0,6, 7, 52 nebo 250 mg/kg tělesné hmotnosti denně) potkanům Sprague-Dawley (20 pro pohlaví a dávku) po dobu 90 dnů. Při nejvyšší dávce byly pozorovány mírné až středně závažné histologické změny v játrech a štítné žláze a významné zvýšení závažnosti hepatálních lézí a aktivita laktátdehydrogenázy byla významně snížena. Na základě pozorovaného jaterního účinku byla NOAEL 52 mg/kg tělesné hmotnosti na den (Chu a kol., 1982).

Mladým dospělým potkanům (10 jedinců od každého pohlaví na dávku) byla podávána bromoform žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách 0, 12, 25, 50, 100 nebo 200 mg/kg tělesné hmotnosti na den, 5 dní v týdnu po dobu 13 týdnů. Samcům a samicím myši byly podávány denní dávky 0, 25, 50, 100, 200 nebo 400 mg/kg tělesné hmotnosti. Růst nebyl ovlivněn s výjimkou nejvyšší dávky u myších samců, při které byl mírně potlačen. Myši samci při dvou nejvyšších dávkách vykazovali v několika buňkách „minimální až střední“ hepatocelulární vakuolizaci. U samců potkanů byl zaznamenán na dávce závislý nárůst hepatocelulární vakuolizace, která se stala statisticky významnou při dávce 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně. NOAEL pro hepatocelulární vakuolizaci byly 25, resp. 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně u potkaních samců a 100 mg/kg u myších samců (NTP, 1989a).

5.1.3 Dlouhodobá expozice

Účinek krmení bromoformou (mikrozapouzdřenou a smíšenou ve stravě) byl hodnocen u potkanů Wistar SPF (40 u každého pohlaví), kterým byla po dobu 2

let podávána dávka 0,04%, 0,16% nebo 0,65% (18, 71 nebo 480 mg/kg tělesné hmotnosti u samců a 30, 120 nebo 870 mg/kg tělesné hmotnosti u samic). Zvířata, jimž byla podána nejvyšší dávka, vykazovala útlum tělesné hmotnosti, pokles sérových triacylglycerolů, neesterifikovaných mastných kyselin, aktivity glukózy a cholinesterázy, zvýšenou aktivitu γ -glutamyltranspeptidázy a zežloutnutí a zdrsnění povrchu jater. Podobné, ale méně závažné účinky byly pozorovány ve skupinách se střední dávkou. Na základě propadu tělesné hmotnosti a změn sérových enzymů považovali autoři hodnoty NOAEL za 18, respektive 30 mg/kg tělesné hmotnosti na den u samců, respektive samic potkanů (Tobe a kol., 1982).

Potkani obou pohlaví a samice myší (50 na dávku) dostávali bromform žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách 100 nebo 200 mg/kg tělesné hmotnosti denně, 5 dní v týdnu po dobu 2 let. Myší samci dostávali 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Přežití bylo sníženo v porovnání s kontrolami u potkaních samců ve skupině s vysokou dávkou. U potkaních samců bylo také zaznamenáno potlačení růstu v závislosti na dávce, ale samice potkanů vykazovaly nežádoucí účinek na růst pouze při vysokých dávkách. Samečci myší při nižší dávce nevykazovali žádný vliv na růst, ale samice myší vykazovaly mírnou supresi, která jasně nesouvisela s dávkou. Potkani obou pohlaví i samice myší vykazovali v závislosti na dávce zvýšenou incidenci tukových změn (neboli vakuolizace) v játrech. Zvýšený výskyt mírných tukových změn byl zaznamenán jak u myších samic s nízkou dávkou, tak u myších samic s vysokou dávkou, nikoli však u myších samců. HODNOTA LOAEL byla 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně pro hepatocelulární vakuolizaci a potlačení přírůstku hmotnosti u potkanů a samic myší (NTP, 1989a).

5.1.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita

Vliv bromformu na plodnost a reprodukci byl zkoumán u švýcarských myší s CD-1 (20 párů na dávku) dávkovaných po dobu 105 dnů 0, 50, 100 nebo 200 mg/kg živé hmotnosti denně v kukuřičném oleji žaludeční sondou. Žádný zjevný vliv na plodnost nebo reprodukci (např. vrh na pár, živá mláďata na vrh, tělesná hmotnost mláďat) nebyl hlášen u rodičovské ani u generace F1 a reprodukční NOAEL 200 mg/kg tělesné hmotnosti na den byl zjištěn (NTP, 1989b).

5.1.5 Mutagenita a související koncové body

Bromoform byl pozitivní v Amesově testu u *Salmonella typhimurium* kmen TA100 bez aktivace (Simmon et al., 1977; Ishidate et al., 1982) a negativní nebo nejednoznačné u kmenů TA1535 nebo TA1937 s aktivací a bez aktivace (NTP, 1989a). Bromoform dával pozitivní výsledky v těchto testech: chromozomální aberace v buňkách CHO s aktivací (Ishidate et al., 1982) a v buňkách kostní dřene myší in vivo (NTP, 1989a), výměna sesterských chromatid v lidských

lymfocytech (Morimoto & Koizumi, 1983), v buňkách CHO bez aktivace (NTP, 1989a) a v buňkách kostní dřeně myši in vivo (Morimoto & Koizumi, 1983; NTP, 1989a) a genová mutace myších lymfomových buněk (NTP, 1989a). Byla negativní na výměnu sesterských chromatid v buňkách CHO s aktivací (NTP, 1989a) a výsledky byly nejednoznačné v mikronukleovém testu (Ishidate et al., 1982; NTP, 1989a).

5.1.6 Karcinogenita

Pokud byl bromform (4, 48 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti) podáván intraperitoneálně samcům kmene A myším (20 v jedné dávce) 3krát týdně po dobu 8 týdnů a myši byly sledovány dalších 16 týdnů, byl pozorován zvýšený výskyt plicních nádorů při střední dávce (Theiss et al., 1977).

Skupinám 50 myších samců B6C3F1 byl podáván bromform žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách 0, 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně, 5 dní v týdnu po dobu 105 týdnů. Samice dostávaly dávky 0, 100 nebo 200 mg/kg tělesné hmotnosti denně. V žádné tkáni v žádné skupině nebylo hlášeno zvýšení výskytu nádorů. V podobné studii byly potkani Fischer 344/N (50 od každého pohlaví na dávku) také vystaveni bromformaci žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách 0, 100 nebo 200 mg/kg tělesné hmotnosti na den, 5 dní v týdnu po dobu 105 týdnů. Adenomatózní polypy nebo adenokarcinom (kombinovaný) tlustého střeva (tlustého střeva nebo konečníku) byly navozeny u tří samců potkanů, kterým byla podána nejvyšší dávka, a u osmi samic potkanů, kterým byla podána nejvyšší dávka. Zvýšení bylo považováno za významné, protože tyto nádory jsou u kontrolních zvířat vzácné. Na základě těchto údajů se dospělo k závěru, že existují „určité důkazy“ o karcinogenní aktivitě u potkaních samců a „jasné důkazy“ u samic potkanů. U kontrolních potkanů a u potkaních samic se střední dávkou se nádory nevyskytly (NTP, 1989a).

5.2 Dibromchlormethan

5.2.1 Akutní expozice

Orální LD50 pro DBCM podávané ve vodném vehikulu myším samcům a samicím byly 800 mg/kg tělesné hmotnosti, respektive 1200 mg/kg (Bowman a kol., 1978). LD50 u samců a samic potkanů, kterým byla látka v kukuřičném oleji podána, byly 1186, respektive 848 mg/kg tělesné hmotnosti (Chu et al., 1980).

5.2.2 Krátkodobá expozice

DBCM byl podáván v pitné vodě v množstvích 0, 5, 50, 500 nebo 2 500 mg/l (0, 0,6, 7, 52 nebo 250 mg/kg tělesné hmotnosti denně) potkanům Sprague-Dawley

(20 pro pohlaví a dávku) po dobu 90 dnů. Při nejvyšší dávce byly pozorovány mírné až středně závažné histologické změny v játrech a štítné žláze a významné zvýšení závažnosti hepatálních lézí. Na základě pozorovaného jaterního účinku byla NOAEL 52 mg/kg tělesné hmotnosti na den (Chu a kol., 1982).

Fischer 344/N potkanům a B6C3F1 myším (10 od každého pohlaví na dávku) byl podáván DBCM žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávkách 0, 15, 30, 60, 125 nebo 250 mg/kg tělesné hmotnosti za den, 5 dní v týdnu po dobu 13 týdnů. Konečná tělesná hmotnost potkanů, kteří dostávali 250 mg/kg tělesné hmotnosti, byla stlačena. U potkaních samců bylo pozorováno na dávce závislé zvýšení vakuolace jater. Na základě tohoto hepatálního účinku byla NOAEL u potkanů 30 mg/kg tělesné hmotnosti denně. U samců a samic potkanů a samců myší byla při dávkách 250 mg/kg tělesné hmotnosti denně pozorována toxicita pro ledviny a játra. přežití četnosti u léčených zvířat a odpovídající kontroly byly srovnatelné s výjimkou vysokých dávek potkanů. Klinické příznaky u léčených zvířat a u kontrolních skupin byly srovnatelné. sídlící na lézích ledvin a jater byla u myší zjištěna NOAEL 125 mg/kg tělesné hmotnosti denně (NTP, 1985).

5.2.3 Dlouhodobá expozice

Vliv krmení DBCM (mikrozapouzdřeným a smíšeným ve stravě) byl hodnocen u potkanů Wistar SPF (40 u každého pohlaví), kterým byla po dobu 2 let podávána dávka 0,022%, 0,088% nebo 0,35% (10, 39 nebo 210 mg/kg tělesné hmotnosti u samců a 17, 66 nebo 350 mg/kg tělesné hmotnosti u samic). Zvířata, kterým byla podána nejvyšší dávka, vykazovala sníženou tělesnou hmotnost, pokles hladiny sérových triacylglycerolů, neesterifikovaných mastných kyselin, aktivity glukózy a cholinesterázy, zvýšenou aktivitu γ -glutamyltranspeptidázy a zežloutnutí a zdrsnění povrchu jater. Podobné, ale méně závažné nálezy se vyskytovaly ve skupinách se střední dávkou. Na základě propadu tělesné hmotnosti a změn sérových enzymů považovali autoři hodnoty NOAEL u samců potkanů za 10, respektive 17 mg/kg tělesné hmotnosti denně (Tobe a kol., 1982).

Potkanům (50 od každého pohlaví na dávku) byly podávány DBCM žaludeční sondou v kukuřičném oleji v dávce 0, 40 nebo 80 mg/kg tělesné hmotnosti, 5 dní v týdnu po dobu 104 týdnů a myším (50 od každého pohlaví na dávku) byla podávána dávka 0, 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti žaludeční sondou po dobu 105 týdnů. Přežití u potkanů a myších samic bylo srovnatelné ve všech dávkových skupinách, zatímco u myších samců s vysokou dávkou bylo sníženo. Při nehodě s předávkováním v 58. týdnu zahynulo 35 myších samců skupina s nízkou dávkou, takže tato skupina nebyla dále hodnocena. Průměrná tělesná hmotnost potkaních samců s vysokou dávkou a myší obou pohlaví s vysokou dávkou byla nižší než hmotnost vehikula vláda Incidence metamorfózy tuků v

játrech byla zvýšena u samců i samic potkanů a myších samic při nízkých i vysokých dávkách. U myších samců se při vysokých dávkách projeví účinky na játra. Zvýšený výskyt nefrózy ledvin byl zaznamenán u samic potkanů a u samců myši, nikoli však u samců potkanů nebo samic myši. Hyperplazie folikulárních buněk štítné žlázy se objevila ve zvýšeném výskytu u samic myši, nikoli však u samců. Na základě hepatálních lézí byly identifikovány LOAEL 50, respektive 40 mg/kg tělesné hmotnosti denně u myši, respektive potkanů (NTP, 1985).

5.2.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita

Ve vícegenerační reprodukční studii byly skupiny 10 myších samců a 30 samic ICR léčeny DBCM v přípravku Emulphor v dávkách 0, 0,1, 1,0 nebo 4,0 g/l (0, 17, 171 nebo 685 mg/kg tělesné hmotnosti denně) v pitné vodě po dobu 35 dnů, poté byly spářeny; následné rematace se objevily 2 týdny po odstavení. Myši třídy F1 byly léčeny stejným testovacím roztokem po dobu 11 týdnů po odstavení a poté byly spářeny; k přemnožení došlo 2 týdny po odstavení. Při dávkách 17 mg/kg živé hmotnosti denně došlo v generaci F2b pouze k mírnému poklesu tělesné hmotnosti novorozenejších mláďat. Při dávkách 171 mg/kg tělesné hmotnosti denně došlo k významnému poklesu ženské tělesné hmotnosti a zvýšenému výskytu patologie hrubých jater u myši F0 a F1b; léze se lišily v závažnosti od hromadění tuku po odlišnou masu na povrchu jater. I když k němu nedocházelo v každé generaci, došlo k významnému poklesu velikosti vrhu, životaschopnosti mláďat, postnatální tělesné hmotnosti a laktačního indexu. Při dávce 685 mg/kg tělesné hmotnosti denně byly účinky stejného typu, ale závažnější. Přírůstek tělesné hmotnosti byl významně snížen u samců i samic při nejvyšší dávce (685 mg/kg tělesné hmotnosti denně) a u samic při střední dávce (171 mg/kg tělesné hmotnosti denně). Zvířata v obou těchto skupinách vykazovala zvětšená játra s hrubými morfologickými změnami. Navíc došlo k významnému snížení gestačního indexu, fertility a přežití generace F1. Na základě mateřské toxicity a fetotoxicity byla zjištěna NOAEL 17 mg/kg tělesné hmotnosti denně (Borzelleca & Carchman, 1982).

5.2.5 Mutagenita a související koncové body

DBCM byl v Amesově testu pozitivní s kmenem *S. typhimurium* TA100 bez aktivace (Simmon et al., 1977; Ishidate a kol., 1982), ale negativní u kmenů TA98, TA1535 a TA1537 s aktivací nebo bez aktivace (Borzelleca & Carchman, 1982). Dával pozitivní výsledky pro chromozomální aberaci v buňkách CHO s aktivací (Ishidate et al., 1982) a pro výměnu sesterských chromatidů v lidských lymfocytech a buňkách kostní dřeně myši in vivo (Morimoto & Koizumi, 1983); byl negativní v mikronukleovém testu (Ishidate et al., 1982).

5.2.6 Karcinogenita

DBCM byl podáván potkanům a myším (50 od každého pohlaví na dávku) v kukuřičném oleji žaludeční sondou v dávkách 0, 40 nebo 80 mg/kg tělesné hmotnosti na den u potkanů a 0, 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti na den u myší, 5 dní v týdnu po dobu 104–105 týdnů. Při předávkování bylo usmrceno 35 z 50 myších samců s nízkou dávkou, takže tato skupina nemohla být použita pro studium karcinogenity. DBCM významně zvýšil výskyt hepatocelulárních adenomů a kombinovanou incidenci hepatocelulárních adenomů a karcinomů u samic myší s vysokou dávkou. Incidence hepatocelulárních karcinomů byla významně zvýšena u myších samců s vysokými dávkami; kombinovaná incidence hepatocelulárních adenomů a karcinomů byla nepatrně významná v rámci životaschopného testu, nikoli však náhodným nádorovým testem. DBCM nevyvolalo u léčených potkanů zvýšenou incidenci nádorů. Nebyly nalezeny „žádné důkazy“ kancerogenní aktivity u samců nebo samic potkanů, „nejednoznačné důkazy“ kancerogenity u samců myší a „určité důkazy“ karcinogenity u myších samic za podmínek této studie (NTP, 1985).

5.3 Bromdichlormethan

5.3.1 Akutní expozice

Orální LD50 pro BDCM podávané ve vodném vehikulu myším byly 450, resp. 900 mg/kg živé hmotnosti pro samce a samice (Bowman et al., 1978). Samci a samice potkanů, kterým byla látka podána v kukuřičném oleji, měly LD50 916, respektive 969 mg/kg tělesné hmotnosti (Chu et al., 1980).

5.3.2 Krátkodobá expozice

BDCM byl podáván v pitné vodě v množstvích 0, 5, 50, 500 nebo 2 500 mg/l (0, 0,6, 7, 52 nebo 250 mg/kg tělesné hmotnosti denně) potkanům Sprague-Dawley (20 pro pohlaví a dávku) po dobu 90 dnů. Při nejvyšší dávce byly pozorovány mírné až středně závažné histologické změny v játrech a štítné žláze a významné zvýšení závažnosti hepatálních lézí. Na základě pozorovaného jaterního účinku byla NOAEL 52 mg/kg tělesné hmotnosti na den (Chu a kol., 1982).

Fischer 344/N potkanům a B6C3F1 myším byl podáván BDCM žaludeční sondou v kukuřičném oleji 5 dní v týdnu po dobu 13 týdnů. Potkanům (10 jedinců od každého pohlaví na dávku) byly podávány dávky 0, 19, 38, 75, 150 nebo 300 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Myším samcům (10 na dávku) byly podávány dávky 0, 6,3, 12,5, 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně a myším samicím 0, 25, 50, 100, 200 nebo 400 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Ze samců a samic potkanů, kterým byla podána nejvyšší dávka, uhynulo před koncem studie 50%,

respektive 20%. Žádná z myší nezemřela. Tělesná hmotnost významně poklesla u samců i samic potkanů, kterým byl podáván BDCM v dávkách 150 a 300 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Centrilobulární degenerace jater byla pozorována při dávkách 300 mg/kg tělesné hmotnosti denně u samců a samic potkanů a při dávkách 200 a 400 mg/kg tělesné hmotnosti denně u samic myší. Degenerace a nekróza ledvin byly pozorovány při dávce 300 mg/kg tělesné hmotnosti denně u potkaních samců a při dávce 100 mg/kg tělesné hmotnosti na den u myších samců. NOAEL byly u potkanů 75, resp. 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně pro snížení tělesné hmotnosti a pro poškození jater a ledvin. NOAEL pro léze ledvin u myší byla 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně (NTP, 1987).

5.3.3 Dlouhodobá expozice

Vliv krmení BDCM (mikrozapouzdřeným a smíšeným ve stravě) byl hodnocen u potkanů Wistar SPF (40 u každého pohlaví), kterým byla po dobu 2 let podávána dávka 0,014%, 0,055% nebo 0,22% (6, 24 nebo 130 mg/kg tělesné hmotnosti u samců a 11, 41 nebo 220 mg/kg tělesné hmotnosti u samic). Zvířata, kterým byla podána nejvyšší dávka, vykazovala sníženou tělesnou hmotnost, pokles hladiny sérových triacylglycerolů, neesterifikovaných mastných kyselin, aktivity glukózy a cholinesterázy, zvýšenou aktivitu γ -glutamyltranspeptidázy a zežloutnutí a zdrsnění povrchu jater. Podobné, ale méně závažné nálezy se vyskytovaly ve skupinách se střední dávkou. Na základě propadu tělesné hmotnosti a změn sérových enzymů autoři u samců a samic potkanů (Tobe a kol., 1982) odhadovali HODNOTY NOAEL na 6, respektive 11 mg/kg tělesné hmotnosti denně.

Skupině fischerských 344/N potkanů (50 od každého pohlaví na dávku) byly podávány 0, 50 nebo 100 mg BDCM na kg tělesné hmotnosti a den v kukuřičném oleji žaludeční sondou 5 dní v týdnu po dobu 102 týdnů. Samci myší B6C3F1 (50 v dávce) dostávali 0, 25 nebo 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně a samice myší dostávaly 0, 75 nebo 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně žaludeční sondou po dobu 102 týdnů. Ledvinná cytomegalie byla pozorována u samců potkanů při dávkách 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně a vyšších a u samců myší při dávkách 25 mg/kg tělesné hmotnosti denně a vyšších. Metamorfóza jater byla pozorována u samců a samic potkanů při dávkách 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně a vyšších a u samců myší při dávkách 25 mg/kg tělesné hmotnosti denně a vyšších. Hyperplazie folikulárních buněk štítné žlázy související se sloučeninami byla pozorována také u samců a samic myší. Přežití bylo sníženo pouze u myších samic. Průměrná tělesná hmotnost se snižovala při dávce 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně u potkanů a při dávkách 50, respektive 150 mg/kg tělesné hmotnosti u samců a 150 mg/kg samic myší. Na základě pozorovaných účinků na ledviny a játra byl u potkanů zjištěn LOAEL 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Na základě pozorovaných účinků na ledviny, játra a štítnou žlázu u samců myší a

účinků na štítnou žlázu u myších samic byl zjištěn LOAEL v dávce 25 mg/kg tělesné hmotnosti denně u myši (NTP, 1987).

5.3.4 Toxicita pro reprodukci, embryotoxicita a teratogenita

Zvýšená incidence sternebrálních anomálií v závislosti na dávce byla hlášena u plodů ze skupin 9–15 březích samic potkanů, které byly vystaveny BDCM v kukuřičném oleji žaludeční sondou v dávkách 0, 50, 100 nebo 200 mg/kg tělesné hmotnosti denně v 6. až 15. den březosti. Autoři interpretovali sternebrální anomálie jako důkaz fetotoxického (nikoliv teratogenního) účinku. LOAEL na základě tohoto fetotoxického účinku byl 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně (Ruddick a kol., 1983).

5.3.5 Mutagenita a související koncové body

BDCM byl v Amesově testu pozitivní s kmenem *S. typhimurium* TA100 bez aktivace (Simmon et al., 1977; Ishidate a kol., 1982), ale negativní u kmenů TA98, TA1535 a TA1537 s aktivací nebo bez aktivace (NTP, 1987). Indukoval genové mutace v buňkách myšího lymfomu s aktivací, ale ne bez ní (NTP, 1987). BDCM poskytl rozporuplné výsledky pro chromozomální aberaci v buňkách CHO s aktivací i bez ní (Ishidate et al., 1982; NTP, 1987), pozitivní výsledky pro výměnu sesterských chromatid v lidských lymfocytech a v buňkách kostní dřeně myši in vivo (Morimoto & Koizumi, 1983) a negativní výsledky pro mikronukleový test (Ishidate et al., 1982) a výměnu sesterských chromatid v buňkách CHO (NTP, 1987).

5.3.6 Karcinogenita

Když byl BDCM (20, 40 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti) intraperitoneálně podáván samcům kmene A myším (20 na dávku) 3krát týdně po dobu 8 týdnů a myši byly sledovány dalších 16 týdnů, byl pozorován zvýšený výskyt plicních nádorů při nejvyšší dávce (Theiss et al., 1977).

Fischer344/N potkanům (50 od každého pohlaví na dávku) byl podáván BDCM v kukuřičném oleji žaludeční sondou v dávce 0, 50 nebo 100 mg/kg tělesné hmotnosti, 5 dní v týdnu po dobu 102 týdnů. Samcům myši B6C3F1 (50 na dávku) bylo podáváno 0, 25 nebo 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně žaludeční sondou a samicím 0, 75 nebo 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně. BDCM způsobil významný nárůst nádorů ledvin u samců myši, jater u samic myši a ledvin a tlustého střeva u samců a samic potkanů. U myších samců byla incidence tubulárních buněčných adenomů a kombinovaná incidence tubulárních buněčných adenomů a adenokarcinomů ledvin významně zvýšena při dávce 50 mg/kg tělesné hmotnosti denně. U myších samic bylo signifikantní zvýšení

hepatocelulárního adenomu zaznamenáno při dávkách 75 a 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně, zatímco hepatocelulární karcinomy byly významně zvýšeny při dávkách 150 mg/kg tělesné hmotnosti denně. U samců i samic potkanů byla incidence tubulárních buněčných adenomů a adenokarcinomů a kombinovaná incidence adenomů a adenokarcinomů ledvin významně zvýšena pouze při dávce 100 mg/kg tělesné hmotnosti denně. Adenosarkomy tlustého střeva byly zvýšeny u potkaních samců v obou dávkách a u samic potkanů ve vysokých dávkách. Adenomatózní polypy byly u potkaních samců významně zvýšeny v závislosti na dávce, ale byly přítomny pouze u samic ve vysokých dávkách. Na základě údajů se dospělo k závěru, že v podmínkách této studie existují „jasné důkazy“ karcinogenní aktivity samců a samic myši a potkanů (NTP, 1987).

6. ÚČINKY NA ČLOVĚKA

V minulosti se orálně podávaná bromoform používala jako sedativum u dětí s černým kašlem. Typické dávky byly kolem 180 mg, podávané 3-6krát denně. Příležitostně byla hlášena úmrtí v důsledku náhodného předávkování. Klinickými příznaky ve smrtelných případech byly deprese centrálního nervového systému následované respiračním selháním (Burton-Fanning, 1901; Dwelle, 1903). Na základě těchto klinických pozorování je odhadovaná smrtelná dávka u dítěte s tělesnou hmotností 10-20 kg pravděpodobně okolo 300 mg/kg tělesné hmotnosti a LOAEL pro mírnou sedaci je kolem 54 mg/kg tělesné hmotnosti denně. V několika epidemiologických studiích (Brenniman a kol., 1980; Cragle a kol., 1985), byly zaznamenány souvislosti mezi požitím chlorované pitné vody (která typicky obsahuje THMs) a zvýšenou úmrtností na rakovinu. V jedné studii (US EPA, 1975) byla zjevná souvislost mezi rakovinou močového měchýře a THM a byl zaznamenán vyšší stupeň korelace s bromovanými THM než s chloroformem. Protože však chlorovaná voda obsahuje mnoho vedlejších produktů, není možné z těchto epidemiologických studií vyvodit závěr, že bromované THM jsou lidské karcinogeny.

7. SMĚRNÉ HODNOTY

7.1 Bromoform

V biologické zkoušce provedené NTP v USA bromoform vyvolala u potkanů obou pohlaví malý nárůst relativně vzácných nádorů tlustého střeva, ale nevyvolávala nádory u myši. Údaje z různých zkoušek na genotoxicitu bromoformů jsou nejednoznačné. IARC zařadil bromoform do skupiny 3.

TDI byl odvozen na základě NOAEL 25 mg/kg tělesné hmotnosti denně pro absenci histopatologických lézí v játrech v dobře provedené a dobře zdokumentované 90denní studii u potkanů (NTP, 1989a). Tato HODNOTA

NOAEL je podpořena výsledky dvou dlouhodobých studií. Hodnota TDI je 17,9 µg/kg tělesné hmotnosti, korekce na expozice 5 dní v týdnu a použití faktoru nejistoty 1000 (100 pro intradruhovou a mezidruhovou variaci a 10 pro možnou karcinogenitu a krátké trvání studii). Při alokaci 20% TDI na pitnou vodu je směrná hodnota 100 µg/litr (zaokrouhlený údaj).

7.2 Dibromchlormethan

Při biologické zkoušce NTP vyvolal DBCM nádory jater u samic a možná i u samců myši, nikoli však u potkanů. Genotoxicita DBCM byla zkoumána v řadě testů, ale dostupné údaje jsou považovány za neprůkazné. IARC zařadil DBCM do skupiny 3.

TDI byl odvozen na základě NOAEL 30 mg/kg tělesné hmotnosti denně pro absenci histopatologických účinků v játrech v dobře provedené a dobře zdokumentované 90denní studii u potkanů (NTP, 1985). Tato hodnota NOAEL je podpořena výsledky dlouhodobých studií. Hodnota TDI je 21,4 µg/kg tělesné hmotnosti, koriguje se expozice 5 dní v týdnu a použití faktoru nejistoty 1000 (100 pro intradruhovou a mezidruhovou variaci a 10 pro krátkou dobu trvání studie). Další faktor nejistoty pro možnou karcinogenitu nebyl použit kvůli otázkám týkajícím se nádorů myších jater z nosičů s kukuřičným olejem a neprůkazným důkazům o genotoxicitě. Při alokaci 20% TDI na pitnou vodu je směrná hodnota 100 µg/litr (zaokrouhlený údaj).

7.3 Bromdichlormethan

Při biologické zkoušce NTP navodil BDCM u obou pohlaví potkanů a samců myši adenomy ledvin a adenokarcinomy, vzácné nádory tlustého střeva (adenomatózní polypy a adenokarcinomy) u obou pohlaví potkanů a hepatocelulární adenomy a adenokarcinomy u samic myši. BDCM měl pozitivní i negativní výsledky v různých in vitro a in vivo testech genotoxicity. IARC (1991) zařadil bromdichlormethan do skupiny 2B.

Riziko rakoviny bylo odhadnuto na základě zvýšeného výskytu nádorů ledvin u samců myši pozorovaných v biologické zkoušce NTP (1987), neboť tyto nádory přinášejí největší protektivní hodnotu. O nádorech jater u myších samic se neuvažovalo vzhledem k možné roli vehikula kukuřičného oleje při jejich indukci, i když odhadovaná rizika jsou ve stejném rozmezí. Při použití linearizovaného vícestupňového modelu je rozsah koncentrací BDCM v pitné vodě spojený s nadměrným celoživotním rizikem rakoviny 10⁻⁴, 10⁻⁵ a 10⁻⁶ pro nádory ledvin 600, 60 a 6 µg/l. Tyto hodnoty podporuje nedávno publikovaná krmená studie na potkanech, která nebyla k dispozici pro úplné vyhodnocení.

8. REFERENCES

Ahmed AE, Kubic VL, Anders MW (1977) Metabolism of haloforms to carbon monoxide. I. In vitro studies. *Drug Metabolism and Disposition*, 5:198–204.

Aizawa T, Magara Y, Musashi M (1989) Effects of bromide ions on trihalomethane (THM) formation in water. *Aqua*, 38:165–175.

ATSDR (1989a) Toxicological profile for bromoform and chlorodibromomethane. Atlanta, GA, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

ATSDR (1989b) Toxicological profile for bromodichloromethane. Draft for public comment. Atlanta, GA, US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.

Beech JA (1980) Estimated worst case trihalomethane body burden of a child using a swimming pool. *Medical Hypotheses*, 6:303–307.

Boland PA (1981) National screening program for organics in drinking water. Menlo Park, CA, SRI International (report submitted to Office of Drinking Water, US Environmental Protection Agency, Washington, DC; Contract No. 68-01-4666).

Borzelleca JF, Carchman RA (1982) Effects of selected organic drinking water contaminants on male reproduction. Research Triangle Park, NC, US Environmental Protection Agency (EPA 600/1-82-009; NTIS PB82-259847; Contract No. R804290).

Bouwer EJ, McCarty PL (1983) Transformation of halogenated organic compounds under denitrification conditions. *Applied Environmental Microbiology*, 45:1295–1299.

Bouwer EJ, Rittman BE, McCarty PL (1981) Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2-carbon organic compounds. *Environmental Science and Technology*, 15(5):596–599.

Bowman FJ, Borzelleca JF, Munson AE (1978) The toxicity of some halomethanes in mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 44:213–215.

Brass HJ, Weisner MJ, Kingsley BA (1981) Community water supply survey: sampling and analysis for purgeable organics and total organic carbon. Paper

presented at the American Water Works Association Annual Meeting, Water Quality Division, 9 June 1981.

Brenniman GR et al. (1980) Case-control study of cancer deaths in Illinois communities served by chlorinated or non-chlorinated water. In: Jolley R et al., eds. Water chlorination: environmental impact and health effects. Vol. 3. Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science Publishers, pp. 1043–1057.

Budavari S, O'Neill M, Smith A, eds. (1989) The Merck index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals, 11th ed. Rahway, NJ, Merck.

Burton-Fanning FW (1901) Poisoning by bromoform. *British Medical Journal*, May 18:1202–1203.

Chu I et al. (1980) The acute toxicity of four trihalomethanes in male and female rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 52:351–353.

Chu I et al. (1982) Toxicity of trihalomethanes. I. The acute and subacute toxicity of chloroform, bromodichloromethane, chlorodibromomethane and bromoform in rats. *Journal of Environmental Science and Health*, B17:205–224.

Cragle DL et al. (1985) A case-control study of colon cancer and water chlorination in North Carolina. In: Jolley RL et al., eds. Water chlorination: chemistry, environmental impact and health effects. Vol.5. Chelsea, MI, Lewis Publishing, pp. 153–157.

Department of National Health and Welfare (1977) National survey for halomethanes in drinking water. Ottawa, Ontario.

Department of National Health and Welfare (1990) Draft review on trihalomethanes. Ottawa, Ontario.

Dwelle EH (1903) Fatal bromoform poisoning. *Journal of the American Medical Association*, 41:1540.

Entz RC, Thomas KW, Diachenko EW (1982) Residues of volatile halocarbons in foods using headspace gas chromatography. *Journal of Agricultural Chemistry*, 30:846–849.

Environment Canada (1986) Ambient air concentrations of volatile compounds in Toronto and Montreal. Ottawa, Ontario, Environment Canada, Pollutant Management Division.

Fishbein L (1985) A survey of the analysis of halogenated alkanes and alkenes in biological samples. In: Fishbein L, O'Neil ID, eds. Environmental carcinogens, selected methods of analysis, Vol. 7. Some volatile halogenated hydrocarbons. Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp. 141–168 (IARC Scientific Publications No. 68).

Hansch C, Leo AJ (1985) Medchem Project Issue No. 26. Claremont, CA, Pomona College.

Hawley GG (1981) The condensed chemical dictionary, 10th ed. New York, NY, Van Nostrand Reinhold, p. 241. IARC (1991) Chlorinated drinking-water; chlorination by-products; some other halogenated compounds; cobalt and cobalt compounds. Lyon, International Agency for Research on Cancer, pp.45–359 (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 52).

Ishidate M et al. (1982) Studies on the mutagenicity of low boiling organohalogen compounds. Tokyo, Tokyo Medical and Dental University (unpublished interagency report to the National Institute of Hygienic Sciences).

Kaczmar SW, D'Itri FM, Zabik MJ (1985) Volatilization rates of selected haloforms from aqueous environments. Environmental Toxicology and Chemistry, 3(1):31–35 [cited in ATSDR, 1989a].

Lehman KB, Hasegawa O (1910) Studies of the absorption of chlorinated hydrocarbons in animals and humans. Archives of Hygiene, 72:327–342.

Mabey WR et al. (1982) Aquatic fate process data for organic priority pollutants. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Water Regulation and Standards (EPA 4014-81-PB87-16909).

Mackay DM et al. (1982) Vapor pressure corrections for low-volatility environmental chemicals. Environmental Science and Technology, 16:645–649.

Mink FL, Brown J, Rickabaugh J (1986) Absorption, distribution and excretion of ¹⁴C-trihalomethanes in mice and rats. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 37:752–758.

Montgomery JH, Welkom LM (1990) Groundwater chemicals desk reference. Chelsea, MI, Lewis Publishers.

Morimoto K, Koizumi A (1983) Trihalomethanes induce sister chromatid exchanges in human lymphocytes in vitro and mouse bone marrow cells in vivo. *Environmental Research*, 32(1):72–79.

NTP (1985) Toxicology and carcinogenesis studies of chlorodibromomethane in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program (TR 282).

NTP (1987) Toxicology and carcinogenesis studies of bromodichloromethane in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program (TR 321).

NTP (1989a) Toxicology and carcinogenesis studies of tribromomethane (bromoform) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). Research Triangle Park, NC, US Department of Health and Human Services, National Toxicology Program (TR 350).

NTP (1989b) Bromoform — reproduction and fertility assessment in Swiss CD-1 mice when administered by gavage. Research Triangle Park, NC, National Institute of Environmental Health Sciences, National Toxicology Program (NTP-89-068).

Radding SB, Liu DH, Johnson HL (1977) Review of the environmental fate of selected chemicals. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances, pp. 69–72 (EPA 560/5-77-003).

Reitz RH, Gehring PJ, Park CN (1978) Carcinogenic risk estimation for chloroform: an alternative to EPA's procedures. *Food and Cosmetics Toxicology*, 16:511–514.

Rook JJ (1974) Formation of haloforms during chlorination of natural waters. *Journal of the Society for Water Treatment and Examination*, 23:234–243.

Ruddick JA, Villeneuve DC, Chu I (1983) A teratological assessment of four trihalomethanes in rats. *Journal of Environmental Science and Health*, B18:333–349.

Simmon VF, Kauhanen K, Tardiff RG (1977) Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. *Developments in Toxicology and Environmental Science*, 2:249–258.

Theiss JC et al. (1977) Test for carcinogenicity of organic contaminants of United States drinking waters by pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Research*, 37:2717–2720.

Tobe M et al. (1982) Studies on the chronic oral toxicity of tribromomethane, dibromochloromethane and bromodichloromethane. Tokyo, Tokyo Medical and Dental University (unpublished interagency report to the National Institute of Hygienic Sciences).

US EPA (1975) Preliminary assessment of suspected carcinogens in drinking water. Report to Congress. Washington, DC, US Environmental Protection Agency (EPA-56014-75-005, PB 260961).

US EPA (1979) Method 501.1. The analysis of trihalomethanes in finished waters by the purge and trap method. Cincinnati, OH, US Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Laboratory.

US EPA (1980) An exposure and risk assessment for trihalomethanes. Washington, DC, US Environmental Protection Agency, Office of Water Regulations and Standards.

US EPA (1985) Health assessment document for chloroform. Final report. Research Triangle Park, NC, US Environmental Protection Agency, Office of Research and Development (EPA-600/8-84-004F).

Verschueren K (1977) Handbook of environmental data on organic chemicals. New York, NY, Van Nostrand Reinhold.

C. TOTAL TRIHALOMETHANES

1. SMĚRNÁ HODNOTA

Trihalomethany (THM) mohou působit jako indikátor přítomnosti jiných vedlejších produktů chlorace. Kontrola čtyř nejčastěji se vyskytujících THM v pitná voda by měla přispět ke snížení hladiny dalších nezkreslených vedlejších produktů chlorování.

Vzhledem k tomu, že se tyto čtyři sloučeniny obvykle vyskytují společně, je zvykem považovat celkové THM za skupinu a řada zemí na tomto základě stanovila pokyny nebo normy. V prvním vydání Pokynů pro jakost pitné vody byla stanovena směrná hodnota pouze pro chloroform; o zbývajících THM existovalo jen málo údajů a pro většinu zásob vody byl chloroform nejčastěji se vyskytujícím členem skupiny. V tomto vydání nebyla stanovena směrná hodnota

pro celkové THM; směrné hodnoty však byly stanoveny zvlášť pro všechny čtyři THM.

Pro orgány, které si přejí stanovit celkový standard THM, aby se zohlednila aditivní toxicita, by se mohl použít tento přístup frakcionace:

$$\frac{C_{\text{bromoform}}}{GV_{\text{bromoform}}} + \frac{C_{\text{DBCM}}}{GV_{\text{DBCM}}} + \frac{C_{\text{BDCM}}}{GV_{\text{BDCM}}} + \frac{C_{\text{chloroform}}}{GV_{\text{chloroform}}} \leq 1$$

kde C = koncentrace a GV = směrná hodnota.

Orgány, které chtějí použít směrnou hodnotu pro celkové THM, by neměly pouze sčítat směrné hodnoty pro jednotlivé sloučeniny, aby dospěly k normě, protože tyto čtyři sloučeniny jsou si v toxikologickém působení v zásadě podobné.

Při kontrole THM by se měl používat vícestupňový léčebný systém ke snížení organických prekurzorů THM a primárně by se mělo uvažovat o tom, že dezinfekce nebude nikdy ohrožena.