

# N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on

## MAK-Begründung

A. Hartwig<sup>1,\*</sup>

MAK Commission<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> *Vorsitzende der Ständigen Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Institut für Angewandte Biowissenschaften, Abteilung Lebensmittelchemie und Toxikologie, Karlsruher Institut für Technologie (KIT), Adenauerring 20a, Geb. 50.41, 76131 Karlsruhe, Deutschland*

<sup>2</sup> *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn, Deutschland*

\* *E-Mail: A. Hartwig ([andrea.hartwig@kit.edu](mailto:andrea.hartwig@kit.edu)), MAK Commission ([arbeitsstoffkommission@dfg.de](mailto:arbeitsstoffkommission@dfg.de))*

### Keywords

N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on; Hautsensibilisierung; Reizwirkung; Metabolismus; Toxikokinetik; Toxizität

## Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has evaluated N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one [4299-07-4] considering all toxicological end points. Available publications and unpublished study reports are described in detail. The critical effect is the corrosive action of N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one on the skin of rabbits. This strong irritant effect was also observed in oral repeated dose studies in rats (stomach ulcers) and dogs (vomiting). As a repeated inhalation study is not available, a maximum concentration at the workplace (MAK value) cannot be derived.

N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one did not lead to developmental toxicity in rats up to an oral dose of 300 mg/kg body weight and day; this dose was toxic to the dams (stomach ulcers). Germ cell mutagenicity tests are not available. An in vitro mouse lymphoma test with N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one was negative. A positive chromosomal aberration test in human lymphocytes was not confirmed in vivo by the results of a mouse micronucleus test. A carcinogenicity study has not been performed with N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one.

Skin contact is not expected to contribute significantly to systemic toxicity. Animal studies on sensitizing effects yielded positive and negative results. As the limited human data show clinically relevant skin sensitization, N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one is designated with "Sh". There are no data for sensitizing effects on the respiratory tract.

### Citation Note:

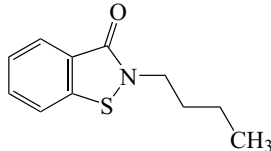
Hartwig A, MAK Commission. N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on. MAK-Begründung. MAK Collect Occup Health Saf. 2021 Mrz;6(1):Doc002. DOI: [https://doi.org/10.34865/mb429907d6\\_1or](https://doi.org/10.34865/mb429907d6_1or)

Manuskript abgeschlossen:  
30 Mrz 2020

Publikationsdatum:  
31 Mrz 2021

Lizenz: Dieses Werk ist  
lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](#).



<b>MAK-Wert</b>	<b>nicht festgelegt, vgl. Abschnitt II b der MAK- und BAT-Werte-Liste</b>
<b>Spitzenbegrenzung</b>	–
<b>Hautresorption</b>	–
<b>Sensibilisierende Wirkung (2020)</b>	<b>Sh</b>
<b>Krebserzeugende Wirkung</b>	–
<b>Fruchtschädigende Wirkung</b>	–
<b>Keimzellmutagene Wirkung</b>	–
<b>BAT-Wert</b>	–
<b>Synonyma</b>	2-Butyl-1,2-benzisothiazol-3(2H)-on 2-n-Butylbenzo[d]isothiazol-3-on 2-Butyl-2,3-dihydro-1,2-benzothiazol-3-on
<b>Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)</b>	2-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on
<b>CAS-Nr.</b>	4299-07-4
<b>Formel</b>	
<b>Molmasse</b>	C <sub>11</sub> H <sub>13</sub> NOS 207,29 g/mol
<b>Schmelzpunkt</b>	k. A.; flüssig bei 20 °C (ECHA 2020 a)
<b>Siedepunkt bei 1013 hPa</b>	> 300 °C (ECHA 2020 a)
<b>Dampfdruck bei 25 °C</b>	0,00015 hPa (ECHA 2020 a)
<b>log K<sub>OW</sub></b>	2,86 bei 25 °C (ECHA 2020 a); 2,32 (k. w. A.; US EPA 2016)
<b>Löslichkeit</b>	< 0,5 mg/l Wasser bei 25 °C, pH-Wert: 6,7 (ECHA 2020 a)
<b>1 ml/m<sup>3</sup> (ppm) ≙ 8,601 mg/m<sup>3</sup></b>	<b>1 mg/m<sup>3</sup> ≙ 0,116 ml/m<sup>3</sup> (ppm)</b>
<b>Stabilität</b>	k. A.
<b>Herstellung</b>	k. A.
<b>Reinheit</b>	k. A.
<b>Verunreinigungen</b>	k. A.
<b>Verwendung</b>	als mikrobiozider, mikrobiostatischer, fungizider und fungistatischer Zusatz in Kühlschmierstoffen (nur in geschlossenen Systemen), Kunststoffen, Polymeren und Baumaterialien (US EPA 2016)

N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on befindet sich derzeit im Zulassungsverfahren für Biozide bei der Europäischen Chemikalienagentur (ECHA). Die Daten sind noch nicht veröffentlicht (ECHA 2020 b).

Die Begründung basiert im Wesentlichen auf öffentlich verfügbaren Registrierungsdaten der U.S. Umweltschutzbehörde (US EPA 2016).

Die Anwendungskonzentrationen von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on im Kühlschmierstoff werden wie folgt angegeben (US EPA 2016): initialer Einsatz 200 µl/l, Erhaltungskonzentration 30 µl/l.

## 1 Allgemeiner Wirkungscharakter

N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wirkt ätzend an der Haut von Kaninchen und sensibilisierend an der Haut von Menschen und Meerschweinchen.

In einer 90-Tage-Studie an Ratten tritt bei jeweils der höchsten Dosis von 149,2 mg N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/kg KG und Tag bei männlichen Tieren und von 162,4 mg/kg KG und Tag bei weiblichen Tieren eine verminderte Körpergewichtszunahme und reduzierte Futtermittelaufnahme auf. Histopathologisch werden Reizeffekte im Vormagen gesehen. In einer 90-Tage-Studie an männlichen und weiblichen Beagle-Hunden kommt es ab 75 mg/kg KG und Tag zu Erbrechen, Diarrhö, weichen oder schleimigen Faeces sowie einer dosisabhängigen Abnahme von Albumin (männliche Tiere) und von Gesamtprotein (weibliche Tiere) im Serum.

In einer Zwei-Generationen-Studie an Sprague-Dawley-Ratten treten bei den Elterntieren bei der höchsten getesteten Dosis (141 bzw. 157 mg N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/kg KG und Tag bei männlichen bzw. weiblichen Tieren) vermindertes Körpergewicht und erniedrigte Futtermittelaufnahme auf. Bei den Nachkommen werden bei der gleichen Dosis erniedrigte Körpergewichte, Körpergewichtszunahme und Milzgewichte (F2-Generation) festgestellt. Bis zur höchsten Dosis werden keine Effekte auf die Fertilität beobachtet. In einer Entwicklungstoxizitätsstudie an Ratten mit Schlundsondengabe werden Ulzerationen des Magens ab 100 mg/kg KG und Tag, aber bis zur höchsten Dosis von 300 mg/kg KG und Tag keine entwicklungstoxischen Effekte an den Feten festgestellt.

Ein TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen ist negativ. In einem Chromosomenaberrationstest an humanen Lymphozyten wirkt N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on klastogen, was in vivo in einem Mikronukleustest an Erythrozyten im Knochenmark von CD-Mäusen nicht bestätigt wird. Auch DNA-Reparatursynthese (UDS) in Rattenhepatozyten wird in einer In-vivo/In-vitro-Untersuchung nicht induziert.

Zur kanzerogenen Wirkung von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on liegen keine Untersuchungen vor.

## 2 Wirkungsmechanismus

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 3 Toxikokinetik und Metabolismus

### 3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

[<sup>14</sup>C]-N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (radioaktiv markiert am Benzolring, > 98 % radiochemische Reinheit) wurde einmalig in Dosen von 5 oder 300 mg/kg KG mittels Gavage an männliche Han-Wistar-Ratten verabreicht (zwei Tiere pro Dosis für die Untersuchung der Ausatemluft, 20 Tiere pro Dosis für die Gewebeverteilung). Das höchste Ausmaß der Radioaktivität wurde im Blut nach Gabe von 5 bzw. 300 mg/kg KG nach einer und nach vier Stunden gemessen, ging schnell zurück und war nach 48 Stunden nicht mehr nachweisbar. In Harnblase und Gastrointestinaltrakt war der Großteil der Radioaktivität ein bzw. vier Stunden nach der Substanzgabe zu beobachten und fiel ebenfalls schnell innerhalb von 48 Stunden ab. Drei Tage nach der Substanzgabe verblieben 0,3 % der verabreichten Dosis in Lymph-

knoten, abdominalem Fett, Pankreas, Haut, Restkörper, Leber und Nieren. Der größte Anteil der verabreichten Radioaktivität wurde mit Urin und Faeces ausgeschieden, vernachlässigbare Mengen in der Ausatemluft. Die Gewebeverteilung und das Eliminationsprofil waren bei beiden Dosen ähnlich (US EPA 2016).

In einer Untersuchung zum zeitlichen Verlauf der Verteilung im Gewebe wurde [<sup>14</sup>C]-N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (radioaktiv markiert am Benzolring, > 98 % radiochemische Reinheit) in einer Dosis von 5 mg/kg KG und Tag 14 Tage lang mittels Gavage an 30 männliche Han-Wistar-Ratten verabreicht. Ausgewählte Gewebe wurden bis zu 60 Tage nach der letzten Dosis auf ihre Radioaktivität untersucht. Der größte Anteil der verabreichten Radioaktivität wurde mit Urin und Faeces ausgeschieden. Etwa 87 % der ersten und 92 % der 14. Dosis wurden nach Substanzgabe mit dem 24-Stunden-Urin ausgeschieden. Der höchste Anteil lag im Gastrointestinaltrakt (inklusive seinem Inhalt) vor, gefolgt von Haut, Harnblase, Restkörper, Leber und Nieren. Die hohen Anteile im Gastrointestinaltrakt sind durch die Ausscheidung zu erklären, Leber und Nieren sind die Hauptorgane des Metabolismus und die gefundenen Anteile in Haut und Restkörper (0,440 bzw. 0,201 µg Äquivalent/g Gewebe) erklären sich mit der lipophilen Einlagerung in diesen Geweben. Nach Ende der Substanzgabe ging die verbliebene Radioaktivität in den meisten Geweben schnell zurück und erreichte nach sieben Tagen den Kontrollwert. In Leber, Nieren, Haut und Restkörper war der Abbau langsamer, in Haut und Restkörper war nach 60 Tagen noch Radioaktivität nachweisbar. Die Halbwertszeit für N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Haut und Restkörper betrug 29,6 bzw. 27,4 Tage (US EPA 2016).

Für eine gesättigte wässrige Lösung berechnen sich mit den Modellen von Fiserova-Bergerova et al. (1990) und IHSkinPerm (Tibaldi et al. 2014) Fluxe von 0,134 bzw. 0,006 µg/cm<sup>2</sup> und Stunde. Unter der Annahme einer einstündigen Exposition von 2000 cm<sup>2</sup> Hautoberfläche (Fläche von Händen und Unterarmen) würde dies Aufnahmemengen von 0,268 bzw. 0,012 mg entsprechen.

### 3.2 Metabolismus

In einer Metabolismus-Studie wurde [<sup>14</sup>C]-N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (radioaktiv markiert am Benzolring, > 98 % radiochemische Reinheit) mittels Gavage an männliche Han-Wistar-Ratten verabreicht (vier Tiere pro Dosis für die Pharmakokinetik-Studie, zwei pro Dosis für die Untersuchung der Ausatemluft, vier pro Dosis für die Exkretionsuntersuchung und 20 pro Dosis für die Gewebeverteilung). Als einmalige Dosis wurden 5 oder 300 mg/kg KG eingesetzt und für die 14-tägige Gabe 5 mg [<sup>14</sup>C]-N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/kg KG und Tag. Der Metabolismus von 5 oder 300 mg [<sup>14</sup>C]-N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on verlief ähnlich und weitgehend vollständig. Weniger als 0,5 % der verabreichten Dosis wurde unmetabolisiert in Urin und Faeces wiedergefunden. In der Ausatemluft fanden sich nur Spuren von Metaboliten. Die hauptsächlichen Metaboliten im Urin waren ein Methylsulfoxid-Derivat (26 bis 27 % der verabreichten Dosis), ein S-Glucuronid-Metabolit (23 bis 24 %) und ein Methylsulfoxid-Metabolit mit Carbonylgruppe (11 bis 18 %). Diese Metaboliten wurden auch in den Faeces nachgewiesen, wenn auch in geringeren und variablen Konzentrationen. Basierend auf den Metaboliten werden zwei Metabolismuswege postuliert. Ein Weg beinhaltet die Öffnung des Isothiazolin-Rings, gefolgt von einer Konjugation des Schwefelatoms mit Glucuronsäure. Der zweite Weg verläuft über eine direkte Oxidation und Methylierung des Schwefelatoms im Isothiazolin-Ring unter Bildung des Methylsulfoxids, welches dann weiter an der N-Alkyl-Seitenkette oxidiert und/oder N-demethyliert wird. Die 14-tägige Gabe von 5 mg/kg KG und Tag an Ratten erbrachte ein qualitativ ähnliches Metabolitenprofil (US EPA 2016).

## 4 Erfahrungen beim Menschen

Zu den Endpunkten einmalige Exposition, wiederholte Exposition, atemwegssensibilisierende Wirkung, Reproduktionstoxizität, Genotoxizität sowie Kanzerogenität liegen keine Daten vor.

Es gibt nur zwei Publikationen über eine beruflich bedingte Sensibilisierung gegen N-Butyl-1,2-benzisothiazolinon. Der Stoff ist nicht als kommerziell erhältliche Testzubereitung verfügbar.

In einem Fall handelte es sich um einen an einer CNC (Computerized Numerical Control)-Maschine tätigen Metallarbeiter mit einem seit fünf Monaten am Arbeitsplatz rezidivierenden Ekzem an jeweils zwei Fingern beider Hände. Im

Epikutantest zeigten sich schwach positive Reaktionen auf das verwendete Kühlschmiermittel. Weitere Epikutantests erfolgten mit jeweils 0,005 % und 0,05 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Ethanol und Vaseline, auf die der Beschäftigte nach drei Tagen jeweils einfach positiv bzw. zweifach positiv und fraglich positiv reagierte. In der abgestuften Testung traten auch Reaktionen auf 0,05 % (2+); 0,0158 % (2+); 0,005 % (2+); 0,00158 % (1+) und 0,0005 % (1+) N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Ethanol auf (Dahlin und Isaksson 2015).

Bei einem weiteren Metallarbeiter mit einem seit sechs Monaten bestehenden schuppigen und rhagadiformen Ekzem der drei mittleren Finger beider Hände führte das 10%ig getestete Kühlschmiermittel bei der Ableseung am vierten Tag zu einer zweifach positiven Reaktion. Auf 0,1 % und 0,2 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Ethanol reagierte der Beschäftigte ebenfalls zweifach positiv, nicht aber auf 0,05 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Vaseline (Foti et al. 2019).

## 5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

### 5.1 Akute Toxizität

#### 5.1.1 Inhalative Aufnahme

Die  $LC_{50}$  an männlichen und weiblichen Ratten nach Inhalation von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 45,2 % w/w; k. A. ob hier evtl. eine Formulierung vorlag) war größer als  $733 \text{ mg/m}^3$  (männliche Tiere) bzw. lag zwischen 197 und  $733 \text{ mg/m}^3$  (weibliche Tiere) (k. A. zu Expositionszeit, Stamm, Durchführung und Nachbeobachtungszeit) (US EPA 2016).

#### 5.1.2 Orale Aufnahme

Die orale  $LD_{50}$  für N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5 % w/w) betrug  $4267 \text{ mg/kg KG}$  für männliche und  $4732 \text{ mg/kg KG}$  für weibliche Ratten (k. A. zu Stamm, Durchführung und Nachbeobachtungszeit) (US EPA 2016).

#### 5.1.3 Dermale Aufnahme

Die dermale  $LD_{50}$  für N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 93,4 % w/w) war bei männlichen und weiblichen Ratten größer als  $2000 \text{ mg/kg KG}$  (k. A. zu Stamm, Durchführung und Nachbeobachtungszeit) (ECHA 2020 a; US EPA 2016).

### 5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

#### 5.2.1 Inhalative Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

#### 5.2.2 Orale Aufnahme

In einer 90-Tage-Studie an Sprague-Dawley-Ratten (Wistar-derived, AlpK:APfSD) wurde jeweils 20 Tieren pro Geschlecht und Dosisgruppe Futter mit 0, 40, 200 oder  $2000 \text{ mg N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/kg}$  (Reinheit 95,5 %) verabreicht. Die durchschnittliche Dosis betrug bei den männlichen Tieren 0; 3,1; 15,3 bzw.  $149,2 \text{ mg/kg KG}$  und Tag, bei den weiblichen Tieren 0; 3,4; 16,6 bzw.  $162,4 \text{ mg/kg KG}$  und Tag. Es traten keine behandlungsbedingten klinischen Symptome auf. Eine Untersuchung auf Neurotoxizität (Functional Observational Battery und motorische Aktivität) war ohne substanzbedingte Effekte. In der hohen Dosisgruppe wurden verminderte Körpergewichtszunahmen (–12 %) und reduzierte Futteraufnahmen beobachtet. Ophthalmologische und hämatologische Untersuchungen sowie Organ-

gewichte und die makroskopische Untersuchung waren ohne substanzbedingten Befund. Histopathologisch wurden Reizwirkungen im Vormagen bei 20 % der männlichen und weiblichen Tiere der höchsten Dosisgruppe beobachtet. Dies waren minimale bis leichte submukosale Entzündungen mit oder ohne epitheliale Hyperplasie und Erosion. Ein männliches Tier hatte ein leichtes Ulkus. Die Befunde in der höchsten Dosisgruppe wurden als behandlungsbedingt und advers bewertet. Somit betrug der LOAEL für die männlichen Tiere 149,2 mg/kg KG und Tag, für die weiblichen Tiere 162,4 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL ist entsprechend für männliche Tiere 15,3 mg/kg KG und Tag, für weibliche Tiere 16,6 mg/kg KG und Tag (US EPA 2016).

In einer 90-Tage-Studie an Beagle-Hunden wurde jeweils vier Tieren pro Geschlecht und Dosisgruppe N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5 %) in einer Dosis von 0, 25, 75 oder 250 mg/kg KG und Tag gegeben. Die Substanz wurde in Maiskeimöl gelöst und in Gelatine kapseln einmal täglich oral verabreicht. Die höchste Dosis wurde am 10. Tag auf 200 mg/kg KG und Tag reduziert, nachdem 250 mg/kg KG und Tag für ein weibliches Tier letal war. Das Tier zeigte abnormale Ausscheidungen, dermale Atonie, Erbrechen, exzessiven Speichelfluss, Hypoaktivität und Magerkeit. Bei den ophthalmoskopischen Untersuchungen, der Urinanalyse, den Organgewichten sowie den makro- und mikroskopischen Untersuchungen traten keine adversen behandlungsbedingten Effekte auf. Erbrechen, Diarrhö, weiche oder schleimige Faeces wurden ab der mittleren Dosis von 75 mg/kg KG und Tag bei den männlichen und den weiblichen Tieren beobachtet. In der Hochdosisgruppe wiesen beide Geschlechter veränderte Körpergewichte auf. So verloren die männlichen Tiere statistisch signifikant Gewicht innerhalb der ersten zwei Wochen. Das Körpergewicht sowie die Körpergewichtszunahme blieben dadurch bis zum Studienende im Vergleich zu den Kontrolltieren statistisch signifikant reduziert (Detailangaben fehlen). Bei den weiblichen Tieren war ebenfalls in den ersten beiden Studienwochen das Körpergewicht in der Hochdosisgruppe im Vergleich zur Kontrolle reduziert, aber statistisch nicht signifikant. Die Anzahl an Erythrozyten, sowie die Hämoglobin- und Hämatokrit-Werte waren bei den männlichen und weiblichen Tieren nicht statistisch signifikant und nicht dosisabhängig reduziert. Die höchste Dosisgruppe zeigte dennoch den stärksten Abfall bei gleichzeitiger Erhöhung der Anzahl an Blutplättchen. Bei beiden Geschlechtern der Hochdosisgruppe waren Serumalbumin und Gesamtprotein dosisabhängig und statistisch signifikant reduziert. Zudem war in der mittleren Dosisgruppe bei den männlichen Tieren das Serumalbumin und bei den weiblichen Tieren das Gesamtprotein statistisch signifikant erniedrigt. Serumcalcium, welches vorwiegend an Albumin gebunden ist, war bei beiden Geschlechtern der Hochdosisgruppe ebenfalls statistisch signifikant reduziert, wobei der Effekt bei den weiblichen Tieren nur in der 7. Woche beobachtet wurde. Der LOAEL beträgt aufgrund der klinischen Beobachtungen/Befunde bei beiden Geschlechtern und der dosisabhängigen Abnahme von Albumin (männliche Tiere) und von Gesamtprotein (weibliche Tiere) 75 mg/kg KG und Tag. Der NOAEL liegt bei 25 mg/kg KG und Tag (US EPA 2016).

### 5.2.3 Dermale Aufnahme

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

### 5.3.1 Haut

In einer Untersuchung an Kaninchen mit semi-okklusiver Auftragung von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on auf die Haut wirkte die Substanz ätzend (k. w. A.; ECHA 2020 a; US EPA 2016).

### 5.3.2 Auge

Hierzu liegen keine Angaben vor.



## 5.4 Allergene Wirkung

### 5.4.1 Hautsensibilisierende Wirkung

In Untersuchungen mit dem Maximierungstest an Gruppen von bis zu fünf oder zehn weiblichen Hartley-Meerschweinchen wurde für N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on eine minimal erforderliche (intradermale) Induktionskonzentration von 0,005 % ermittelt. Mit 0,5 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wurden 90 % der behandelten Tiere sensibilisiert. Nur durch topische Induktionsbehandlung konnte kein Tier sensibilisiert werden. Als Schwellenkonzentration für die Auslösung wurden 0,0327 % angegeben (entsprechend 21 µg N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/cm<sup>2</sup>) (Noda et al. 2001; Yamano et al. 2005).

In einem weiteren Maximierungstest nach Magnusson und Kligman zeigten alle 19 Dunkin-Hartley-Meerschweinchen keine Sensibilisierung gegen N-Butyl-1,2-benzisothiazolinon (Zubereitung von 19,5 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Propylenglykol). Propylenglykol oder Maiskeimöl waren die Vehikel für die intradermale Induktion, Vaseline für die topische Induktion und Provokation. In den Kontrollgruppen wurden jeweils zehn Tiere eingesetzt, als Positivkontrolle diente alpha-Hexylzimaldehyd. In einer Vorstudie wurde als niedrigste irritative Konzentration 1 % für die intradermale und 3 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on für die topische Induktionsbehandlung ermittelt. Die maximal nicht reizende Konzentration für die Provokation betrug 0,5 % N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on. alpha-Hexylzimaldehyd zeigte in der Positivkontrollgruppe ein mäßiges Sensibilisierungspotenzial, mit positiven Reaktionen bei 8 von 20 Tieren. Das strukturanaloge 1,2-Benzisothiazolin-3-on (Zubereitung mit 20,2 % 1,2-Benzisothiazolin-3-on in unbekanntem Lösungsmittel) führte unter Verwendung der gleichen Induktionskonzentrationen und in einer 1%igen Zubereitung für die Auslösung bei 20 Tieren ebenfalls zu keiner positiven Reaktion (Zissu 2002).

In einem modifizierten Local Lymph Node Assay an Gruppen zu je vier weiblichen BALB/c-Mäusen unter Verwendung von 5-Brom-2'-desoxyuridin statt <sup>3</sup>H-Methylthymidin wurde mit Zubereitungen von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in Dimethylsulfoxid ein negatives Ergebnis erzielt. Die eingesetzten Konzentrationen von 0,3; 1 und 3 % führten zu Stimulationsindices von 0,9; 1,5 bzw. 2,0, wobei die höchste Konzentration von den Autoren als irritativ bewertet wurde. 1,2-Benzisothiazolin-3-on lieferte in dieser Untersuchung in den gleichen Konzentrationen und im gleichen Vehikel ein weitgehend ähnliches Ergebnis (Stimulationsindex: 0,7; 1,3 bzw. 1,7) (Yamano et al. 2005).

### 5.4.2 Atemwegssensibilisierende Wirkung

Hierzu liegen keine Angaben vor.

## 5.5 Reproduktionstoxizität

### 5.5.1 Fertilität

In einer Zwei-Generationen-Studie aus dem Jahr 2007 wurde N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 99,4 %) mit dem Futter an jeweils 30 Sprague-Dawley-Ratten pro Geschlecht und Dosisgruppe in Konzentrationen von 0, 300, 600 oder 1700 mg/kg Futter verabreicht, was einer Aufnahme von 0, 25, 49 bzw. 141 mg/kg KG und Tag bei den männlichen Tieren und 0, 27, 56 bzw. 157 mg/kg KG und Tag bei den weiblichen Tieren entsprach. Die F0- und die F1-Generation waren mindestens 70 Tage vor der Verpaarung exponiert. Die aus den ersten Nachkommen (F1) gewählten Elterntiere für die F2-Generation (30 pro Geschlecht und Dosisgruppe) erhielten ab dem 21. Postnataltag dieselben Konzentrationen von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on im Futter wie die Elterntiere. Die F2-Generation wurde bis zur Entwöhnung gehalten. In der F0-Generation trat keine Mortalität auf. Von den adulten F1-Tieren starben drei nicht behandlungsbedingt. Die Körpergewichtszunahme der weiblichen F0-Tiere war vor der Verpaarung (0.–10. Woche) statistisch signifikant reduziert ( $p < 0,05$ ). Während der gesamten Studiendauer waren weder Körpergewicht, Körpergewichtszunahme, absolute (g/Tier und Tag) und relative Futteraufnahme (g/kg KG und Tag) und Fütterungseffizienz durch die Substanzgabe beeinträchtigt. In der Hochdosisgruppe der F1-Generation waren das Körpergewicht vor der

Verpaarung (18.–28. Woche) bei männlichen ( $p < 0,05$ ) und weiblichen ( $p < 0,01$ ) Tieren statistisch signifikant reduziert. Die Körpergewichtszunahme war im gesamten Zeitraum vor der Verpaarung bei beiden Geschlechtern nicht substanzbedingt verändert. Die absolute Futtermittelaufnahme war während der 18. bis 19., 22. bis 23. und 25. bis 26. Woche bei den männlichen und den weiblichen Tieren statistisch signifikant reduziert. Die relative Futtermittelaufnahme wurde durch die Substanzgabe nicht beeinträchtigt. Die Fütterungseffizienz verblieb bei den männlichen Tieren durch die Substanzgabe unverändert, war bei den weiblichen Tieren während der 18. bis 19. Woche ( $p < 0,05$ ) statistisch signifikant erhöht. Während der Trächtigkeit war in der F1-Elterngeneration in der Hochdosisgruppe das Körpergewicht reduziert, jedoch nicht statistisch signifikant und auch ohne Befund bei der Körpergewichtszunahme. Daher wird angenommen, dass dies nur ein verbliebener Effekt aus dem Zeitraum vor der Verpaarung ist. Futtermittelaufnahme und Fütterungseffizienz waren während der Trächtigkeit nicht behandlungsbedingt verändert. Während der Laktationszeit wurden keine substanzbedingten Effekte auf Körpergewicht, Futtermittelaufnahme und Fütterungseffizienz festgestellt. Es traten keine weiteren Befunde auf, so dass der LOAEL für parentale Toxizität 1700 mg/kg Futter beträgt (entspricht 141 bzw. 157 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren), basierend auf vermindertem Körpergewicht und Futtermittelaufnahme. Der NOAEL liegt bei 600 mg/kg Futter (entspricht 49 bzw. 56 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren).

Bei den F1- und F2-Jungtieren traten bis zum 21. Postnataltag keine substanzbedingten klinischen Befunde auf. Die Wurfparameter sowie die Verpaarung waren ebenfalls nicht beeinträchtigt. Bei der makroskopischen und histopathologischen Untersuchung wurden keine behandlungsbedingten Effekte beobachtet. In der hohen Dosisgruppe waren bei den F1- und F2-Jungtieren die Körpergewichte am 21. Postnataltag sowie die Körpergewichtszunahme vom 1. bis 21. Postnataltag bei den männlichen und den weiblichen Tieren reduziert ( $p < 0,05$ ). Die männlichen und weiblichen Jungtiere der F2-Generation zeigten am 21. Postnataltag behandlungsbedingt ein vermindertes ( $p < 0,05$ ) absolutes und relatives Milzgewicht.

Es traten keine Effekte auf Verpaarung, Fertilität, Konzeption/Kopulation oder Trächtigkeitsindex auf. Ebenfalls wurden in der Zeit vor der Verpaarung oder Dauer der Trächtigkeit keine substanzbedingten Veränderungen beobachtet. Die Länge des Östruszyklus war in beiden Generationen nicht verändert. Die Endpunkte der Spermatogenese (mittlere testikuläre und epididymale Spermien, Spermienproduktionsrate, -motilität, progressive Motilität und Morphologie) der F0- und F1-Generation blieben ohne substanzbedingte Beeinträchtigungen. Der NOAEL für Fertilität entspricht der höchsten getesteten Dosis von 1700 mg/kg Futter (entspricht 141 bzw. 157 mg/kg KG und Tag bei männlichen und weiblichen Tieren) (US EPA 2016).

## 5.5.2 Entwicklungstoxizität

In einer Entwicklungstoxizitätsstudie aus dem Jahr 1997 an Sprague-Dawley-Ratten erhielten jeweils 24 trächtige Tiere pro Dosisgruppe per Gavage vom 7. bis zum 16. Trächtigkeitstag N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5 %) in Dosierungen von 0, 30, 100 oder 300 mg/kg KG und Tag. Am 22. Trächtigkeitstag wurden die Tiere getötet, makroskopisch untersucht und die Feten auf externe, viszerale und skelettale Fehlbildungen untersucht. Es trat keine substanzbedingte Mortalität auf, jedoch Todesfälle aufgrund von fehlerhafter Gavage. Vier Tiere der Hochdosisgruppe hatten vom 8. bis zum 19. Trächtigkeitstag Atemgeräusche. Die adjustierten Körpergewichte der Hochdosisgruppe waren vom 8. bis zum 19. Trächtigkeitstag verglichen mit den Kontrolltieren statistisch signifikant vermindert (96–99 % der Kontrolle). Die Körpergewichtszunahme bei diesen Tieren betrug 82 %, bezogen auf die Kontrolltiere, und spiegelt die leicht verminderten (k. w. A.) graviden Uterusgewichte wider. Die Futtermittelaufnahme war verglichen mit den Kontrolltieren in der Hochdosisgruppe auf 83 bis 86 % statistisch signifikant reduziert. Bei der makroskopischen Untersuchung der Muttertiere wurden Ulzerationen des Magens in 0, 1, 5 bzw. 16 Tieren bei 0, 30, 100 und 300 mg/kg KG und Tag beobachtet. Verstorbene Tiere der mittleren Dosisgruppe wiesen ebenfalls Magenulzera auf. Die Befunde wurden auf die lokale Reizwirkung der Substanz zurückgeführt. Es traten keine weiteren substanzbedingten Befunde auf, so dass der LOAEL für Maternaltoxizität bei 100 mg/kg KG und Tag liegt, der NOAEL bei 30 mg/kg KG und Tag. Es traten keine substanzbedingten Effekte auf die Anzahl von Gelbkörpern, Implantations- und Resorptionsstellen, Prä- und Postimplantationsverlusten, die fetalen Körpergewichte, die Zahl der Feten pro Wurf sowie auf das Geschlechterverhältnis



auf. Ebenfalls wurden bei den Feten keine substanzbedingten externen, viszeralen oder skelettalen Fehlbildungen oder Variationen beobachtet. Der NOAEL für Entwicklungstoxizität liegt bei 300 mg/kg KG und Tag, der höchsten eingesetzten Dosis (US EPA 2016).

## 5.6 Genotoxizität

### 5.6.1 In vitro

Humane Lymphozyten von zwei Probanden wurden im Chromosomenaberrationstest drei Stunden lang gegen N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5%), gelöst in Dimethylsulfoxid (DMSO), exponiert und anschließend 17 oder 41 Stunden kultiviert. Für die Auswertung nach 17 Stunden wurden Zellen von Donor 1 (weiblich) mit und ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (S9-Mix) mit 2–20,25 µg/ml sowie Zellen von Donor 2 (männlich) ohne S9-Mix gegen 1–12,5 µg/ml und mit S9-Mix gegen 2–17,5 µg/ml inkubiert. Die Zellen von Donor 2 wurden für die Auswertung nach 41 Stunden ohne S9-Mix gegen 5–12,5 µg/ml und mit S9-Mix gegen 10–17,5 µg/ml exponiert. Der S9-Mix wurde aus Leberzellen von mit Phenobarbital und β-Naphthoflavin behandelten männlichen Sprague-Dawley-Ratten gewonnen. Basierend auf der Bestimmung der Mitose-Indices (k. w. A.) wurden die Zellen mit bis zu 10 µg/ml ohne S9-Mix und mit bis zu 15 µg/ml mit S9-Mix auf chromosomale Aberrationen untersucht. Die höheren Konzentrationen waren zytotoxisch. Nach 41 Stunden wurde in An- und Abwesenheit metabolischer Aktivierung ein statistisch signifikanter Anstieg an Aberrationen (primär Brüche und Fragmente; k. w. A.) beobachtet (k. A. zur Dosisabhängigkeit). N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wurde in dieser Untersuchung als klastogen bewertet (US EPA 2016).

Im TK<sup>+/-</sup>-Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen wurde N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5%), gelöst in DMSO, in Konzentrationen von 0,2; 0,4; 0,8; 1,6 oder 3,1 µg/ml in Abwesenheit metabolischer Aktivierung (S9-Mix) bzw. 1,6; 3,1; 6,3; 12,5 oder 25,0 µg/ml mit S9-Mix getestet. Ein zweiter Test wurde mit den Konzentrationen 0,1; 0,2; 0,4; 0,8 oder 1,6 µg/ml in Abwesenheit und mit 3,1; 6,3; 12,5; 25 oder 50 µg/ml in Anwesenheit von S9-Mix durchgeführt. In einem dritten Test wurden Konzentrationen von 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,1; 1,5 bzw. 2,0 µg/ml ohne S9-Mix eingesetzt. N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wurde hiermit bis zu zytotoxischen Konzentrationen getestet. S9-Mix wurde aus Leberzellen von mit Phenobarbital und β-Naphthoflavin behandelten männlichen Sprague-Dawley-Ratten gewonnen. Die Mutationshäufigkeit war verglichen mit der Kontrolle statistisch nicht signifikant erhöht. Die Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes Testsystem an (US EPA 2016).

### 5.6.2 In vivo

Die DNA-Reparatursynthese (UDS) in Rattenhepatozyten wurde in einer In-vivo/In-vitro-Untersuchung an männlichen Alpk:AP SD-Ratten nach Gavage von 0, 500 oder 800 mg N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on/kg KG (Reinheit 95,5%) an zwei bis drei Tieren bestimmt. Die Hepatozyten wurden zwei oder 16 Stunden nach der Behandlung isoliert und für die Bestimmung des <sup>3</sup>H-Thymidin-Einbaus kultiviert. Die höchste Dosis wurde basierend auf histopathologischen Veränderungen der Leber ausgewählt. Die DNA-Reparatursynthese war verglichen mit der Kontrolle statistisch nicht signifikant erhöht. Die Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes Testsystem an (US EPA 2016).

Ein Mikronukleustest an Erythrozyten im Knochenmark von Crl:CD-1-Mäusen wurde nach Gavage von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on (Reinheit 95,5%) in Maiskeimöl durchgeführt. Zehn männliche Tiere erhielten 1250 mg/kg KG und zehn weibliche Tiere 2000 mg/kg KG. Die Hälfte der Tiere wurde nach 24 Stunden, die übrigen nach 48 Stunden untersucht. Jeweils fünf Tiere pro Geschlecht und Zeitpunkt wurden als Negativkontrolle nur gegen Maiskeimöl exponiert. Cyclophosphamid diente als Positivkontrolle (fünf Tiere/Geschlecht, Untersuchung nach 24 Stunden). Die Anzahl an Zellen mit Mikronuklei war durch die Behandlung mit N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on statistisch nicht signifikant erhöht verglichen mit der Kontrolle. Die Positivkontrolle zeigte ein funktionierendes Testsystem an (US EPA 2016). Es liegen keine Angaben vor, ob das Zielgewebe erreicht wurde, aber es wurde bis zur höchsten, nach Prüfrichtlinie vorgeschriebenen, Dosis getestet.

## 5.7 Kanzerogenität

Hierzu liegen keine Untersuchungen vor.

## 6 Bewertung

Der kritische Effekt ist die ätzende Wirkung von N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on an der Haut von Kaninchen. Die starke lokale Reizwirkung spiegelt sich auch in oralen Untersuchungen an Ratten (Ulzera im Magen) und Hunden (Erbrechen) wider. Untersuchungen am Menschen liegen nicht vor.

**MAK-Wert.** N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wirkt an der Haut von Kaninchen ätzend. Es liegt keine Studie mit wiederholter inhalativer Exposition vor.

In einer 90-Tage-Studie an Beagle-Hunden beträgt der NOAEL 25 mg/kg KG und Tag bei täglicher Applikation. Eine 90-Tage-Fütterungsstudie an Sprague-Dawley-Ratten resultiert in einem NOAEL von ca. 16 mg/kg KG und Tag. Zur toxikokinetischen Übertragung dieser NOAEL in eine Konzentration in der Luft am Arbeitsplatz werden berücksichtigt: die tägliche Exposition der Tiere im Vergleich zur fünftägigen Exposition pro Woche am Arbeitsplatz (7:5), die den toxikokinetischen Unterschieden zwischen Hund bzw. Ratte und Mensch entsprechenden speziesspezifischen Korrekturwerte (1:1,4 bzw. 1:4), die angenommene orale Resorption (100%), das Körpergewicht (70 kg) und das Atemvolumen ( $10\text{ m}^3$ ) des Menschen sowie die angenommene 100%ige inhalative Resorption. Damit errechnen sich entsprechende Konzentrationen von  $175\text{ mg/m}^3$  ( $20,35\text{ ml/m}^3$ ) aus der Hundestudie und ca.  $39,2\text{ mg/m}^3$  ( $4,56\text{ ml/m}^3$ ) aus der Rattenstudie. Zur Extrapolation der Daten aus Tierversuchen auf den Menschen (1:2) und unter Einbezug der möglichen Zunahme der Effekte bei chronischer Exposition (1:2) ergibt sich aus der Rattenstudie eine Konzentration von  $9,8\text{ mg/m}^3$  ( $1,1\text{ ml/m}^3$ ), was nach dem Preferred Value Approach einem MAK-Wert von  $1\text{ ml/m}^3$  entspräche. Aus der Hundestudie ergibt sich bei Verwendung eines höheren Faktors für die Zeitextrapolation aufgrund der höheren Lebensdauer (1:6) ein ähnlicher Wert von  $14,6\text{ mg/m}^3$  ( $1,7\text{ ml/m}^3$ ).

Da N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on jedoch ätzend ist und keine Inhalationsstudien zur lokalen Wirkung am Atemtrakt vorliegen, kann kein MAK-Wert abgeleitet werden. Von der US EPA wird zur Bewertung der Inhalationstoxizität das strukturanaloge 4,5-Dichlor-2-octyl-2H-isothiazol-3-on (CAS-Nr. 64359-81-5) herangezogen, mit einer NOAEC von  $0,02\text{ mg/m}^3$  aus einer 90-Tage-Studie (US EPA 2016). Dieser Stoff ist ebenfalls ätzend und sensibilisierend, aber das Ausmaß der Analogie ist durch die zusätzlichen Chloratome am Ring unklar. N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wird daher dem Abschnitt IIb der MAK- und BAT-Werte-Liste zugeordnet. Eine Spitzenbegrenzung entfällt.

**Fruchtschädigende Wirkung.** Der NOAEL für Entwicklungstoxizität bei Ratten liegt bei 300 mg/kg KG und Tag, der höchsten eingesetzten Dosis. Gleichzeitig weisen die Muttertiere Ulzerationen des Magens auf.

Die Zuordnung zu einer Schwangerschaftsgruppe entfällt, da kein MAK-Wert abgeleitet wird.

**Krebserzeugende und keimzellmutagene Wirkung.** Es liegen keine Keimzellmutagenitätstests vor. Ein  $\text{TK}^{+/-}$ -Mutationstest mit L5178Y-Mauslymphomzellen ist negativ, in einem Chromosomenaberrationstest an humanen Lymphozyten jedoch wirkt N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on klastogen, was in vivo in einem Mikronukleustest an Erythrozyten im Knochenmark von CD-1-Mäusen nicht bestätigt wird. Auch die DNA-Reparatursynthese (UDS) in Rattenhepatozyten wird in einer In-vivo/In-vitro-Untersuchung nicht induziert, wobei die Tierzahl gering war. Zur Kanzerogenität liegen keine Untersuchungen vor. Auf Basis der vorliegenden Daten besteht kein Anlass, N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on in eine Kategorie für Keimzellmutagene oder Kanzerogene einzustufen.

**Hautresorption.** Für den Menschen lässt sich aus einer Modellrechnung (Abschnitt 3.1) eine maximale dermale Aufnahme von 0,268 mg bei Exposition gegen eine gesättigte wässrige Lösung unter Standardbedingungen (2000  $\text{cm}^2$  Hautoberfläche, eine Stunde Exposition) abschätzen. Die für den Menschen abgeschätzte systemische NOAEC beträgt  $9,8\text{ mg/m}^3$  (siehe oben), und die systemisch tolerable Menge bei 100 % inhalativer Resorption und einem Atemvolumen

von 10 m<sup>3</sup> beträgt 98 mg. Damit liegt die Aufnahme über die Haut bei deutlich weniger als 25 % der systemisch tolerablen Menge und N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wird nicht mit „H“ markiert.

**Sensibilisierende Wirkung.** Es liegen nur wenige klinische Befunde zur sensibilisierenden Wirkung des N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on vor. Maximierungstests an Meerschweinchen liefern sowohl positive als auch negative Ergebnisse, und im Local Lymph Node Assay wird bis zu einer Testkonzentration von 3 % keine Verdreifachung der Lymphozytenstimulation erzielt. Dennoch zeigen die klinischen Befunde, dass N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on beim Menschen eine klinisch relevante Sensibilisierung an der Haut induzieren kann. N-Butyl-1,2-benzisothiazolin-3-on wird daher mit „Sh“ markiert. Daten zur sensibilisierenden Wirkung an den Atemwegen fehlen, so dass keine Markierung mit „Sa“ erfolgt.

## Literatur

- Dahlin J, Isaksson M (2015) Occupational contact dermatitis caused by N-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one in a cutting fluid. *Contact Dermatitis* 73(1): 60–62. DOI: <https://doi.org/10.1111/cod.12391>
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020 a) 2-n-Butyl-benzo[d]isothiazol-3-one (CAS Number 4299-07-4). Registration dossier. Individual submission, first publication 27 Apr 2012, last modification 30 Mar 2020. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/9661>, abgerufen am 22 Apr 2020
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020 b) Information on biocides. Biocidal active substances: 2-n-butyl-benzo[d]isothiazol-3-one (CAS Number 4299-07-4). <https://echa.europa.eu/de/information-on-chemicals/biocidal-active-substances/-/disas/substance/100.101.927>, abgerufen am 22 Apr 2020
- Fiserova-Bergerova V, Pierce JT, Droz PO (1990) Dermal absorption potential of industrial chemicals: criteria for skin notation. *Am J Ind Med* 17(5): 617–635. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajim.4700170507>
- Foti C, Romita P, Stufano A, Lovreglio P, Vimercati L, Mazzocchi S, Antelmi A, Svedman C (2019) Occupational allergic contact dermatitis caused by 2-butyl-1,2-benzisothiazol-3(2H)-one in a metalworker. *Contact Dermatitis* 81(6): 463–465. DOI: <https://doi.org/10.1111/cod.13366>
- Noda T, Yamano T, Shimizu M (2001) Toxicity studies of N-n-butyl-1,2-benzisothiazolin-3-one. *Seikatsu Eisei* 45(3): 137–142. DOI: <https://doi.org/10.11468/seikatsueisei1957.45.137>
- Tibaldi R, ten Berge W, Drolet D (2014) Dermal absorption of chemicals: estimation by IH SkinPerm. *J Occup Environ Hyg* 11(1): 19–31. DOI: <https://doi.org/10.1080/15459624.2013.831983>
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2016) 1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one, 2-butyl (BBIT), final work plan, registration review: Initial Docket Case Number 5017, September 2016. EPA-HQ-OPP-2015-0736-0003. US EPA, Washington, DC. <https://downloads.regulations.gov/EPA-HQ-OPP-2015-0736-0003/content.pdf>, abgerufen am 18 Mrz 2021
- Yamano T, Shimizu M, Noda T (2005) Quantitative comparison of the results obtained by the multiple-dose guinea pig maximization test and the non-radioactive murine local lymph-node assay for various biocides. *Toxicology* 211(1–2): 165–175. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2005.02.014>
- Zissu D (2002) The sensitizing potential of various biocides in the guinea pig maximization test. *Contact Dermatitis* 46(4): 224–227. DOI: <https://doi.org/10.1034/j.1600-0536.2002.460407.x>