

Chlormethan

MAK-Begründung, Nachtrag

A. Hartwig^{1,*}

MAK Commission^{2,*}

¹ *Vorsitz 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*

² *Ständige Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Deutsche Forschungsgemeinschaft, Kennedyallee 40, 53175 Bonn*

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

Keywords

Chlormethan; Neurotoxizität;
Fertilität; maximale
Arbeitsplatzkonzentration;
MAK-Wert; Kanzerogenität;
Entwicklungstoxizität;
keimzellmutagene Wirkung;
Toxizität; Hautresorption

Abstract

The German Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area has re-evaluated methyl chloride [74-87-3], considering all toxicological end points. Critical effects are neurotoxicity and reduced fertility. The NOAEC for adverse effects on fertility in male rats after 3-month exposure was 150 ml/m³. A NAEC of 100 ml/m³ for reduced fertility in male rats was estimated from a 2-year study. The NOAEC for degenerations of the cerebellar granular layer is 150 ml/m³ in mice. Slight behavioural toxic effects were observed in humans at a concentration of 200 ml/m³; neurotoxic effects developed at much higher concentrations. On the basis of neurotoxic effects in humans and reduced fertility and severe neurotoxic effects in animals, the maximum concentration at the workplace (MAK value) for methyl chloride has been lowered to 10 ml/m³. As the critical effect of methyl chloride is systemic, Peak Limitation Category II is retained. The initial half-live in humans is below one hour, so an excursion factor of 1 is determined. Methyl chloride is genotoxic in vitro only at very high concentrations of 8000 ml/m³ and above. DNA adducts were not observed even with very high concentrations of methyl chloride. From in-vivo- and metabolism-studies it can be concluded that cytotoxic and secondary genotoxic effects are of prime importance. Thus, methyl chloride is not regarded as a germ cell mutagen. The observed kidney tumours occurred only in one species and sex (male mouse) and can be explained with a mechanism, that is of no relevance in humans. In comparison with methyl bromide and methyl iodide, carcinogenic effects of methyl chloride due to alkylating effects are not to be expected. However, a possible formation of DNA adducts cannot be completely excluded. If at all, these are only formed at concentrations far exceeding the MAK value and even then only to a very small extent, so that it is of no significance for the situation at the workplace. Methyl chloride is therefore not classified in a Carcinogen Category. There are no data on developmental neurotoxicity, therefore methyl chloride is assigned to Pregnancy Risk Group D. Skin contact is not expected to contribute significantly to systemic toxicity. There are no data on sensitization.

Citation Note:

Hartwig A, MAK Commission.
Chlormethan. MAK-Begründung,
Nachtrag. MAK Collect Occup
Health Saf. 2021 Sep;6(3):Doc049.
DOI: [https://doi.org/10.34865/
mb7487d6_3ad](https://doi.org/10.34865/mb7487d6_3ad)

Manuskript abgeschlossen:
24 Feb 2021

Publikationsdatum:
30 Sep 2021

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



MAK-Wert (2020)	10 ml/m³ (ppm) \approx 21 mg/m³
Spitzenbegrenzung (2020)	Kategorie II, Überschreitungsfaktor 1
Hautresorption	–
Sensibilisierende Wirkung	–
Krebserzeugende Wirkung	–
Fruchtschädigende Wirkung (2020)	Gruppe D
Keimzellmutagene Wirkung	–
BAT-Wert	–
Synonyma	Chlormethyl Methylchlorid Monochlormethan
Chemische Bezeichnung (IUPAC-Name)	Chlormethan
CAS-Nr.	74-87-3
Formel	CH ₃ Cl
Molmasse	50,49 g/mol
Schmelzpunkt	–97,4 °C (Henschler 1992 a)
Siedepunkt	–23,7 °C (Henschler 1992 a)
Dampfdruck bei 25 °C	5733 hPa (NLM 2020)
1 ml/m³ (ppm) \approx 2,09 mg/m³	1 mg/m³ \approx 0,477 ml/m³ (ppm)

Zu Chlormethan liegen eine Begründung von 1992 (Henschler 1992 a) und ein Nachtrag zur Spitzenbegrenzung von 2001 (Greim 2001) vor. Chlormethan wird in der chemischen Industrie als Zwischenprodukt zur Herstellung von z. B. Silikonen, Methylcellulose, höher chlorierten Methanen, Butylkautschuk und bei der Herstellung von Agrochemikalien, Arzneimitteln und Chemikalien zur Wasseraufbereitung verwendet. Auch im Zigarettenrauch wurde Chlormethan nachgewiesen. Früher wurde es als Inhalationsanästhetikum oder lokales Kälteanästhetikum verwendet (Bause 2019; Westhorpe 1994). Auch als Kältemittel (R 40) wurde es eingesetzt, bevor es in den 1960er Jahren durch unbrennbare Kältemittel (HCFC, CFC) ersetzt wurde. Ein Großteil des natürlich vorkommenden Chlormethans entsteht durch natürliche Prozesse durch z. B. tropische Pflanzen, holzzersetzende Pilze, in den Ozeanen und durch Verbrennen von Biomasse (Arts et al. 2019; SCOEL 2017). Die Bildung von Chlormethan bei Rindern wurde berichtet und auch beim Menschen wurden sehr geringe Mengen (2,5–33 ppbv) von Chlormethan in der Ausatemluft gefunden. Allerdings ist der Mechanismus für die Bildung und die Quelle des gemessenen Chlormethans unbekannt (Keppler et al. 2017; Williams et al. 1999).

1 Allgemeiner Wirkungscharakter

Kritische Effekte von Chlormethan sind die Neurotoxizität und der Einfluss auf die Fertilität. Beim Menschen werden erste geringfügige verhaltenstoxische Effekte bei Konzentrationen ab 200 ml/m³ beobachtet, Neurotoxizität tritt erst bei sehr viel höheren Konzentrationen auf. Die Symptome sind ähnlich wie bei durch Alkohol induzierter Trunkenheit (Kopfschmerzen, Sehstörungen, Übelkeit und Erbrechen, undeutliche Sprache, Tremor, Gedächtnisverlust etc.) und können in Krampfanfällen und Koma resultieren. Hohe akute Expositionen können sogar zum Tod führen. Bei

der Maus ist der empfindlichste Endpunkt die Degeneration der granulären Schicht des Kleinhirns ab 400 ml/m^3 . Bei männlichen Ratten ist nach dreimonatiger Exposition die Fertilität ab einer Konzentration von 475 ml/m^3 verringert.

Chlormethan wirkt *in vitro* bei zytotoxischen Konzentrationen mutagen in Bakterien sowie mutagen und klastogen in Säugerzellen. Insgesamt scheinen jedoch eher zytotoxische und sekundär genotoxische Wirkungen, wie Entzündungsreaktionen, im Vordergrund zu stehen. Obwohl *in vivo* keine DNA-Addukte bei Ratte und Maus nachgewiesen werden konnten, kann eine eventuelle Entstehung in sehr geringem Ausmaß nicht ausgeschlossen werden. Chlormethan verursacht bei der männlichen Maus Nierentumoren.

Bei einer Konzentration von 1500 ml/m^3 treten bei Feten der Ratte ein reduziertes Körpergewicht und verzögerte Ossifikationen auf. Teratogenität wird nicht festgestellt. Bei Kaninchen wird nach inhalativer Exposition gegen 1000 ml/m^3 weder Maternal- noch Entwicklungstoxizität beobachtet.

Zur sensibilisierenden Wirkung liegen keine Angaben vor.

2 Wirkungsmechanismus

Der Mechanismus der toxischen Wirkung von Chlormethan ist nicht vollständig geklärt. Bei der Metabolisierung steht die Konjugation mit Glutathion (GSH) mittels GSTT1 (Glutathion-S-Transferase T1) im Vordergrund (siehe [Abschnitt 3.2](#)). Die dabei entstehenden Metaboliten Methanthiol und möglicherweise Schwefelwasserstoff (Henschler 1992 a) wirken neurotoxisch. Methanthiol inhibiert bereits in geringen Konzentrationen die Cytochrom-Oxidase im Gehirn und wäre eine mögliche Ursache für die im Tierversuch aufgetretene Toxizität im zentralen Nervensystem und die Degeneration der granulären Schicht der Kleinhirnrinde. Ein weiterer Metabolit von Chlormethan ist Formaldehyd. Chlormethan bewirkt in den Nieren und der Leber von B6C3F1-Mäusen eine starke Depletion von Glutathion ([Abschnitt 5.6.2](#)). Dadurch kommt es, besonders in der Niere der Maus, zu erhöhten Formaldehydkonzentrationen ([Abschnitt 3.2](#)). Verstärkt wird dieser Effekt durch die ebenfalls Glutathion-abhängige Formaldehyd-Dehydrogenase (BUA 1986). Die Oxidation von Chlormethan durch Cytochrom-P450 (CYP)2E1 führt ebenfalls zur Bildung von Formaldehyd, allerdings ist dieser Metabolismus-Weg eher von untergeordneter bzw. beim Menschen ohne Bedeutung. Einen zusätzlichen Beitrag zur Toxizität könnte auch die Alkylierung von Proteinen liefern (Henschler 1992 a). Eine Alkylierung *in vivo* konnte jedoch nicht nachgewiesen werden ([Abschnitt 5.6.2](#)).

3 Toxikokinetik und Metabolismus

3.1 Aufnahme, Verteilung, Ausscheidung

Wie bereits in der Begründung von 1992 (Henschler 1992 a) beschrieben, wird Chlormethan leicht über die Lungen aufgenommen und sehr schnell metabolisiert.

In einer Studie, in der acht Probanden drei Stunden inhalativ in Ruhe gegen 100 ml/m^3 (Alter der Probanden 18–32 Jahre, k. A. zum Geschlecht) oder 200 ml/m^3 (24 Probanden, k. A. zum Geschlecht) exponiert waren, wurde innerhalb einer Stunde das Fließgleichgewicht von Chlormethan im Blut erreicht. Bei den Probanden, die gegen 200 ml/m^3 Chlormethan/ m^3 exponiert waren, betrug die durchschnittliche Konzentration von unverändert abgeatmetem Chlormethan in der alveolaren Ausatemluft $63 \pm 23,6 \text{ ml/m}^3$. Bei drei der 24 Probanden der 200-ml/m^3 -Gruppe lag die Konzentration an Chlormethan in der Ausatemluft bei über 100 ml/m^3 , während der Gehalt bei den übrigen Probanden geringer war. Die Konzentration an Chlormethan im Blut betrug $11,5 \pm 12,3 \text{ mg/l}$. Bei der Exposition gegen 100 ml/m^3 waren die durchschnittlichen Konzentrationen in der Ausatemluft $36 \pm 12 \text{ ml/m}^3$ und im Blut $7,7 \pm 6,3 \text{ mg/l}$. Die Konzentration in der Ausatemluft korrelierte mit dem Gehalt im Blut ($r = 0,85$, $n = 29$, $p < 0,01$) (Putz-Anderson et al. 1981).

In einer Probandenstudie wurden bei einer Exposition gegen 10 ml Chlormethan/m³ und 50 Watt Leistung auf einem Fahrradergometer inhalative Resorptionsquoten von etwa 50–60 % für Personen mit GSTT1-Aktivität und 16 % für Personen ohne GSTT1-Aktivität bestimmt (Löf et al. 2000).

Die Modelle zur Abschätzung der Hautresorption (Fiserova-Bergerova et al. 1990; Tibaldi et al. 2014) ergeben unter Berücksichtigung des log K_{ow} von 0,91 und einer Wasserlöslichkeit von 5,3 g/l (ECHA 2020 b) unter Standardbedingungen (2000 cm² Hautoberfläche, eine Stunde Exposition) eine Resorption durch die Haut aus einer gesättigten wässrigen Lösung von 404 bzw. 59 mg. Es ist allerdings sehr fraglich, ob Chlormethan in wässriger Lösung eingesetzt wird. Mit der Henry-Konstante von 0,00882 atm × m³/mol (NLM 2020) lässt sich bei einer Konzentration von 10 ml/m³ Luft eine Konzentration von $0,57 \times 10^{-4}$ g/l in einem wässrigen Film auf der Haut berechnen. Daraus ergeben sich bei achtstündiger Ganzkörperexposition (18 000 cm²) mit den beiden o.g. Modellen Aufnahmen von 313 bzw. 46 µg.

Der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient liegt beim Menschen in einem Bereich von 2,12 bis 2,49 bei einer Exposition gegen 10 ml Chlormethan/m³ und bei der Ratte bei ca. 2,47 (US EPA 2001).

3.2 Metabolismus

Im Vordergrund steht bei der Metabolisierung von Chlormethan die Konjugation mit GSH, die durch GSTT1 katalysiert wird. Das dabei gebildete S-Methylglutathion wird zum S-Methylcystein weiter metabolisiert und entweder mit dem Urin ausgeschieden oder zu Methanthiol und CO₂ umgesetzt. Ein zusätzlicher Metabolisierungsweg ist die direkte Dehalogenierung durch Oxidation mittels CYP2E1 und damit einhergehender Bildung von Formaldehyd und Formiat. Dies wurde bereits ausführlich in der Begründung 1992 dargestellt (Henschler 1992 a).

3.2.1 Konjugation mit Glutathion durch GSTT1

Beim Menschen sind Polymorphismen für GSTT1 beschrieben: Die homozygote Deletion des funktionalen Gens (*GSTT1*(-/-)) führt zur vollkommenen Inaktivität der GSTT1 (Nicht-Konjugierer). Personen mit heterozygoter Deletion (*GSTT1*(+/-)) sind zum Metabolismus durch GSTT1 fähig, wenn auch in etwas geringerem Ausmaß als Personen mit zwei funktionalen Allelen. Die Verteilung der drei Konjugierertypen ist in den verschiedenen Bevölkerungsgruppen sehr unterschiedlich, so ergab eine Studie in Schweden ca. 10 % Nicht-Konjugierer (*GSTT1*(-/-)), 50 % langsame Konjugierer (*GSTT1*(+/-)) und 40 % schnelle Konjugierer (*GSTT1*(+/+)). In der asiatischen Bevölkerung ist der Anteil an Nicht-Konjugierern sehr viel höher (Löf et al. 2000; Warholm et al. 1995).

In einer Probandenstudie wurde der Chlormethan-Metabolismus untersucht: Jeweils acht Personen der drei verschiedenen *GSTT1*-Genotypen wurden zwei Stunden lang gegen 10 ml Chlormethan/m³ exponiert während sie sich auf einem Fahrradergometer (50 Watt) bewegten. Vor, während und bis zu vier Stunden nach Beendigung der Exposition wurden Blutproben entnommen. Außerdem wurde der Urin 2, 4, 6, 13 und 22 Stunden nach Beendigung der Exposition untersucht und der Gehalt des Metaboliten S-Methylcystein gemessen. Die Nicht-Konjugierer hatten eine geringere (44 µmol, 95%-Konfidenzintervall (KI): 29–59) respiratorische Netto-Aufnahme von Chlormethan und unterschieden sich damit statistisch signifikant von den mittleren (158 µmol, 95%-KI: 124–192) und schnellen (243 µmol, 95%-KI: 174–312) Konjugierern. Die Clearance über die Ausatemluft während der Exposition war bei allen drei Genotypen ähnlich, allerdings war in der Gruppe der Nicht-Konjugierer die Konzentration von Chlormethan in der Ausatemluft, gemessen nach Beendigung der Exposition, viel höher als bei den schnellen und mittleren Konjugierern. Vier Stunden nach der Exposition entsprach die Chlormethan-Konzentration in der Ausatemluft bei den Nicht-Konjugierern in etwa der Konzentration, die bei den schnellen Konjugierern nach einer Stunde gemessen worden war. Die Kompartiment-Analyse ergab für die schnellen Konjugierer die höchste metabolische Clearance (Mittelwert 4,6 l/min; 95%-KI: 3,1–6,1), für die mittleren Konjugierer 2,4 l/min (95%-KI: 1,9–2,9) und bei den Nicht-Konjugierern keine metabolische Clearance (0 l/min, 95%-KI: -0,1 – +0,1). Alle drei Gruppen unterschieden sich statistisch signifikant voneinander. Die Chlormethan-Blutspiegel von GSH-Konjugierern und Nicht-Konjugierern unterschieden sich jedoch nicht wesentlich. Die Halbwertszeit von Chlormethan im Blut lag im Minutenbereich (Löf et al. 2000). Ausgehend von dem oberen Konfidenzintervall von 0,1 l/min bei den Nicht-Konjugierern beträgt der Anteil der Metabolisierung von Chlormethan durch Oxidation über CYP2E1 geschätzt maximal nur ca. 2 %.

Im Gegensatz zum Tier (Ratte, Maus, Rind, Schwein, Schaf, Rhesusaffe) enthalten humane Erythrozyten GSTT1 und sind damit zur Metabolisierung von Chlormethan im Blut fähig. Die Aktivität der GSTT1 im Leber- und Nierengewebe von schnellen Konjugierern ist doppelt so hoch wie die der mittleren Konjugierer und 2–7-mal höher in der Leber als in der Niere. Der Vergleich der Enzymaktivität in Leber und Niere des Menschen mit der von Ratte, Maus und Hamster ergibt folgende Reihenfolge: Maus > schnelle Konjugierer > Ratte > mittlere Konjugierer > Hamster > Nicht-Konjugierer (SCOEL 2017; US EPA 2001).

3.2.2 Oxidation

Bei der Ratte und der Maus wird Chlormethan in der Leber oxidativ durch CYP2E1 zu Formaldehyd metabolisiert. Ein Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Tieren in der Enzymaktivität oder -menge wurde nicht gefunden. Mit Nierenmikrosomen von Ratten konnte keine Metabolisierung von Chlormethan festgestellt werden. Bei männlichen und weiblichen CD-1-Mäusen jedoch wurde in den Nierenmikrosomen eine Aktivität von CYP2E1 nachgewiesen. Bei der männlichen CD-1-Maus ist sowohl die Aktivität als auch die Menge des nachgewiesenen CYP2E1 sehr viel höher als bei der weiblichen CD-1-Maus. Durch die Gabe von Testosteron konnte die Aktivität von CYP2E1 bei der weiblichen Maus gesteigert werden, umgekehrt geht die Konzentration und Aktivität von CYP2E1 bei kastrierten männlichen Mäusen bis etwa zum gleichen Niveau wie bei den weiblichen Tieren zurück. Das renale CYP2E1 lässt sich, im Gegensatz zu CYP2E1 aus der Leber von Mäusen und Ratten, nicht durch Ethanol induzieren (Dekant et al. 1995).

4 Erfahrungen beim Menschen

Sowohl nach einmaliger als auch nach wiederholter Exposition gegen hohe Konzentrationen von Chlormethan kommt es zunächst zu präanarkotischen Symptomen, wie Kopfschmerzen, Schwindel, Bewusstseinsstörungen, ausgeprägtem Schlafbedürfnis und gastrointestinalen Beschwerden wie Übelkeit und Erbrechen. Nach einem beschwerdefreien Intervall von ca. zwei Tagen werden neurotoxische Wirkungen wie hirnorganische Persönlichkeitsveränderungen, Tremor, tonisch-klonische Krämpfe, Schluckauf oder vorübergehende Lähmungen beobachtet. Auch das optische System kann mitbetroffen sein. Die Wirkung auf die Zielorgane äußert sich in Form von Myokardschädigung mit typischen EKG-Veränderungen, an der Leber durch Organvergrößerung, Ikterus und pathologische Leberfunktionsproben. Die Parenchymdegeneration erfolgt herdförmig. An der Niere werden Zeichen einer Nephritis beobachtet, histopathologische Veränderungen wie Kongestion, Hämorrhagie, Degenerationsherde und Tubulusnekrose treten auf. An der Lunge werden Hyperämie, Kongestion und Hämorrhagie beobachtet. Wenn die Chlormethan-Vergiftung nicht tödlich ist, können sich die Schädigungen am Zentralnervensystem und an den weiteren Organen unter Umständen voll zurückbilden. Häufig bleiben jedoch Defekte bestehen. Die meisten der zahlreich beschriebenen gewerblichen Vergiftungen verliefen akut; Konzentrationen am Arbeitsplatz wurden dabei nicht gemessen. Nur vereinzelt wurde über chronische Vergiftungen berichtet, ebenfalls ohne Angabe von Luftkonzentrationen (Henschler 1992 a).

4.1 Einmalige Exposition

In der bereits in [Abschnitt 3.1](#) beschriebenen Probandenstudie wurden auch verhaltenstoxikologische Untersuchungen („eye-hand coordination, mental alertness, and time discrimination“) durchgeführt. Die Probanden wurden drei Stunden lang gegen 0, 100 (acht Probanden, k. A. zum Geschlecht) oder 200 ml Chlormethan/m³ (24 Probanden, k. A. zum Geschlecht) exponiert. Jeder Proband wurde 70 Minuten lang trainiert. Die Verhaltenstests wurden vor und während der Exposition durchgeführt. Die Ergebnisse vor der Exposition dienten als Kontrolle. Die Daten aus den Verhaltenstests der Probanden, die gegen 100 ml/m³ exponiert waren, wurden nicht in die statistische Auswertung aufgenommen, da die Anzahl der Probanden zu gering war. Die Daten der Probanden, die gegen 200 ml/m³ exponiert waren, zeigten einen minimalen, aber statistisch signifikanten ($p < 0,053$) Einfluss der Chlormethan-Exposition. Im Mittel waren die Ergebnisse aus den Verhaltenstests während der Exposition gegen 200 ml Chlormethan/m³ um 6,7 % schlechter als vor der Exposition. In der Kontrollgruppe ohne Chlormethan waren die Ergebnisse im Vergleich zu denen vor der Exposition im Mittel 2,73 % schlechter. Angaben zur Reizwirkung wurden keine gemacht (Putz-Anderson et al. 1981).

4.2 Wiederholte Exposition

Die Effekte einer Chlormethan-Exposition, der eine Schiffs-Crew im Jahr 1963 ausgesetzt war, wurden in zwei Kohortenstudien untersucht (Rafnsson und Gudmundsson 1997; Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014). Chlormethan trat aus einem defekten Gefriergerät aus, das von den Crewmitgliedern repariert und mit Chlormethan nachgefüllt wurde. Das Gefriergerät befand sich direkt unterhalb der Quartiere von 17 Crewmitgliedern („deckhands“, Deckarbeiter). Elf weitere Crewmitglieder, darunter sieben Offiziere, waren nur während der Reparatur des Gefriergerätes oder während sie sich um ihre kranken Kollegen kümmerten, exponiert. Eine Expositions-Messung an Bord des Schiffes hat nicht stattgefunden, eine grobe Abschätzung über die Höhe der Exposition liegt im Bereich von 100–1000 ml Chlormethan/m³ (Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014). Die ersten Symptome (k. w. A.) einer Vergiftung traten zwei Tage nach dem Entdecken des Lecks und der anschließenden Reparatur auf. Insgesamt war die Schiffscrew vermutlich vier Tage lang gegen Chlormethan exponiert. Die Nachbeobachtung der Kohorte begann im Jahr 1966 und endete im Jahr 1997 (Rafnsson und Gudmundsson 1997) bzw. begann 1963 und endete 2010 (Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014). Ein Deckarbeiter starb am zweiten Tag nach der Entdeckung des Lecks, 15 weitere zeigten Anzeichen einer Chlormethan-Vergiftung und wurden zum Teil mehrere Wochen im Krankenhaus behandelt. Im Laufe der nächsten 18 Monate nach dem Unfall entwickelten zwei Crewmitglieder starke Depressionen und begingen Suizid, ein weiteres Crewmitglied ist auf See verschollen. Ein Deckarbeiter emigrierte nach drei Jahren ins Ausland, daher konnten keine Nachbeobachtungsdaten erhoben werden. Insgesamt standen für den Beobachtungszeitraum von 1966 bis 1997 (Rafnsson und Gudmundsson 1997) 24 Crewmitglieder (18 Deckarbeiter, 6 Offiziere) zur Verfügung, für den Zeitraum von 1963 bis 2010 (Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014) 27 Crewmitglieder (20 Deckarbeiter, 7 Offiziere). Als Kontrollgruppe wurden aus dem Register der Deckarbeiter und Offiziere für jedes Crewmitglied fünf Personen gewählt, die bezüglich Alter und Beschäftigung den Crewmitgliedern entsprachen (120 bzw. 135 Kontrollpersonen). Die Daten zur Nachbeobachtung stammen aus dem nationalen Todesursachen-Register von Island und dem isländischen Krebs-Register. Die Anzahl der Crewmitglieder, die an Herz-Kreislauf-erkrankungen verstarben, war signifikant erhöht, vor allem bei den gegen höhere Konzentrationen ausgesetzten Deckarbeitern (Deckarbeiter: 5/18, Rate Ratio (RR) 3,9; 95%-KI: 1,0–14,4; Offiziere: 3/6; RR: 1,7; 95%-KI: 0,3–6,4) (Rafnsson und Gudmundsson 1997). Dies wurde in der neueren Untersuchung bestätigt, bei der ebenfalls erhöhte Mortalität aufgrund von Herz-Kreislauf-Erkrankungen beobachtet wurde (Hazard Ratio (HR): 2,06; 95%-KI: 1,02–4,15). Die beiden Suizid-Fälle wurden von den Autoren ebenfalls auf die Chlormethan-Exposition zurückgeführt (HR: 13,76; 95%-KI: 1,18–160,07). Insgesamt zeigte sich eine erhöhte Mortalität bei den Crewmitgliedern verglichen mit der Kontrollgruppe (HR: 2,10; 95%-KI: 1,28–3,46) (Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014). Allerdings ist die Aussagekraft beider Studien limitiert, da die Exposition im Nachhinein nur abgeschätzt werden konnte und auch Angaben über mögliche Confounder fehlen.

Insgesamt neun männliche Probanden wurden eine (n = 2), drei (n = 3) oder 7,5 (n = 4) Stunden pro Tag gegen Chlormethan in Ruhe und bei 7,5-stündiger Exposition auch bei körperlicher Belastung exponiert. Die Exposition erfolgte nach folgendem Schema: erste Woche: zwei Tage 0 ml/m³; zweite Woche: fünf Tage 100 ml/m³; dritte Woche: vier Tage 20 ml/m³; vierte Woche: zwei Tage 0 ml/m³; fünfte Woche: fünf Tage 100 ml/m³ (fluktuierend von 50–150 ml/m³); sechste Woche: zwei Tage 150 ml/m³ und ein Tag 0 ml/m³. Neun weibliche Probanden wurden eine (n = 2), drei (n = 3) oder 7,5 (n = 4) Stunden pro Tag nach diesem Schema exponiert: erste Woche: ein Tag 0 ml/m³; zweite Woche: fünf Tage 100 ml/m³; dritte Woche: ein Tag 0 ml/m³. Die Probanden wurden während der Studie (einmal pro Woche) und nach der letzten Exposition umfangreich medizinisch untersucht: klinische Untersuchung, Blutuntersuchung, biochemische Parameter, EKG, kognitive Tests. Elektroenzephalogramme, visuell evozierte Potentiale und Elektromyogramme wurden bei den männlichen Probanden mit 7,5-stündiger Exposition mehrfach aufgenommen. Jeden Tag wurde der Blutdruck und die Körpertemperatur überprüft, nach subjektiven Symptomen gefragt und der Urin analysiert. Die Ausatemluft wurde unmittelbar sowie 15, 30, 60, 120 und 180 Minuten nach der Exposition gemessen. Drei der Probanden und eine Probandin hatten zwei- bis sechsfach erhöhte Konzentrationen von Chlormethan im Blut und in der Ausatemluft. Zu keinem Zeitpunkt nach der Exposition waren Änderungen in den Verhaltens-/kognitiven Tests, im EKG und der Ventilationsrate zu beobachten. Eine leichte respiratorische Azidose wurde nach Exposition gegen 100 ml Chlormethan/m³ (fluktuierend) unter körperlicher Belastung gemessen. Einige Probanden entwickelten während der Studie eine Erkältung und hatten Halsschmerzen (Stewart et al. 1980).

In einer Follow-up-Studie wurde die Mortalität von 852 männlichen Arbeitern untersucht, die zwischen den Jahren 1943 und 1978 mindestens für einen Monat in einer Fabrik, in der Butylkautschuk hergestellt wurde, angestellt waren. Die Informationen zum Gesundheitsstatus stammten aus Personal-Formularen, medizinischen Aufzeichnungen und Sterbeurkunden. Als Kontrolle wurden die altersspezifischen Sterberaten von männlichen weißen US-Amerikanern aus vergleichbaren Kalenderjahren herangezogen. Jede Arbeitsbeschreibung und der dazugehörige Arbeitsplatz wurde bezüglich der möglichen Exposition gegen Chlormethan eingeteilt in geringe, mittlere oder hohe Exposition ([Abschnitt 4.7.2](#)). Bei der Betrachtung aller Todesursachen wurde keine erhöhte Mortalität festgestellt (Standardisiertes Mortalitätsverhältnis (SMR): 82; 95%-KI: 68–98) ebenso wie für Todesfälle aufgrund von Herz-Kreislauf-Erkrankungen (SMR: 97; 95%-KI: 76–123) (Holmes et al. 1986). Da das SMR für Todesfälle aufgrund von Herz-Kreislauf-Erkrankungen gegen 100 tendiert, kann laut EPA (US EPA 2001) ein möglicher substanzbedingter Effekt, der durch einen „healthy worker effect“ überlagert wird, nicht ausgeschlossen werden. Diese Studie ist nur eingeschränkt bewertbar, da die Expositionen nur geschätzt wurden und eine Mischexposition mit anderen Chemikalien nicht ausgeschlossen werden kann.

Eine Studie an Beschäftigten einer chemischen Produktionsfirma, die auch gegen Chlormethan exponiert waren (Olsen et al. 1989), wird aufgrund von Mischexposition und fehlender Angaben zu Expositionshöhe und -dauer nicht zur Bewertung der Toxizität von Chlormethan herangezogen.

4.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Nach zweistündiger Exposition gegen 10 ml Chlormethan/m³ wurden von keinem der 24 Probanden Reizwirkungen angegeben (Löf et al. 2000). Ebenso wurden keine subjektiven Symptome von den Probanden der Studie von Stewart et al. (1980) bei Konzentrationen bis 150 ml/m³ berichtet und keine Reizwirkungen in der Studie von Putz-Anderson et al. (1981) bei 200 ml/m³ beschrieben.

4.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.5 Reproduktionstoxizität

Ein Fallbericht handelt von einem Kind mit Sakralagenesie, dessen Mutter gegen Chlormethan und Ammoniak exponiert war. In einem zweiten Bericht wird eine Assoziation zwischen Sakralagenesie bei fünf Kindern von Müttern, die während ihrer Schwangerschaft Kontakt zu Trichlorethen, Chlormethan und anderen Chemikalien hatten, beschrieben. In einer Studie an weiblichen ehemaligen Beschäftigten eines Mikroelektronikmontagewerkes in New Mexiko zeigte sich bei 90 Mutter-Kind-Paaren im Vergleich zu einer Gruppe ohne Chemikalienexposition ein erhöhtes Risiko von Spontanaborten nach der Exposition gegen verschiedene Chemikalien. Chlormethan war jedoch nur eine Substanz von vielen anderen, wie Fluorchlorkohlenwasserstoffe, chlorierte Kohlenwasserstoffe, Glykolether, Isopropanol, Aceton, Toluol, Xylol und „Alkohol“, gegen die die Frauen exponiert waren (US EPA 2001). Aufgrund der geringen Fallzahl und der Mischexposition kann keine Bewertung der Reproduktionstoxizität von Chlormethan anhand dieser Studie erfolgen.

4.6 Genotoxizität

Hierzu liegen keine Daten vor.

4.7 Kanzerogenität

4.7.1 Fall-Kontroll-Studien

In einer Fall-Kontroll-Studie wurde der Zusammenhang zwischen einer Exposition gegen Chemikalien am Arbeitsplatz und Pankreaskrebs anhand von Sterbeurkunden bei 63 097 Personen untersucht, die von 1984 bis 1993 in 24 US-Bundesstaaten an Pankreaskrebs gestorben waren. Als Kontrolle dienten die Daten aus den Sterbeurkunden von 252 386 Personen, die nicht an Krebserkrankungen gestorben waren. Aus den vorliegenden Daten wurde der Arbeitsplatz ermittelt und daraus eine mögliche Exposition gegen bestimmte Chemikalien, unter anderem Chlormethan, mittels einer „job-exposure-matrix“ abgeschätzt. Allerdings konnten aus den Sterbeurkunden keine detaillierten Daten über den Arbeitsplatz, Exposition gegen Chemikalien und etwaige Störgrößen ermittelt werden, so dass die Studie nur eine limitierte Aussagekraft besitzt. Es wurde kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Pankreaskrebs und einer angenommenen niedrigen, mittleren oder hohen Exposition (keine weiteren Angaben) gegen Chlormethan gefunden (Kernan et al. 1999).

Das Auftreten von Krebserkrankungen der Atemwege (Trachea, Bronchien, Lunge oder Pleura) in einer Silikonproduzierenden Firma bei Personen, die zwischen den Jahren 1943 und 1980 in der Firma gearbeitet hatten, wurde in einer Fall-Kontroll-Studie untersucht. In einer vorangegangenen retrospektiven Mortalitäts-Studie wurde für die 1942 Personen, die in diesem Zeitraum angestellt waren, ein nicht signifikanter Anstieg an Krebserkrankungen der Atemwege festgestellt (beobachtet: 30; erwartet: 24,9; SMR: 120,5; 95%-KI: 81,3–172,0). Bei Arbeitern, die länger als 20 Jahre angestellt waren traten 18 Fälle einer Krebserkrankung auf (erwartet: 8,5, SMR: 211,9; 95%-KI: 131,9–351,6). Um diese Ergebnisse weiter zu untersuchen, wurde eine Fall-Kontroll-Studie durchgeführt. Für jede Person mit einer Krebserkrankung wurden aus der Gesamtheit aller jemals bei dieser Firma angestellten Personen vier Kontrollpersonen ausgewählt, die sich bezüglich des Geburtsjahres und des Anstellungszeitpunktes um nicht mehr als fünf Jahre von den Fällen unterschieden. Als Quelle für das Auffinden der Krebsfälle dienten in erster Linie Sterbeurkunden und Versicherungsunterlagen, Informationen zum Rauchverhalten wurden aus medizinischen Fragebögen entnommen, die im Rahmen einer betrieblichen Gesundheitsüberwachung erhoben wurden bzw. durch Befragung von Kollegen. Untersucht wurde ein möglicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Krebserkrankung der Atemwege und dem Arbeitsplatz innerhalb der Firma, der Tätigkeit („job title“) und der Exposition gegen Chemikalien. Mittels einer historischen Erhebung wurden die Substanzen ermittelt, die in den Arbeitsbereichen vorkamen: (1) Substanzen, die bekanntermaßen atemwegskanzerogen sind (u. a. Asbest, Chrom, Cadmium), (2) Substanzen, die im Verdacht stehen, atemwegskanzerogen zu sein (u. a. Dimethylsulfat, Formaldehyd, Vinylchlorid) und (3) Substanzen, bei denen die Gefahr einer Inhalation besteht (hauptsächlich bei der Silikonproduktion) oder für die zu wenige Daten zur Sicherheit existieren (u. a. Chlorsilane, Chlormethan, amorphes Siliciumdioxid). Um die Exposition abzuschätzen, wurde für jeden Arbeitsbereich festgelegt, ob dabei kein Kontakt mit einer bestimmten Substanz, ein gelegentlicher Kontakt (die Substanz wurde zwar im Arbeitsumfeld benutzt, aber es fand keine direkte Nutzung statt) oder routinemäßiger Kontakt mit der Substanz erfolgte. Für Chlormethan ergaben sich folgende Odds-Ratios: für alle Personen unabhängig von der Beschäftigungsdauer: gelegentlicher Kontakt: 0,39 (95%-KI: 0,17–0,92), routinemäßiger Kontakt: 0,91 (95%-KI: 0,41–2,02) und ohne Kontakt: 0,56 (95%-KI: 0,26–1,20). Für Personen, die mehr als fünf Jahre angestellt waren: gelegentlicher Kontakt: 0,28 (95%-KI: 0,08–0,96), routinemäßiger Kontakt: 0,53 (95%-KI: 0,17–1,59) und ohne Kontakt: 0,43 (95%-KI: 0,18–1,00). Personen mit einer Beschäftigungsdauer von mehr als zehn Jahren: beiläufiger Kontakt: 0,29 (95%-KI: 0,06–0,127), routinemäßiger Kontakt: 0,87 (95%-KI: 0,27–2,79) und ohne Kontakt: 0,48 (95%-KI: 0,18–1,22). Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Krebserkrankung der Atemwege und einer Exposition gegen Chlormethan konnte somit nicht gezeigt werden (Dow Corning Corporation 1994). Die Studie weist erhebliche Mängel auf (u. a. relativ geringe Anzahl an Krebsfällen, fehlende Messung der Expositionskonzentration, ungenaue Beschreibung von Fällen, Kontrollen und Methoden, ungewöhnlich hoher Anteil an Rauchern sowohl in der Gruppe der Personen mit einer Krebserkrankung als auch in der Kontrollgruppe), so dass die Aussagekraft dieser Studie sehr begrenzt ist und sie nicht für eine Bewertung herangezogen werden kann.

4.7.2 Kohortenstudien

In den bereits in [Abschnitt 4.2](#) beschriebenen Kohortenstudien zur Untersuchung der unfallartigen Chlormethan-Exposition auf einem Schiff (Rafnsson und Gudmundsson 1997; Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014) konnten keine Effekte von Chlormethan auf die Mortalität aufgrund von Krebserkrankungen im Allgemeinen (Deckarbeiter: RR: 0,6; 95%-KI: 0,0–4,4; Offiziere: RR: 5,0; 95%-KI: 0,4–43,8) oder aufgrund von Lungenkrebs (Deckarbeiter: RR: 2,7; 95%-KI: 0,1–53,6; Offiziere: keine Lungentumore) festgestellt werden (Rafnsson und Gudmundsson 1997). Allerdings sind die Kohorten- und Fallzahlen sehr klein, die 95%-KI sehr breit und schließen die Eins mit ein, so dass eine eindeutige Aussage über das Krebsrisiko nicht möglich ist. Dies gilt auch für die Nachfolge-Untersuchung von Rafnsson und Kristbjornsdottir (2014). Das Hazard Ratio in dieser Studie für alle Krebsarten ist 2,07 (95%-KI: 0,85–5,04), für Nierenkrebs 9,35 (95%-KI: 1,28–68,24). Informationen über mögliche Confounder fehlen in dieser Studie (Rafnsson und Kristbjornsdottir 2014).

In der bereits in [Abschnitt 4.2](#) beschriebenen Follow-up-Studie an Arbeitern in einer Butylkautschuk herstellenden Fabrik (Holmes et al. 1986) wurde keine statistisch signifikant erhöhte Mortalität aufgrund von malignen neoplastischen Veränderungen bezüglich des Zeitpunkts der ersten Anstellung (SMR: 1943–1950: 58; 1951–1960: 107; 1961–1978: –; 95%-KI nicht angegeben), der Dauer der Exposition gegen Chlormethan (SMR: weniger als 12 Monate: 92; 12 bis 60 Monate: 25, mehr als 60 Monate: 64; 95%-KI nicht angegeben) oder der Höhe der Exposition (SMR: geringe Exposition: 42; mittlere: 45, hohe: 65; 95%-KI nicht angegeben) festgestellt. Insgesamt wurde bei den Arbeitern keine erhöhte Mortalität aufgrund maligner Neoplasien (ICD (internationale statistische Klassifikation von Krankheiten) 140–209: Verdauungsorgane/Peritoneum (ICD 150-159); Atmungssystem (ICD 160-163), lymphatisches Gewebe (ICD 200-209), andere Gewebe (ICD 190-199)) beobachtet (weiße Arbeiter: SMR: 66, 95%-KI: 40–103; nicht-weiße Arbeiter: SMR: 63, 95%-KI: 32–113) (Holmes et al. 1986). Da die Expositionen nur geschätzt und Störfaktoren nicht berücksichtigt wurden, sowie eine Mischexposition mit anderen Chemikalien nicht ausgeschlossen werden kann, ist diese Studie nicht für die Bewertung von Chlormethan verwendbar.

5 Tierexperimentelle Befunde und In-vitro-Untersuchungen

5.1 Akute Toxizität

Seit dem Nachtrag von 1992 kam nur eine Untersuchung zur akuten Toxizität hinzu. Dabei handelt es sich um eine unveröffentlichte Studie, die im REACH-Registrierungsdossier (ECHA 2020 b) beschrieben ist und nach der OECD-Prüfrichtlinie 403 durchgeführt wurde. Je fünf männliche und weibliche HsdRccHan (TM):WIST-Ratten wurden inhalativ nur über die Nase gegen 99,99%iges Chlormethan in Konzentrationen von 4020, 8420 oder 21800 mg/m³ (1918, 4016, 10399 ml/m³) vier Stunden lang exponiert. Die Nachbeobachtungszeit betrug 14 Tage. Bei allen Tieren wurde eine erhöhte Respirationsrate während der Exposition, während der Entnahme aus der Expositions-kammer und eine Stunde nach der Exposition beobachtet (danach waren die Tiere der niedrigsten Konzentrationsgruppe nicht mehr auffällig, zu den anderen beiden Konzentrationsgruppen fehlen weitere Angaben). In der höchsten Konzentrationsgruppe zeigte sich bei zwei weiblichen Tieren ein leicht reduziertes Körpergewicht oder reduzierte Körpergewichtsentwicklung in der ersten Woche nach der Exposition, bei einem der beiden Tiere auch in der zweiten Woche. Bei zwei weiblichen und einem männlichen Tier der mittleren Konzentrationsgruppe wurde ebenfalls in der ersten Woche nach der Exposition ein leicht reduziertes Körpergewicht oder reduzierte Körpergewichtsentwicklung beobachtet. Alle anderen Tiere hatten eine normale Körpergewichtsentwicklung während der Studie. Bei der makroskopischen Untersuchung wurden bei mehreren Tieren (k. w. A.) dunkle Flecken in der Lunge und gesprenkelt aussehende Nieren beobachtet. Die 4-Stunden-LC₅₀ ist höher als 21800 mg/m³.

5.2 Subakute, subchronische und chronische Toxizität

Im Folgenden werden die Inhalationsstudien mit den niedrigsten Konzentrationen und die 2-Jahre-Studie ausführlich dargestellt. Diese Studien sind in [Tabelle 1](#) aufgeführt.

Die funktionalen (Leistung im beschleunigenden Rotarod-Test) und morphologischen Effekte einer kontinuierlichen und intermittierenden Exposition gegen Chlormethan wurden in einer 11-Tage-Studie mit weiblichen C57BL/6-Mäusen untersucht. Jeweils zwölf Mäuse pro Gruppe wurden kontinuierlich 22–22,5 Stunden oder intermittierend 5,5 Stunden pro Tag gegen Chlormethan (Reinheit 99,5 %) exponiert. Es gab zwei verschiedene Expositionsserien: In der ersten Serie wurde kontinuierlich gegen 0, 100, 200 oder 400 ml/m³ und intermittierend gegen 0, 400, 800 oder 1600 ml/m³ exponiert. In der zweiten Serie waren die Konzentrationen bei kontinuierlicher Exposition 0, 15, 50 oder 150 ml/m³ und bei intermittierender Exposition 0, 150 oder 2400 ml/m³. Für die neurofunktionale Rotarod-Testung wurden die Mäuse zwei Wochen lang viermal pro Woche trainiert. Nur Mäuse, die sich eine Minute lang auf dem mit 20 Umdrehungen pro Minute (UpM) rotierenden Zylinder halten konnten, wurden für die neurofunktionale Testung verwendet. Weitere Trainingseinheiten fanden am sechsten, achten und zehnten Tag der Exposition statt, routinemäßig mit einer Zylindergeschwindigkeit von 20 UpM. Die Tiere wurden am vierten, achten und elften Tag der Exposition mit einem Zylinder mit zunehmender Geschwindigkeit (von 10 bis maximal 70 UpM) getestet und die Zeit, die sie sich auf dem Zylinder halten konnten, gemessen. Bei der ersten Expositionsserie wurden sechs zufällig ausgewählte Tiere morphologisch untersucht, bei der zweiten Expositionsserie alle zwölf. Die Tiere wurden am vierten und achten Tag sowie am Ende der Exposition planmäßig getötet und untersucht. Zusätzlich wurden noch einige Tiere der Kontrolle und der kontinuierlichen Exposition gegen 150 ml/m³ an Tag eins, zwei und sechs nekropsiert. Untersucht wurden Kleinhirn, Großhirn, Hirnstamm, periphere Nerven, Rückenwirbel und -mark sowie ein routinemäßiges Spektrum weiterer Gewebe (u. a. Leber, Nieren, Thymus). Die Tiere, die **kontinuierlich** gegen 400 ml/m³ exponiert waren, mussten vorzeitig aufgrund ihres moribunden Zustandes nach vier Tagen getötet werden, bei einer kontinuierlichen Exposition gegen 200 ml/m³ zeigten die Tiere nach drei Tagen Ataxie und verminderte Futteraufnahme, nach fünf Tagen waren die Tiere tot oder moribund. Nach der kontinuierlichen Exposition gegen 150 ml/m³ waren die Tiere abgemagert und wurden aufgrund des moribunden Zustandes nach 10,5 Tagen getötet. Die Tiere, die **intermittierend** gegen 2400 ml/m³ exponiert wurden, bewegten sich nach fünftägiger Exposition langsam und zeigten gesträubtes Fell und Abmagerung und mussten nach acht bzw. neun Tagen aufgrund ihres moribunden Zustandes getötet werden. Tiere der 1600-ml/m³-Gruppe zeigten weniger starke Effekte: Nach 11-tägiger Exposition traten steife Hinterbeine auf. Einige Mäuse dieser Gruppe zeigten eine erhöhte Erregbarkeit und zwei Mäuse zeigten die Tendenz sich auf den Hinterbeinen aufzubauen. Diese Effekte verschwanden jedoch gewöhnlich nach der Erholungsphase über Nacht.

Nach **kontinuierlicher** Exposition gegen 100 ml/m³ und mehr wurden histopathologisch bei allen Tieren degenerative Veränderungen (Pyknose und Karyorrhexie) im Kleinhirn nachgewiesen, die hauptsächlich die granulären Zellschichten betrafen (100 ml/m³: leichte Degenerationen, 150 ml/m³: mäßige Degenerationen, 200 und 400 ml/m³: schwere Degenerationen). Ab 100 ml/m³ traten auch Effekte auf die Leber auf, die vermutlich auf eine Glykogen-Depletion zurückzuführen sind. Die Stärke der Effekte nahm mit zunehmender Konzentration zu. In den Gruppen, die gegen 15 oder 50 ml/m³ kontinuierlich exponiert waren, wurden keine substanzbedingten Veränderungen festgestellt. Bei der neurofunktionalen Testung mit dem Rotarod-Test zeigten die Tiere bei 150 ml/m³ eine statistisch signifikant verminderte Leistung am vierten und achten Tag (keine Testung am elften Tag, da die Tiere vorher aufgrund des moribunden Zustandes getötet werden mussten). Die Tiere der 200- und 400-ml/m³-Gruppen konnten aufgrund ihres moribunden Zustandes nicht getestet werden. Die NOAEC für kontinuierliche Exposition liegt bei 50 ml/m³, die LOAEC bei 100 ml/m³.

Ab einer **intermittierenden** Exposition gegen 400 ml/m³ konnten bei einigen der Tiere leichte Degenerationen der granulären Zellschicht des Kleinhirns festgestellt werden (400 ml/m³: 33 % der Tiere betroffen, 800 ml/m³: 67 %, 1600 ml/m³: 65 %). In der Gruppe, die gegen 2400 ml/m³ intermittierend exponiert war, waren alle Tiere von einer leichten bis mäßigen Degeneration betroffen. Effekte auf die Leber (k. w. A), traten ab einer intermittierenden Exposition gegen 400 ml/m³ auf und können auf Glykogen-Depletion zurückgeführt werden. Degenerationen oder Nekrose wurden jedoch nicht beobachtet. Anzeichen von Nierentoxizität (sehr leichte multifokale Degeneration und Regeneration der Tubuli, eosinophile Färbung innerhalb der Tubuli) traten nur bei der gegen 2400 ml/m³ exponierten Gruppe auf. Im Rotarod-Test kam es bei den Tieren der 800- und 1600-ml/m³-Gruppe zu einem Abfall der Leistung am vierten Tag der Exposition, jedoch nicht am achten und elften Tag. Die Tiere, die gegen 2400 ml/m³ exponiert waren, zeigten am vierten und achten Tag eine verminderte Leistung auf dem Rotarod. Am elften Tag konnte aufgrund des moribunden

Zustandes nicht getestet werden. Insgesamt ergibt sich aus den Ergebnissen der intermittierenden Exposition eine NOAEC von 150 ml/m³ und eine LOAEC von 400 ml/m³ für die Effekte im Kleinhirn und eine NOAEC von 400 ml/m³ im Rotarod-Test mit einer LOAEC von 800 ml/m³.

Die NOAEC und LOAEC der kontinuierlichen und intermittierenden Exposition sind in etwa proportional zum Produkt aus Expositionskonzentration und Dauer und entsprechen damit der Haberschen Regel (Konzentration × Zeit = Wirkung). Allerdings zeigt sich bei der kontinuierlichen Exposition im Rotarod-Test eine steilere Konzentrations-Wirkungs-Beziehung (Landry et al. 1985).

In einer 2-Jahre-Inhalationsstudie (Battelle Columbus Laboratories 1981) an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen wurden jeweils 120 Tiere pro Geschlecht gegen jeweils 0, 50, 225 oder 1000 ml Chlormethan/m³ (Reinheit 99,97 %) exponiert (6 Stunden/Tag; 5 Tage/Woche, mit Ausnahme von Feiertagen). Die Tiere wurden während der ganzen Studie auf Anzeichen von toxischen Effekten untersucht, sowie die Körpergewichte gemessen (bei den Mäusen wurde nur der Mittelwert aus dem Gesamtgewicht der Tiere, die in einem Käfig waren (vier oder weniger Tiere), gemessen). Jeweils zehn Tiere pro Geschlecht und Konzentrationsgruppe wurden nach 6, 12, 18 oder 24 Monaten getötet. Die Untersuchung umfasste Histopathologie sowie das Blut und den Urin. Die restlichen Tiere wurden nach 24 Monaten histopathologisch untersucht. Bei den **Ratten** ergab sich nach sechs Monaten eine Trübung der Cornea, teilweise in Kombination mit einer Konjunktivitis. Davon betroffen waren Tiere aller Gruppen sowie auch der Kontrollgruppen, nach 18 Monaten trat jedoch nur bei den weiblichen Tieren dieser Effekt statistisch signifikant häufiger auf als in der Kontrolle. Nach 24 Monaten war bei keiner Gruppe mehr ein statistisch signifikanter Unterschied zur Kontrolle zu beobachten. Die Effekte nach 18 Monaten wurden in der Studienzusammenfassung als möglicherweise substanzbedingt angesehen. Zusätzlich wurde nur nach zwölf Monaten eine schwache Hornhauttrübung beobachtet, die bei den exponierten Tieren häufiger vorkam als bei den Kontrolltieren, jedoch zeitgleich mit einer Virusinfektion auftrat. Die Virusinfektion könnte zu einer reduzierten Bildung von Tränenflüssigkeit geführt haben, die in der Folge eine erhöhte Empfindlichkeit des Auges für die irritative Eigenschaft der Substanz nach sich gezogen hat. Bilaterale diffuse Degeneration und Atrophie der Hodenkanälchen waren 12 und 18 Monate nach Exposition gegen 1000 ml Chlormethan/m³ statistisch signifikant erhöht (4/10 nach 12 Monaten, Kontrolle 1/10; 10/20 nach 18 Monaten). Nach 24 Monaten entwickelten alle männlichen Ratten interstitielle Zellhyperplasien und Adenome, die normale Altersbefunde sind, so dass weitere substanzbedingte Degenerationen oder Atrophien der Hodenkanälchen nicht mehr zu erkennen waren. Einige histopathologische Beobachtungen deuten darauf hin, dass durch Chlormethan die Zellhyperplasie verstärkt wird, während die Größe der interstitiellen Tumore gleichzeitig verringert wird (Battelle Columbus Laboratories 1981; US EPA 2001).

Die Mortalität war sowohl bei den weiblichen als auch den männlichen **Mäusen** in allen Gruppen sehr hoch (Anzahl der Tiere, die während der Studie gestorben sind (weibliche Mäuse/männliche Mäuse): Kontrolle: 33/75; 50 ml/m³: 34/62; 225 ml/m³: 25/62; 1000 ml/m³ 73/93) und wurde auf die Mehrfachhaltung der Tiere zurückgeführt, durch die es zu Dominanzkämpfen, vor allem in den ersten sechs Monaten, kam. Aufgrund der hohen Mortalität in der höchsten Konzentrationsgruppe wurde die Studie bei den männlichen Mäusen nach 21 und bei den weiblichen Mäusen nach 22 Monaten beendet. Fast alle männlichen und weiblichen Mäuse, die gegen 1000 ml/m³ exponiert waren, zeigten neurofunktionale Störungen („clutch response“) und Anzeichen von ZNS-Toxizität, wie Tremor und Paralyse (SCOEL 2017; US EPA 2001). Ebenso wurden nur in der höchsten Konzentrationsgruppe in der histopathologischen Untersuchung Degenerationen und Atrophien der granulären Schicht des Kleinhirns bei drei von sieben männlichen Tieren und sechs von acht weiblichen Tieren nach 18 Monaten Exposition (Battelle Columbus Laboratories 1981; US EPA 2001) festgestellt, sowie bei 17 von 18 weiblichen Tieren nach 22 Monaten. Bei den Tieren, die spontan während der ersten sieben Monate starben, wurden ebenfalls Läsionen des Kleinhirns beobachtet (weibliche Mäuse: 9/20, männliche Mäuse: 15/24), und ebenfalls bei den Tieren, die spontan zwischen 18 und 21 bzw. 22 Monaten starben (weibliche Mäuse: 35/37, männliche Mäuse: 45/47). Bei sieben männlichen Mäusen (von insgesamt 43 untersuchten Tieren), die zwischen 18 und 21 Monaten vorzeitig gestorben waren oder getötet wurden, kam es zu einer Keimzelldegeneration und zur Bildung von Riesenzellen in den Hoden, zusammen mit einer Atrophie der Hodenkanälchen (Kontrolle: 1/20 nach 24 Monaten). Die bei den männlichen Mäusen der 1000-ml/m³-Gruppe beobachteten hepatozellulären Veränderungen (Vakuolenbildung, Karyomegalie, Zytomegalie, mehrkernige Hepatozyten, Degeneration) traten auch bei den weiblichen Mäusen der höchsten Konzentrationsgruppe auf, jedoch in schwächerer Ausprägung. Hyperplasie und Karyomegalie der Nieren-

tubuli, sowie Nierenadenome und -karzinome männlicher Mäuse wurden in der höchsten Konzentrationsgruppe ab 12 Monaten Expositionszeit beobachtet ([Abschnitt 5.7](#)). Bei beiden Geschlechtern von Mäusen der 1000-ml/m³-Gruppe wurden Veränderungen der Milz (lymphoide Depletion bis hin zu Atrophie) ab einer Expositionszeit von sechs Monaten beobachtet. Das Auftreten von Zysten in der Nierenrinde bei Mäusen der 1000-ml/m³-Gruppe (sieben männliche Tiere, ein weibliches Tier) und bei jeweils einem männlichen und weiblichen Tier der 225-ml/m³-Gruppe sowie bei sechs männlichen Tieren der 50-ml/m³-Gruppe (Kontrolle: ein männliches Tier) wurde von der US EPA (2001) als nicht substanzbedingt eingeordnet, da die Inzidenzen innerhalb der historischen Kontrollen für diesen Mäusestamm liegen. Axonale Schwellungen und Degenerationen der Spinalnerven wurden in allen Mäusegruppen, einschließlich der Kontrollgruppe, beobachtet (multifokale axonale Schwellung und Degeneration der lumbalen Spinalnerven nach 24 Monaten Exposition: Kontrolle: ♀: 36/39, ♂: 11/12; 50 ml/m³: ♀: 33/39; ♂: 16/16; 225 ml/m³: ♀: 48/49; ♂: 21/21; 1000 ml/m³: keine Daten da Abbruch nach 21 bzw. 22 Monaten) jedoch konnten keine Konzentrations-Wirkungs-Beziehung und auch keine zugrundeliegenden funktionalen Anomalien gefunden werden (Battelle Columbus Laboratories 1981; US EPA 2001). Insgesamt ergibt sich aus den Ergebnissen der 2-Jahre-Studie eine NOAEC für Ratten und Mäuse von 225 ml/m³. Für Ratten ergibt sich aufgrund der Effekte an den Hoden eine LOAEC von 1000 ml/m³, während bei den Mäusen 1000 ml/m³ zu Mortalität und Neurotoxizität führte.

Bei der Durchführung der Studie kam es zu erheblichen Mängeln (u.a. fehlerhafte Geschlechtsbestimmung der Mäuse und daraus folgende Trächtigkeit, Vertauschen der Konzentration der 50- und 1000-ml/m³-Mäuse-Gruppe an drei aufeinanderfolgenden Tagen), die jedoch laut den Autoren der Studie die Validität der Ergebnisse nicht beeinflussen (Battelle Columbus Laboratories 1981; US EPA 2001).

Weitere Studien zur Toxizität nach wiederholter Exposition sind in [Tabelle 1](#) zusammengefasst.

Tab. 1 Toxizität von Chlormethan nach wiederholter inhalativer Exposition

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, Sprague-Dawley, je 40 ♂, ♀	2 oder 3 Tage, 24 h/d, 0, 200, 500, 1000, 2000 ml/m ³ 12 Tage Nachbeobachtung	2 Tage: ab 200 ml/m³: ♂ u. ♀: Leber: AP ↓ (nicht statistisch signifikant); ab 500 ml/m³: ♂ u. ♀: KG ↓; Leber: leichte Verfärbung (nur ♂), AP ↓ (nur ♂ statistisch signifikant); Nebenhoden: Entzündungen, Degeneration, interstitielle Ödeme, Spermagranulome, Spermien ↓, (Effekte während Nachbeobachtung auffälliger, zusätzlich auch Atrophie der Hoden); ab 1000 ml/m³: alle Tiere lethargisch; adipöses Gewebe ↓; Leber: Lipid-Akkumulation (nur ♂); Niere: Nekrose, Degeneration, zytoplasmatische Heterogenität, Regeneration, Lipid-Akkumulation (nur ♀), veränderte Urinparameter; Blut: RBC, Hämatokrit, Hämoglobin ↑ (Folge von Dehydration u. Hämokonzentration moribunder Tiere); Nachbeobachtung: ein ♀ gestorben; 2000 ml/m³: alle Tiere lethargisch, moribund oder tot (14/20 ♂ u. 10/20 ♀); Blut: BUN, AST, ALT, Gesamt-Bilirubin ↑; AP ↓; Nachbeobachtung: alle Tiere tot; 3 Tage: ab 200 ml/m³: LOAEC ♂: KG-Entw. ↓; ♂ u. ♀: Leber: Effekte konzentrationsabhängig steigend (ab 500 ml/m ³ (nur ♂) auch während Nachbeobachtung): dunkle Verfärbung, Nekrose, Entzündung, degenerative Veränderungen, Lipid-Gehalt ↑, AP ↓ (nur ♀ statistisch signifikant); ab 500 ml/m³: ♂ u. ♀: KG ↓; Leber: AP ↓ (♂ statistisch signifikant); Nebenhoden: Entzündungen, Degeneration, interstitielle Ödeme, Spermagranulome, Spermien ↓ (Effekte auch während Nachbeobachtung); ab 1000 ml/m³: ♂ u. ♀: alle Tiere krank, moribund; Niere: Nekrose, Degeneration, zytoplasmatische Heterogenität, Regeneration, veränderte Urinparameter; Hoden: abs. u. rel. Gew. ↓; Blut: RBC, Hämatokrit, Hämoglobin ↑ (Folge von Dehydration u. Hämokonzentration moribunder Tiere), BUN, AST, ALT, Gesamt- Bilirubin ↑, leichte Neutrophilie; Nachbeobachtung: 6/10 ♂ u. 8/10 ♀ tot; 2000 ml/m³: Mortalität 100 %	Burek et al. 1981; US EPA 2001
Ratte, F344, je 10 ♂, ♀	11 Tage (5 Tage – 2 Tage Pause – 4 Tage), 6 h/d, 0, 2000, 3500, 5000 ml/m ³	Kontrolle: keine Läsionen beobachtet; 2000 ml/m³: LOAEC; Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 0/10; ♀ 8/10); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 8/10; ♀ 0/10); Hoden: Degeneration (♂ 10/10); Nebenhoden: Spermienanzahl ↓, abgelöste Spermatozyten, Riesenzellen, Trümmerzellen, eosinophile hyaline Tröpfchen; 3500 ml/m³: 2/10 ♀ getötet in extremis am 5. Tag; Durchfall (♂ 1/10); Färbung des Urins (♀ 3/10); Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 9/10; ♀ 9/10); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 10/10; ♀ 5/10); Hoden: Degeneration (♂ 10/10); Nebenhoden: Spermazellen ↓, abgelöste Spermatozyten, Riesenzellen, Trümmerzellen, eosinophile hyaline Tröpfchen; Nebennieren: fettige Degeneration (♂ 4/10; ♀ 10/10); 5000 ml/m³: 6/10 ♂ u. 5/10 ♀ getötet in extremis am 5. Tag; Durchfall (♂ 10/10 u. ♀ 1/10 am 3. Tag); Inkoordination der Vorderbeine, Paralyse der Hinterbeine (Tag 5, ♂ 2/10 u. ♀ 1/10); Färbung des Urins (♂ 3/10; ♀ 2/10); Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 10/10; ♀ 9/10); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 10/10; ♀ 10/10); Kleinhirn: Degeneration der granulären Schicht (♂ 3/10; ♀ 2/9); Hoden: Dege- neration (♂ 10/10); Nebenhoden: Spermazellen ↓, abgelöste Sperma- tozyten, Riesenzellen, Trümmerzellen, eosinophile hyaline Tröpfchen; Nebennieren: fettige Degeneration (♂ 10/10; ♀ 10/10)	Morgan et al. 1982

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Ratte, F344, je 10 ♂, ♀	90 Tage, 6 h/d, 5 d/w, 0, 375, 750, 1500 ml/m ³	375 ml/m³: NOAEC; 750 ml/m³: ♂ u. ♀: KG ↓ (6.–12. Woche); Leber: vakuoläre Veränderungen im Zytoplasma der Hepatozyten (7/18, Kontrolle: 7/19; 5-mal häufiger bei ♀ (k.w.A.)); 1500 ml/m³: ♂ u. ♀: KG ↓ (3.–13. Woche); Leber: vakuoläre Veränderungen im Zytoplasma der Hepatozyten (9/14, 5-mal häufiger bei ♀ (k.w.A.)); Leber-Infarkt bei einem ♀	US EPA 2001
Ratte, Sprague-Dawley, je 10 ♂, ♀	93–95 Tage, 6 h/d, 5 d/w (insgesamt 64–66 Expositionen), 0, 50, 150, 400 ml/m ³	150 ml/m³: ♀: spez. Urin-Gew. ↓ (nicht bei höherer Konzentration); 400 ml/m³: NOAEC; ♂: Leber: rel. Gew. ↑, leichte reversible Veränderungen im Erscheinungsbild einiger Hepatozyten (5/10); spez. Urin-Gew. ↓	McKenna et al. 1981; US EPA 2001
Ratte, F344, je 120 ♂, ♀	24 Monate, 6 h/d, 5 d/w, 0, 50, 225, 1000 ml/m ³ , Zwischenuntersuchung nach 6, 12, 18 Monaten	225 ml/m³: NOAEC; 1000 ml/m³: ♀ u. ♂: KG ↓, KG-Entw. ↓; Gehirn: abs. Gew. ↓ (♀ nur 12 u. 18 Mo); ♂: Leber: rel. Gew. ↑; Niere: rel. Gew. ↑; Hoden: abs. Gew. ↓, bilaterale diffuse Degeneration u. Atrophie der Hodenkanälchen; ♀: Leber: abs. Gew. ↓; Niere: abs. Gew. ↓; Lunge: rel. Gew. ↓	Battelle Columbus Laboratories 1981
Maus, C3H, je 5 ♂, ♀	12 Tage, aufeinanderfolgend, 6 h/d, 0, 500, 1000, 2000 ml/m ³	Kontrolle: keine Läsionen beobachtet; 500 ml/m³: LOAEC; Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 2/5); 1000 ml/m³: ♂ 1/5 tot am 11. Tag; Niere: Basophilie renaler Tubuli (♂ 2/5; ♀ 5/5), Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 1/5); Hämaturie (alle ♀, 8. Tag); 2000 ml/m³: alle Tiere tot od. moribund am 5. Tag; Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 4/5); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 5/5; ♀ 5/5), Hämaturie (5/5 ♀, 4. Tag; 5/5 ♂, 4. u. 5. Tag)	Morgan et al. 1982
Maus, C57BL/6, je 5 ♂, ♀	12 Tage, aufeinanderfolgend, 6 h/d, 0, 500, 1000, 2000 ml/m ³	Kontrolle: keine Läsionen beobachtet; 500 ml/m³: LOAEC; Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 3/5; ♀ 2/5); 1000 ml/m³: Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 3/5; ♀ 3/5); Niere: Basophilie renaler Tubuli (♂ 2/5), Hämaturie (alle ♀, 8. Tag); Kleinhirn: Degeneration der granulären Schicht (♂ 3/5; ♀ 2/5); 2000 ml/m³: alle Tiere tot od. moribund am 5. Tag (ein ♂ am 2. Tag); Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 5/5); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 3/5; ♀ 5/5), Hämaturie (alle ♀, 4. Tag); Kleinhirn: Degeneration der granulären Schicht (♂ 0/5; ♀ 4/5)	Morgan et al. 1982
Maus, B6C3F1, je 5 ♂, ♀	12 Tage, aufeinanderfolgend, 6 h/d, 0, 500, 1000, 2000 ml/m ³	Kontrolle: keine Läsionen beobachtet; 500 ml/m³: LOAEC; Niere: Basophilie renaler Tubuli (♂ 1/5); 1000 ml/m³: Niere: Basophilie renaler Tubuli (♂ 3/5; ♀ 2/5), Hämaturie (alle ♀, 8. Tag); 2000 ml/m³: alle Tiere tot od. moribund (♂ am 2. Tag, ♀ am 5. Tag); Leber: hepatozelluläre Degeneration (♂ 5/5; ♀ 4/5); Niere: Degeneration u. Nekrose renaler Tubuli (♂ 1/5; ♀ 5/5), Hämaturie (alle ♀, 4. Tag); Kleinhirn: Degeneration der granulären Schicht (♂ 0/5; ♀ 2/5)	Morgan et al. 1982

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Maus, C57BL/6, 12 ♀	11 Tage, aufeinanderfolgend, 22–22,5 h/d, Serie 1: 0, 100, 200, 400 ml/m ³ , Serie 2: 0, 15, 50, 150 ml/m ³	50 ml/m³ : NOAEC; ab 100 ml/m³ : Leber: Hepatozyten verkleinert; Kleinhirn: Degeneration der granulären Schicht; ab 150 ml/m³ : alle Tiere moribund (Tötung nach 10,5 Tagen), Abmagerung, KG ↓; Niere: rel. Gew. ↑; Leber: kleine u. blasse Leber, abs. Gew. ↓, Nekrose; Thymus u. Milz: verkleinert; Rotarod- Testleistung ↓; ab 200 ml/m³ : Ataxie; Futteraufnahme ↓; alle Tiere moribund oder gestorben (nach 5 Tagen); 400 ml/m³ : alle Tiere moribund (getötet nach 4 Tagen)	Landry et al. 1985
Maus, C57BL/6, 12 ♀	11 Tage, aufeinanderfolgend, 5,5 h/d, Serie 1: 0, 400, 800, 1600 ml/m ³ , Serie 2: 0, 150, 2400 ml/m ³	150 ml/m³ : NOAEC; ab 400 ml/m³ : Leber: Effekte aufgrund Glykogendepletion (ohne Degeneration oder Nekrosen); Kleinhirn: Läsionen; ab 800 ml/m³ : Rotarod-Testleistung ↓ (nur am 4. Tag, nicht am 8. u. 11. Tag); ab 1600 ml/m³ : Futteraufnahme ↓; steife Hinterbeine (nach 11 Tagen); Leber: abs. u. rel. Gew. ↑ (nicht bei 2400 ml/m ³ !); Thymus: verkleinert, Gew: ↓; Rotarod-Testleistung ↓ (nur am 4. Tag, nicht am 8. u. 11. Tag); 2400 ml/m³ : alle Tiere moribund (nach 8–9 Tagen getötet), langsame Bewegungen, gesträubtes Fell, Abmagerung, KG ↓; Milz: vergrößert; Thymus: Gew. ↓; Anämie; rotgefärbter Urin; Nieren: leichte multi- fokale Degeneration u. Regeneration der Tubuli, eosinophile Färbung in den Tubuli; Rotarod-Testleistung ↓	Landry et al. 1985
Maus, C57BL/6, 10 ♀	2 Wochen, 6 h/d, 5 d/w, 0, 1500 ml/m ³	1500 ml/m³ : 2/10 Tieren gestorben in 2. Woche; Ataxie; Niere: leichte Degeneration proximaler Tubuli (2/10); keine klinischen Anzeichen einer ZNS-Störung; innere granuläre Schicht des Kleinhirns: 1) koagulative Nekrose (auch bei Kontrolltieren, aber leichter u. weniger Zellen) 2) fokale Malazie (Kernkondensation, Karyorrhesis, Nekrose, Separation myelierter Axone, Mikrovakuolation)	US EPA 2001
Maus, B6C3F1, je 10 ♂, ♀	90 Tage, 6 h/d, 5 d/w, 0, 375, 750, 1500 ml/m ³	375 ml/m³ : NOAEC; 750 ml/m³ : ♂ u. ♀: Leber: rel. Gew. ↑; 1500 ml/m³ : ♂ u. ♀: Leber: rel. Gew. ↑, Leber-Infarkt bei einem ♂	US EPA 2001
Maus, CD-1, je 10 ♂, ♀	93–95 Tage, 6 h/d, 5 d/w (insgesamt 64–66 Expositionen), 0, 50, 150, 400 ml/m ³	400 ml/m³ : NOAEC; ♀: Leber: rel. Gew. ↑	McKenna et al. 1981; US EPA 2001
Maus, B6C3F1, je 120 ♂, ♀	24 Monate, 6 h/d, 5 d/w, 0, 50, 225, 1000 ml/m ³ , Zwischenuntersuchung nach 6, 12, 18 Monaten	225 ml/m³ : NOAEC; ♀: Herz: rel. Gew. ↑; 1000 ml/m³ : ♀ u. ♂: Mortalität ↑; KG ↓, KG-Entw. ↓; ZNS-Toxizität, neurofunktionale Störungen („clutch response“); Kleinhirn: Degeneration und Atrophie der Körnerschicht; abs. Gehirngew. ↓; Milz: Atrophie, lymphoide Depletion; Leber: rel. u. abs. Gew. ↑ (♂ nur rel.); ♂: Leber: ALT ↑, hepatozelluläre Degeneration u. Nekrose (Vakuolenbildung, Karyomegalie, Zytomegalie, mehrkernige Hepatozyten, Degeneration, bei ♀ schwächer ausgeprägt); Niere: abs. Gew. ↓ (6 u. 12 Mo), Hyperplasie, Karyomegalie; Lunge: rel. Gew. ↑; Hoden: Atrophie u. Degeneration der Hodenkanälchen (7/43; Kontrolle: 1/20); ♀: Leber: abs. u. rel. Gew. ↑; Niere: rel. Gew. ↑; Herz: abs. u. rel. Gew. ↑	Battelle Columbus Laboratories 1981

Tab. 1 (Fortsetzung)

Spezies, Stamm, Anzahl pro Gruppe	Exposition	Befunde	Literatur
Hund, Beagle, 3 ♂	3 Tage, 23,5 h/d, 0, 200, 500 ml/m ³	200 ml/m³ : NOAEC; 500 ml/m³ : Tiere ruhiger, schwach aber aufmerksam, steife Gliedmaßen, Inkoordination, gelegentliches Fallen, unfähig zu sitzen od. stehen, Tremor, Speichelfluss, KG ↓; Neutrophile ↑, Lymphozyten ↓ (bis Studienende am 27. Tag nach der Exposition bei allen Tieren Verbesserung der Symptome); leichte Läsionen in Gehirn u. Rückenmark (evtl. zurückzuführen auf virale Infektion)	US EPA 2001
Hund, Beagle, 4 ♂	93–95 Tage, 6 h/d, 5 d/w (insgesamt 64–66 Expositionen), 0, 50, 150, 400 ml/m ³	50 ml/m³ : Leber: leicht geschwollene Hepatozyten (2/4); 150 ml/m³ : Leber: leicht geschwollene Hepatozyten (1/4); 400 ml/m³ : NOAEC; Leber: leicht geschwollene Hepatozyten (2/4)	McKenna et al. 1981; US EPA 2001
Katze, 3 ♂	3 Tage, 23,5 h/d, 0, 200, 500 ml/m ³	ab 200 ml/m³ : NOAEC; Läsionen in Gehirn u. Rückenmark bei 1/3 Tieren (Kontrolle 1/3); 500 ml/m³ : KG ↓ (nicht statistisch signifikant); Läsionen in Gehirn u. Rückenmark bei 3/3 Tieren (Kontrolle 1/3)	US EPA 2001

abs.: absolutes; ALT: Alanin-Aminotransferase; AP: alkalische Phosphatase; AST: Aspartat-Aminotransferase; BUN: Blut-Harnstoff-Stickstoff; Entw.: Entwicklung; Gew.: Gewicht; Mo: Monate; prox.: proximal; RBC: Erythrozyten; rel.: relatives; spez.: spezifisches

5.3 Wirkung auf Haut und Schleimhäute

Eine Exposition gegen Chlormethan in Konzentrationen von 250–465 ml/m³ für je 90 Sekunden an fünf Tagen verursachte bei zwei Kaninchen am Auge eine Hyperämie der Bindehaut. Korneale Veränderungen traten nicht auf, Licht- und Pupillenreaktion waren ohne Befund (Henschler 1992 a; SCOEL 2017). In einer neueren Untersuchung zur akuten Inhalationstoxizität (Abschnitt 5.1) wurden keine adversen Effekte auf den Respirationstrakt oder Anzeichen einer Irritation der Atemwege nach vierstündiger Exposition nur über die Nase gegen maximal 21800 mg/m³ (10399 ml/m³) beobachtet (ECHA 2020 b; SCOEL 2017).

5.4 Allergene Wirkung

Hierzu liegen keine Daten vor.

5.5 Reproduktionstoxizität

5.5.1 Fertilität

Alle Studien wurden bereits in der Begründung von 1992 beschrieben (Henschler 1992 a).

In zahlreichen Studien an Ratten wurden Effekte bei den männlichen Tieren wie Entzündungen und Granulome in den Nebenhoden, Hodenatrophien und verminderte Fertilität ab etwa 500 ml/m³ festgestellt. Bei noch höheren Konzentrationen von 1000 und 3000 ml/m³ kam es zu Sterilität (ATSDR 1998; Battelle Columbus Laboratories 1981; Chapin et al. 1984; Hamm et al. 1985; Henschler 1992 a; Working et al. 1985 a, b).

In einer 2-Generationenstudie an F344-Ratten, die gegen 0, 150, 475 oder 1500 ml/m³ exponiert waren, kam es ab 475 ml/m³ zu einer verminderten Fertilität der männlichen Tiere. Dies zeigte sich in einer verminderten Anzahl der Würfe. Zudem zeigten die Tiere der F0-Generation eine verminderte Körpergewichtszunahme. Bei 1500 ml/m³ waren alle männlichen F0-Tiere steril und wiesen Degenerationen der Hoden sowie Atrophien der Samenkanälchen auf (Hamm et al. 1985; Henschler 1992 a). Die NOAEC für Fertilität beträgt 150 ml/m³ und die NOAEC für Effekte auf die männlichen Reproduktionsorgane 475 ml/m³.

In der 2-Jahre-Inhalationsstudie an F344-Ratten wurde bei der Zwischenuntersuchung nach sechs Monaten bei 1000 ml/m³ bei einem Tier eine bilaterale diffuse Degeneration und Atrophie der Samenkanälchen festgestellt. Nach 18 Monaten nahm die Inzidenz dieser Veränderung zu (Battelle Columbus Laboratories 1981; Henschler 1992 a). Die NOAEC für Effekte auf die männlichen Reproduktionsorgane liegt bei 225 ml/m³.

Aus den 2-Jahre-Studien ergab sich, dass Mäuse hinsichtlich der Hodeneffekte weniger empfindlich sind als Ratten. So lagen die Inzidenzen für derartige Effekte niedriger und diese Veränderungen traten auch später auf als bei Ratten (Battelle Columbus Laboratories 1981).

Bei einem Dominant-Letaltest an Ratten verursachte Chlormethan bei einer Konzentration von 3000 ml/m³ Implantationsverluste (40,9%; 31,4% Präimplantationsverluste und 9,5% Postimplantationsverluste) (Working et al. 1985 a). Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die Präimplantationsverluste vorwiegend aufgrund der toxischen Wirkung auf die Qualität und Mobilität der Spermatozyten und einer daraus resultierenden Infertilität der männlichen Tiere verursacht werden (Working et al. 1985 b). Die Postimplantationsverluste könnten sekundär durch die durch Chlormethan verursachten Nebenhodenentzündungen entstehen. So verhinderte die Vermeidung der Nebenhodenentzündung mittels des Entzündungshemmers BW 755C die Entstehung von Postimplantationsverlusten (Chellman et al. 1986; siehe Abschnitt 5.6.2).

5.5.2 Entwicklungstoxizität

Bis auf eine neue Studie an Kaninchen wurden alle Studien bereits in der Begründung von 1992 ausführlich dargestellt (Henschler 1992 a).

Diese Studien werden hier kurz aufgeführt.

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an F344-Ratten traten bei der höchsten Konzentration von 1500 ml Chlormethan/m³ bei den Muttertieren eine verzögerte Körpergewichtsentwicklung und bei den Feten ein reduziertes Körpergewicht und verzögerte Ossifikationen auf. Teratogenität wurde nicht festgestellt (CIIT 1981 b; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 b). Es ergibt sich eine NOAEC für Entwicklungs- und Maternaltoxizität von 500 ml Chlormethan/m³.

In der an C57BL/6-Mäusen durchgeführten Studie zur pränatalen Entwicklungstoxizität wurden bei 1500 ml Chlormethan/m³ deutliche maternaltoxische Effekte festgestellt, die zur vorzeitigen Tötung der Tiere führten. Bei 500 ml/m³ wurden bei 16,7% der Feten Herzanomalien festgestellt (Reduktion oder Fehlen der Atrioventrikularklappe, Chordae tendineae und Papillarmuskeln auf der linken Seite (Bikuspidalklappe) bei drei Feten und auf der rechten Seite (Trikuspidalklappe) bei sechs Feten, insgesamt 9/56 Feten, 6/17 Würfe (CIIT 1981 b; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 b). Die NOAEC für Entwicklungstoxizität liegt bei 100 ml Chlormethan/m³ und die NOAEC für Maternaltoxizität bei 500 ml/m³. Einer umfangreichen Datenbank zufolge, in der entwicklungsstoxische Veränderungen kategorisiert sind (BfR 2020), wird das Fehlen, nicht jedoch die Reduktion, der Herzklappen als Fehlbildung angesehen. In der Publikation wird die Reduktion und das Fehlen nicht weiter unterschieden.

In einer Nachfolgestudie mit demselben Behandlungsschema traten bei 750 ml Chlormethan/m³ bei den Muttertieren Ataxie, Tremor, Konvulsionen, erhöhte Mortalität sowie verzögerte Körpergewichtszunahme auf. Ab 500 ml/m³ wurden bei den Feten folgende Herzanomalien festgestellt: fehlende oder abnormale Trikuspidalklappen, Reduktion der Zahl der Papillarmuskeln oder Chordae tendineae auf der rechten Seite, verkleinerter rechter Ventrikel, kugelförmiges Herz sowie weiße Flecken in der linken Ventrikelwand (CIIT 1981 a; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 a). Die in dieser Nachfolgestudie beobachteten Herzanomalien sind zwar ähnlich, entsprechen aber weder qualitativ noch quantitativ der Schwere der Befunde der ersten Studie. Die Fixierungstechniken beider Studien unterscheiden sich. So erfolgte in der ersten Studie die Fixierung mittels Bouin's Lösung und der Rumpf wurde mittels einer modifizierten Technik nach Staples untersucht (Wolkowski-Tyl et al. 1983 b). In der Nachfolgestudie wurde die viszerale Untersuchung des Brustkorbs mit der Staples' Fresh Tissue Dissection Method durchgeführt. Anschließend wurden alle abnormen Herzen und repräsentative Kontrollproben in Carnoy's Lösung konserviert (Wolkowski-Tyl et al. 1983 a). Die Präparation und Beurteilung derart kleiner Strukturen, wie sie im Mäuseherz vorkommen, ist technisch sehr

anspruchsvoll. Angaben zu historischen Kontrollen gibt es nicht. Aus der Nachfolgestudie lässt sich eine NOAEC für Entwicklungstoxizität von 250 ml Chlormethan/m³ und eine NOAEC für Maternaltoxizität von 500 ml/m³ ableiten.

In einem Letter-to-the-Editor wird darauf hingewiesen, dass Feten von C57BL-Mäuse-Muttertieren, die vom 11,5. bis zum 12,5. Gestationstag gegen 250 oder 300 ml Chlormethan/m³ (24 Stunden) oder vom 11,5. bis zum 12. Gestationstag gegen 1000 ml/m³ (12 Stunden) exponiert waren, keine Herzdefekte zeigten. Die Behandlung umfasst laut den Autoren die kritische Phase der Herzentwicklung. Zudem deuten die Autoren eine hohe Variabilität bei den Papillarmuskeln der Kontrolltiere an. Sie sind darüber hinaus der Meinung, dass die beschriebenen Herzanomalien ein Artefakt der Sektionstechnik sind (John-Greene et al. 1985). In der Antwort darauf wird auf das unterschiedliche Expositionsprotokoll hingewiesen. Zudem ist der kritische Zeitraum der Herzentwicklung bei Mäusen eher um den 14. Gestationstag herum (Tyl 1985). Bei Mäusen beginnt die Bildung der Atrioventrikularklappen am 11. Gestationstag und ist am 14. bis 16. Gestationstag abgeschlossen (Arts et al. 2019).

In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an je 22 Neuseeländer-Kaninchen nach OECD-Prüfrichtlinie 414 wurden die Tiere gegen 0, 250, 500 oder 1000 ml Chlormethan/m³ vom 6. bis zum 28. Gestationstag exponiert (Ganzkörper, 6 Stunden pro Tag). Die Untersuchung erfolgte am 29. Gestationstag. Bis zur höchsten Konzentration wurden keine maternal- und entwicklungstoxischen Effekte festgestellt. Es ergibt sich eine NOAEC für Entwicklungstoxizität von 1000 ml Chlormethan/m³, der höchsten Konzentration (Triskelion 2016).

In einer umfassenden Analyse der Entwicklungstoxizität von Chlormethan werden folgende Schlussfolgerungen gezogen: 1. Die „normale“ Anatomie der kleinen Papillarmuskeln des Herzens von Mäusefeten und die Variabilität ihrer Erscheinung (John-Greene et al. 1985) erschwert die Evaluierung. Auch beim Menschen wird eine Variabilität der Anzahl, Länge und Form dieser Muskeln als „normal“ angesehen. 2. Trächtige Mäuse sind im Vergleich zu trächtigen Ratten oder Kaninchen empfindlicher für systemische Toxizität (vorwiegend ZNS), was am wahrscheinlichsten auf Speziesunterschiede des Metabolismus bei höheren Konzentrationen zurückzuführen ist. 3. Chlormethan wird in verschiedenen Geweben extensiv und speziesspezifisch metabolisiert. Damit ist es schwierig, ein geeignetes Tiermodell für den Menschen zu definieren. Daher wurde vom REACH Consortium im Jahr 2010, als vorsichtige Vorgehensweise ohne zusätzliche Daten bei einer weiteren Spezies, eine Selbsteinstufung als reproduktionstoxisch Kategorie 2 nach GHS/CLP („suspected human reproductive toxicant“) vorgenommen. Basis waren die sich widersprechenden Daten an Ratten und Mäusen, ungeachtet der Zweifel von verschiedenen Experten und Behörden bezüglich der Relevanz und Reproduzierbarkeit der Daten an Mäusefeten. 4. Der untersuchte Mäusestamm mit den Herzdefekten bei den Feten wird nicht generell zur Testung der Entwicklungstoxizität eingesetzt, was die Interpretation der Relevanz der erhobenen Daten erschwert. Das heißt zusätzlich zu den geringen Inzidenzen und der fehlenden Reproduzierbarkeit kommt das Fehlen von historischen Kontrollen für diese Defekte hinzu. Mehrere Experten weisen darauf hin, dass Art, Anzahl und Grad der Herzdefekte, falls sie keine Artefakte aufgrund der großen Variabilität zwischen den Tieren darstellen, auch im Bezug zur schwierigen Sektionstechnik, derartig kleine Untersuchungsobjekte zu betrachten, stehen können. Abschließend heben die Autoren hervor, dass in Übereinstimmung mit den Schlussfolgerungen der Arbeitsgruppe „Classification and labelling of dangerous substances“ sowie REACH und CLP, Chlormethan nicht länger die Klassifikationskriterien für Entwicklungstoxizität erfüllt. Diese Auffassung wird durch die hohe Qualität der gesamten Datenbasis sowie einer zusätzlichen negativen Untersuchung an einer Nicht-Nager-Spezies bekräftigt. Die Evaluierung der wissenschaftlichen Evidenz unterstützt eine Klassifizierung von Chlormethan als entwicklungstoxische Substanz nicht (Arts et al. 2019).

In der bereits erwähnten 2-Generationenstudie an F344-Ratten traten bei 150 und 475 ml Chlormethan/m³ keine Unterschiede bei der Wurfgröße, dem Überleben bis zum 4. Postnataltag und dem Körpergewicht am 0. und 4. Postnataltag im Vergleich zur Kontrolle auf. Bei 1500 ml/m³ waren alle männlichen F0-Tiere steril. Bei 475 ml/m³ war die Anzahl der Würfe vermindert (Hamm et al. 1985; Henschler 1992 a). In dieser Studie wurden bei den Nachkommen keine neurotoxischen oder verhaltensbezogenen Endpunkte untersucht. Es liegen auch keine Untersuchungen derartiger Endpunkte bei Nachkommen von In-utero-exponierten Muttertieren vor.

In zwei Dominant-Letaltests an Ratten konnte nachgewiesen werden, dass die Präimplantationsverluste aufgrund der toxischen Wirkung auf Qualität und Mobilität der Spermatozyten und einer daraus resultierenden Infertilität der

männlichen Tiere verursacht werden (siehe [Abschnitt 5.6](#); Chellman et al. 1986; Henschler 1992 a; Working et al. 1985 b). Daher lässt sich eine NOAEC für perinatale Toxizität von 475 ml Chlormethan/m³ ableiten.

5.6 Genotoxizität

Einige Studien sind bereits in der Begründung von 1992 (Henschler 1992 a) aufgeführt. Da in dem vorliegenden Nachtrag eine Bewertung der Keimzellmutagenität erfolgt, werden in diesem Abschnitt alle Studien detailliert dargestellt.

5.6.1 In vitro

Chlormethan induziert in *E. coli* eine adaptive Antwort auf DNA-Alkylierung, die durch das Ada-Protein reguliert wird. Während der Reparatur von Methylphosphotriestern in methylierter DNA kommt es zu einer Selbst-Methylierung des Ada-Proteins, welches in der Folge zu einer Aktivierung der Transkription und damit zur Bildung weiterer Ada-Proteine führt. Eine direkte Methylierung des Ada-Proteins durch Chlormethan erscheint unwahrscheinlich, da eine nicht-adaptierte Zelle nur ca. zwei bis vier Ada-Moleküle enthält. Eine Inkubation von Ada mit der DNA von *Micrococcus luteus*, die zuvor mit Chlormethan behandelt worden war, induzierte jedoch keine Transkription und somit auch keine Bildung weiterer Ada-Proteine. Dies deutet darauf hin, dass die DNA durch Chlormethan nicht ausreichend genug an den Phosphat-Bindungen methyliert wird, um Ada als Transkriptions-Aktivator zu induzieren. Die Autoren schließen aus den Ergebnissen, dass die durch Chlormethan induzierte Antwort durch sehr wenige DNA-Methylphosphotriester hervorgerufen wird. Die effektive Reparatur dieser Schäden führt zu einer Selbstmethylierung von Ada und damit zu einer Induktion weiterer Ada-Proteine. Wenn der Gehalt an Ada-Protein in der Zelle steigt, erhöht dies die Möglichkeit einer direkten Methylierung und damit weiterer Induktion der Transkription (Vaughan et al. 1993).

Chlormethan erweist sich bei Konzentrationen ab 0,8 % in der Gasphase direkt mutagen an den Basensubstitutionen anzeigenden *Salmonella-typhimurium*-Stämmen TA1535 und TA100, sowohl mit als auch ohne Zusatz metabolischer Aktivierung (Du Pont 1977; Henschler 1992 a; Longstaff et al. 1984; Simmon et al. 1977). An den *Salmonella-typhimurium*-Stämmen TA1537 und TA98 (Leserastermutationen anzeigend) wirkt Chlormethan bei Konzentrationen von 1–7 % nicht mutagen (Du Pont 1977). Am *Salmonella-typhimurium*-Stamm TM677 wirkt Chlormethan ohne metabolische Aktivierung ab einer Konzentration von 10 % mutagen im 8-Azaguanin-Resistenz-Test (Fostel et al. 1985; Henschler 1992 a).

In humanen Lymphoblasten (TK6-Zellen) verursacht Chlormethan ab 1 % Schwesterchromatidaustausche bei gleichzeitiger Reduktion des Mitoseindex und verzögertem Zellzyklus (Fostel et al. 1985). Mittels alkalischer Entwindung wird keine Induktion von DNA-Strangbrüchen beobachtet (Fostel et al. 1985). Ein UDS (DNA-Reparatursynthese)-Test mit primären Rattenhepatozyten und -spermatozyten ist ohne metabolische Aktivierung ab einer Konzentration von 1 % positiv, mit trachealen Epithelzellen der Ratte jedoch bis zur höchsten getesteten Konzentration von 10 % negativ (Henschler 1992 a; Working et al. 1986).

Chlormethan erzeugt Chromosomenaberrationen an CHL/IU-Zellen in einem Testsystem, das rotierende Behälter für die Gas-Exposition benutzt. Bei einer sechsständigen Exposition und einer Konzentration von 4 % Chlormethan zeigten ohne metabolische Aktivierung 60 % der Metaphasen strukturelle Aberrationen, während mit metabolischer Aktivierung nur etwa 20 % strukturelle Aberrationen aufwiesen. Zusätzlich konnte eine Dosis-Wirkungs-Beziehung in Abhängigkeit von der Dauer der Exposition (6, 24 und 48 Stunden) gezeigt werden (Asakura et al. 2008).

Im TK^{+/-}-Test mit humanen Lymphoblasten (TK6-Zellen) induziert Chlormethan ab einer Konzentration von 2 % Mutationen ohne metabolische Aktivierung. Bereits ab der niedrigsten Konzentration kam es zu Wachstumsverzögerungen (Fostel et al. 1985). In [Tabelle 2](#) sind die Daten zur Genotoxizität in vitro zusammengefasst.

Tab. 2 Genotoxizität von Chlormethan in vitro

Endpunkt	Testsystem	Konzentration in der Gasphase, Zeit	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
Genmutation	Salmonella typhimurium TA100	0; 2,5–20 %; 8 h	ab 2,5%	k. A.	+	+	Simmon et al. 1977
Genmutation	Salmonella typhimurium TA1535	0; 0,5–20,7 %; 72 h	ab 0,8%	Zytotoxizität bei 23 %	+	+	Andrews et al. 1976
Genmutation	Salmonella typhimurium TA1535	0, 1, 4, 7 %; 48 h	ab 4 %	bei 1–7 % kein Einfluss auf Wachstum der Zellen	+	+	Du Pont 1977
	Salmonella typhimurium TA100		ab 1 %		+	+	
	Salmonella typhimurium TA1537				–	–	
	Salmonella typhimurium TA98				–	–	
Genmutation	Salmonella typhimurium TA1535	0, 1, 2, 5, 10 %; 48 h	ab 5 %	bis 10 % keine Zytotoxizität	+	+	ECHA 2020 b
	Salmonella typhimurium TA100		ab 1 %		+	+	
	Salmonella typhimurium TA1537				–	–	
	Salmonella typhimurium TA98				–	–	
Genmutation	Salmonella typhimurium TA100	nur Konzentration mit maximalem Effekt angegeben; 72 h	max. Effekt bei 10 %	k. A.	+	+	Longstaff et al. 1984
	Salmonella typhimurium TA1535		max. Effekt bei 5 %		+	+	
Genmutation	Salmonella typhimurium TA98	0; 0,001; 0,002; 0,003; 0,007; 0,013; 0,027 µg/Platte (versiegelter Exsikkator); k. A.		ab 0,027 µg/Platte	–	–	ECHA 2020 b
	Salmonella typhimurium TA100		0,001 µg/Platte	ab 0,013 µg/Platte	+	+	
Genmutation	Salmonella typhimurium TM677 8-Azaganin-Resistenz	0, 5–30 %; 3 h	ab 10 %	bei 20 % CM 50 % Überleben	+	n. d.	Fostel et al. 1985
SCE	humane Lymphoblasten TK6	0; 0,3–3 %; 3 h	1 %	bei 3 % CM 50 % Überleben, ab 1 % Abnahme des Mitoseindex und Zellzyklusverzögerung	+	n. d.	Fostel et al. 1985
DNA-Strangbrüche	alkalische Elution, humane Lymphoblasten TK6	0, 1, 3, 5 %			–	n. d.	Fostel et al. 1985
UDS	Rattenhepatozyten	0; 0,1–3 %; 18 h und	ab 1 %	ab 3 % (18 h); bzw. 10 % (3 h)	+	n. d.	Working et al. 1986
	Rattenspermatozyten	0, 1–10 %; 3 h	ab 1 %	ab 3 % (18 h); keine Zytotoxizität (3 h)	+	n. d.	
	tracheale Epithelzellen Ratte	0, 1–10 %; 3 h		ab 5 %	–	n. d.	

Tab. 2 (Fortsetzung)

Endpunkt	Testsystem	Konzentration in der Gasphase, Zeit	wirksame Konzentration	Zytotoxizität	Ergebnis		Literatur
					-m. A.	+m. A.	
CA	CHL/IU	0, 2, 4, 6 % -m. A.: 6, 24, 48 h +m. A.: 6 h	-m. A.: 24 und 48 h: ab 2 %; 6 h: ab 4 % +m. A.: 6 h: ab 4 %	6 h: bei 6 % CM 50 % Zellwachstum 24 und 48 h: ab 2 bzw. 3 % CM 50 % Zellwachstum	+	+	Asakura et al. 2008
Genmutation	TK [±] -Test, humane Lymphoblasten TK6	0, 1-5 %; 3 h	ab 2 %	bei 3 % CM 50 % Überleben, Wachstumsverzögerung ab 0,3 %	+	n. d.	Fostel et al. 1985

CA: Chromosomenaberration; CM: Chlormethan; k. A.: keine Angabe; m. A.: metabolische Aktivierung; n. d.: nicht durchgeführt; SCE: Schwesterchromatidaustausch; UDS: Test auf Induktion von DNA-Reparatursynthese

5.6.2 In vivo

Ein SLRL-Test an adulten männlichen *Drosophila melanogaster* (männliche Tiere: Canton-S, weibliche Tiere: Basc) zeigte, dass eine Behandlung mit 20 % Chlormethan über Expositionszeiten von 1,75 Stunden oder 50 Minuten rezessive Letalmutationen in den Keimzellen aller post-meiotischen Phasen induziert (University of Wisconsin 1982). Mit der Methode der alkalischen Entwindung zeigten sich nach viertägiger, jeweils sechsständiger Inhalation von 1000 ml Chlormethan/m³ in den Nieren männlicher B6C3F1-Mäuse (jeweils fünf Tiere pro Gruppe) keine DNA-DNA- und keine DNA-Protein-Crosslinks (DPC), jedoch in geringer Anzahl DNA-Einzelstrangbrüche. Die Tiere wurden sechs Stunden nach Expositionsende getötet (Jäger et al. 1988; Ristau et al. 1989). Nach einer einmaligen acht Stunden dauernden inhalativen Exposition männlicher und weiblicher B6C3F1-Mäuse gegen 1000 ml Chlormethan/m³ und Präparation von Leber und Nieren wurden nur in den Nieren der männlichen Tiere DPC festgestellt, allerdings nur dann, wenn die Tiere direkt nach der Exposition getötet wurden. Wurden die Tiere erst fünf Stunden nach der Exposition untersucht, konnten keine DPC mehr gefunden werden, jedoch Einzelstrangbrüche. Nach 48 Stunden wurden weder DPC noch Einzelstrangbrüche nachgewiesen (Henschler 1992 a; Ristau et al. 1989, 1990). Eine wiederholte Exposition männlicher Tiere des gleichen Maus-Stammes gegen 1000 ml Chlormethan/m³ über vier Tage, sechs Stunden pro Tag, zeigte ebenfalls DPC in den Nieren, wenn die Tiere direkt nach der Exposition untersucht wurden und Einzelstrangbrüche fünf Stunden nach Ende der Exposition (ATSDR 1998; Henschler 1992 a; Ristau et al. 1990). Wie in der Begründung von 1992 bereits ausführlich dargestellt, kommt es bei diesen hohen Konzentrationen zu einer starken Glutathion-Depletion in der Niere der männlichen Maus, was zur Beeinträchtigung des Glutathion-abhängigen Stoffwechselwegs führt und den Nebenweg, die oxidative Metabolisierung und damit die Bildung von Formaldehyd, begünstigt. Ein Folgeeffekt der Glutathion-Depletion ist die Hemmung der Formaldehyd-Dehydrogenase, die ebenfalls Glutathion-abhängig und für die Entgiftung des Formaldehyds zuständig ist. Somit kommt es zu einer Akkumulation des Metaboliten, der für die Bildung der DPC verantwortlich ist. Neben diesen charakteristischen Läsionen, die schnell repariert werden können, entstehen durch die Glutathion-Depletion vermehrt DNA-Einzelstrangbrüche, die mit der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies erklärt und langsamer repariert werden (Henschler 1992 a). Gruppen mit jeweils drei oder sechs männlichen F344-Ratten (CDF(344)/CrIBr) wurden sechs Stunden lang inhalativ gegen 500 oder 1500 ml ¹⁴C-Chlormethan/m³ exponiert. In den Nucleobasen der RNA und DNA wurde Radioaktivität nachgewiesen. Eine Analyse der DNA von Leber, Nieren, Lunge und Testes zeigte jedoch, dass die radioaktiv markierten Basen nicht methyliert waren (Henschler 1992 a; Kornbrust et al. 1982).

Eine weitere DNA-Bindungsstudie mit ¹⁴C-Chlormethan (700 ml/m³ Anfangskonzentration in der Kammer, durchschnittliche Konzentration in 6 h 21–25 ml/m³) an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen zeigte ebenfalls, dass in Leber und Nieren der Tiere keine Methylierung von Guanin in der DNA an den Positionen O⁶ und N⁷ stattfindet. Die Assoziation von Radioaktivität mit DNA war unter den untersuchten Organen in der Niere von B6C3F1-Mäusen am stärksten (Henschler 1992 a; Peter et al. 1985). Die Aufnahme von ¹⁴C-Chlormethan in die DNA erfolgt möglicherweise nicht direkt sondern durch den metabolischen Einbau über den C1-Pool (Kornbrust et al. 1982). Damit unterscheidet sich

Chlormethan von den strukturverwandten Halogenmethanen Brommethan und Iodmethan, bei denen in DNA-Bindungsstudien an Ratten drei verschiedene DNA-Addukte sowohl nach oraler (verwendete Menge für männliche und weibliche Tiere: Brommethan: 8,3 μmol , Iodmethan: 7,2 μmol) als auch inhalativer Exposition (durchschnittliche Exposition in sechs Stunden: Brommethan: weibliche Tiere: 9,2 ml/m^3 , männliche Tiere: 3,4 ml/m^3 ; Iodmethan: weibliche Tiere: 3,6 ml/m^3 , männliche Tiere: 2,3 ml/m^3) gemessen wurden. Allerdings wurde auch in diesen beiden Studien ein großer Anteil an makromolekularem Einbau von ^{14}C in die Nucleobasen beobachtet (Gansewendt et al. 1991 a, b).

Jeweils drei männliche CDF (F344)/CrIBR-Ratten wurden sechs Stunden pro Tag für einen, drei oder fünf Tage inhalativ gegen 3500 ml Chlormethan/ m^3 exponiert. Weder an den trachealen Epithelzellen noch an den Hepatozyten oder Spermatozyten wurde UDS induziert. Die verwendete Konzentration entspricht der maximal tolerablen Exposition, bei der keine statistisch signifikante Mortalität bei F344-Ratten auftritt. Weitere drei Tiere wurden drei Stunden lang gegen 15 000 ml Chlormethan/ m^3 (entspricht der maximal tolerierbaren Exposition) exponiert. Auch bei dieser Konzentration konnte an den trachealen Epithelzellen und den Spermatozyten keine UDS beobachtet werden. Allerdings trat bei dieser Konzentration eine geringfügige Induktion der UDS in den Hepatozyten auf. Die Autoren schließen aus der Tatsache, dass eine geringe Zunahme der Reparaturmechanismen nur bei der sehr hohen Konzentration auftrat, und dies nur in den Hepatozyten, dass in diesem Fall Chlormethan zwar systemisch verfügbar war, aber nicht fähig, die Keimzellen in den Hoden zu schädigen. Diese Annahme wird auch durch die Ergebnisse der unten beschriebenen Dominant-Letaltests untermauert, wonach in Spermien, die sich zum Zeitpunkt der Exposition in den Samenleitern und Nebenhoden befanden, Dominant-Letalmutationen induziert wurden, nicht hingegen in Spermatozyten, Spermatozyten oder Spermatozyten in den Hoden. Die negativen Ergebnisse mit trachealen Epithelzellen, auch bei der höchsten verwendeten Konzentration, entsprechen den *in vitro* erhaltenen negativen Ergebnissen mit ähnlichen oder höheren Konzentrationen (siehe [Abschnitt 5.6.1](#); Working et al. 1986).

In einem Dominant-Letaltest wurden Gruppen von jeweils 40 männlichen F344-Ratten gegen 0, 1000 oder 3000 ml Chlormethan/ m^3 für sechs Stunden pro Tag an fünf aufeinanderfolgenden Tagen inhalativ exponiert. Jedes der exponierten Tiere wurde eine Woche lang mit einem weiblichen Tier verpaart, über einen Zeitraum von acht Wochen. Bei einer Exposition gegen 1000 ml/m^3 konnten keine Veränderungen im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden, außer einer leichten, aber signifikanten Erhöhung von Präimplantationsverlusten in der dritten Woche nach der Exposition. Die Exposition gegen 3000 ml Chlormethan/ m^3 führte zu einer Abnahme der lebenden und toten Implantate und einem Anstieg des prozentualen Prä- und Postimplantationsverlustes auf 40,9 % (Präimplantationsverlust: 31,4 %; Postimplantationsverlust: 9,5 %). Die Präimplantationsverluste waren zwei, drei, vier, sechs und acht Wochen nach der Exposition signifikant erhöht, was ein Hinweis darauf ist, dass die Keimzellen innerhalb der Nebenhoden und die frühe Spermatogenese innerhalb der Testes (Spermatozyten und primäre Spermatozyten) betroffen waren. Ein statistisch signifikanter Anstieg der Postimplantationsverluste konnte nur in der ersten Woche nach der Exposition beobachtet werden, also zu einem Zeitpunkt, an dem die Spermien im Vas deferens und den Nebenhoden exponiert waren. Bei 30 % der männlichen Tiere der 3000- ml/m^3 -Gruppe wurden 17 Wochen nach der Exposition Spermagranulome in einem oder beiden Nebenhoden festgestellt (Henschler 1992 a; Working et al. 1985 a). In einer begleitenden Studie wurden weitere 40 männliche F344-Ratten in gleicher Weise wie oben beschrieben exponiert und die Spermatogenese und Hoden untersucht. Jeweils fünf männliche Tiere pro Gruppe wurden über einen Zeitraum von acht Wochen hinweg wöchentlich getötet sowie weitere fünf Tiere pro Gruppe 16 Wochen nach der Exposition. Bei den Tieren, die gegen 1000 ml Chlormethan/ m^3 exponiert worden waren, konnten keine Unterschiede zur Kontrollgruppe festgestellt werden. In der 3000- ml/m^3 -Gruppe wurden bei mehr als 50 % der Tiere uni- und bilateral Spermagranulome im Cauda epididymidis gefunden. Die Hodengewichte waren bei diesen Tieren ab der dritten Woche nach der Exposition statistisch signifikant verringert und die Hoden zeigten die für Zytotoxizität typischen Anzeichen: verzögerte Spermatogenese und eine um 60–70 % verringerte Anzahl an Stammspermatozyten. Die daraus entstehende Infertilität der behandelten männlichen Tiere war nach 16 Wochen reversibel (Working et al. 1985 b). In einer weiteren Studie zur Untersuchung der Fertilität wurden weibliche Ratten zwölf Stunden nach der Ovulation, das entspricht ungefähr dem Zeitpunkt der Verpaarung mit gegen 1000 oder 3000 ml Chlormethan/ m^3 exponierten männlichen Tieren, getötet und die Eizellen im Eileiter untersucht. Bei der 1000- ml/m^3 -Gruppe waren fast 90 % der Eizellen befruchtet. In der 3000- ml/m^3 -Gruppe waren in der zweiten Woche nur 3,4 % der Eizellen befruchtet, der Anteil der befruchteten Eizellen stieg auf 72 %

in der achten Woche. Der Anteil der unbefruchteten Eizellen im Verlauf der acht Wochen entspricht dabei dem Anteil der Präimplantationsverluste im Dominant-Letaltest (Working und Bus 1986). Die chronische Entzündung der Nebenhoden und die Bildung der Spermagranulome sind vermutlich die Ursache für die verringerte Beweglichkeit der Spermien sowie für die erhöhte Anzahl an Spermienkopfanomalien. Die Entzündung der Nebenhoden und die verringerte Anzahl und Qualität der Spermien sind laut den Autoren eine mögliche Ursache für die Infertilität der männlichen Tiere im Dominant-Letaltest. Die Präimplantationsverluste werden demnach nicht durch einen genotoxischen, sondern durch einen zytotoxischen Mechanismus hervorgerufen (Henschler 1992 a; Working et al. 1985 b).

In einem weiteren Dominant-Letaltest wurde der Einfluss der Nebenhoden-Entzündungen auf die Entstehung von dominanten Letalmutationen untersucht: Gruppen von jeweils 40 männlichen F344-Ratten wurden gegen 3000 ml Chlormethan/m³ fünf Tage lang jeweils sechs Stunden pro Tag inhalativ exponiert. Eine Gruppe bekam zusätzlich den Entzündungshemmer BW 755C (4,5-Dihydro-1-(3-(trifluormethyl)phenyl)-1H-pyrazol-3-amin) in einer Dosis von 10 mg/kg KG täglich eine Stunde vor und eine Stunde nach der Exposition injiziert. Die Tiere wurden, beginnend zwei Tage nach der Exposition, jeweils eine Woche lang mit einem weiblichen Tier verpaart, über einen Zeitraum von drei Wochen hinweg. Chlormethan verursachte nur in den Spermien, die sich zum Zeitpunkt der Exposition in den Nebenhoden befanden, Mutationen, erkennbar an den Postimplantationsverlusten in der ersten Woche nach Exposition (Anzahl pro trächtiges Weibchen: 0,84; Kontrolle: 0,29) und dem Verhältnis der toten Implantationen zu der Gesamtanzahl an Implantationen in der ersten (0,10; Kontrolle: 0,04) und zweiten Woche (0,24; Kontrolle: 0,06). Mutationen in Spermien, die sich zum Zeitpunkt der Exposition auf dem Weg zu den Nebenhoden befanden, wären in der dritten Woche nach der Exposition erkennbar. Zu diesem Zeitpunkt war jedoch kein Unterschied zu den Kontrolltieren zu beobachten. Die zusätzliche Gabe von BW 755C reduzierte sowohl die Postimplantationsverluste (Anzahl pro trächtiges Weibchen: 0,35), als auch das Verhältnis der toten Implantationen zu der Gesamtanzahl an Implantationen in der ersten (0,04) und zweiten Woche (0,18). Die Vermeidung der Nebenhodenentzündung durch die Gabe von BW 755C verhinderte somit auch die Bildung von Postimplantationsverlusten in diesem Bereich. Dies lässt den Schluss zu, dass entzündliche Effekte und nicht genotoxische Effekte die Ursache sind (Chellman et al. 1986; Henschler 1992 a).

5.6.3 Fazit

Insgesamt ergibt sich aus den vorliegenden Untersuchungen, dass Chlormethan *in vitro* bei hohen Konzentrationen eine mutagene und klastogene Wirkung besitzt. *In vivo* konnte bisher keine DNA-Alkylierung nachgewiesen werden. Die positiven Ergebnisse der Dominant-Letaltests konnten mit Zytotoxizität erklärt werden.

5.7 Kanzerogenität

Es liegen keine neuen Daten vor. Eine 2-Jahre-Inhalationsstudie an F344-Ratten und B6C3F1-Mäusen wurde in der Begründung 1992 (Henschler 1992 a) bereits ausführlich beschrieben und diskutiert. Jeweils 110 Tiere pro Geschlecht und Konzentrationsgruppe wurden gegen 0, 50, 225 oder 1000 ml Chlormethan/m³ 12–24 Monate exponiert (6 Stunden/Tag; 5 Tage/Woche). Bei den Ratten beider Geschlechter und den weiblichen Mäusen konnten keine erhöhten Tumorzinidenzen festgestellt werden. Bei den männlichen Mäusen der höchsten Konzentrationsgruppe (18 von 86 Tieren, die untersucht werden konnten) und bei zwei Tieren der 225-ml/m³-Gruppe wurden Nierentumore (Zystadenome, Adenome der Nierenrinde und papilläre Zystadenokarzinome) gefunden. Die Studie wies jedoch erhebliche Mängel in der Versuchsdurchführung auf und die Mortalität bei den Mäusen, insbesondere in der höchsten Konzentrationsgruppe, war sehr hoch, so dass die Studie in dieser Konzentrationsgruppe bereits nach 21 (weibliche Mäuse) bzw. 22 Monaten (männliche Mäuse) beendet wurde. Die Mechanismen und Rahmenbedingungen zur Entstehung der Nierentumore ausschließlich bei der männlichen Maus und die daraus resultierende Relevanz für den Menschen wurden in der Begründung 1992 (Henschler 1992 a) bereits ausführlich dargelegt und werden deshalb an dieser Stelle nur kurz zusammengefasst: Die höchste verwendete Konzentration liegt im Bereich der Konzentration (1500 ml/m³), die im Nierengewebe von Mäusen eine Erhöhung der Zellproliferation verursacht. Zudem ist bei 1000 ml/m³ eine Glutathion-Depletion auf unter 5 % des Ausgangswertes bei der Maus zu beobachten. In der Folge kommt es zu einem Anstieg der Lipidperoxidation sowie einem vermehrten Abbau von Chlormethan über CYP2E1 (oxidativer Metabolismusweg).

Aufgrund der Glutathion-Depletion tritt eine Abnahme der zytosolischen Formaldehyd-Dehydrogenase (FDH) auf. Unter diesen besonderen Bedingungen kann Formaldehyd als reaktiver Metabolit akkumulieren. Im Nierengewebe der männlichen Maus ist der Gehalt an CYP2E1 (siehe [Abschnitt 3.2](#)) höher als bei der weiblichen Maus.

Vergleich mit anderen Halogenmethanen

Zu den Halogenmethanen **Brommethan** und **Iodmethan** wurden Kanzerogenitätsstudien durchgeführt und in den Begründungen zu Brommethan (Hartwig 2011 a) und Iodmethan (Henschler 1981, 1992 b) ausführlich beschrieben. Bei **Brommethan** wurden in inhalativen Kanzerogenitätsstudien bei der B6C3F1-Maus (2 Jahre, 0, 10, 33 oder 100 ml Brommethan/m³) und der Wistar-Ratte (29 Monate, 0, 3, 30 oder 90 ml Brommethan/m³) keine erhöhten Tumorzinzenzen beobachtet. In einer oralen Studie erhielten männliche und weibliche Wistar-Ratten mit der Schlundsonde 0; 0,4; 2; 10 oder 50 mg Brommethan/kg KG und Tag in Erdnussöl (5 Tage/Woche, 90 Tage). Ab 2 mg/kg KG traten bei allen Ratten dosisabhängig erhöhte Inzidenzen an Vormagenhyperplasien auf, sowie in der höchsten Dosisgruppe Plattenepithelkarzinome des Vormagens, als Folge der lokalen Reizwirkung von Brommethan (Henschler 1992 a).

Zur kanzerogenen Wirkung von **Iodmethan** gibt es mehrere Studien. Bereits in der Begründung zu Iodmethan 1981 (Henschler 1981) wurden Studien beschrieben, bei denen Ratten (BD) einmalig 50 mg Iodmethan/kg KG oder ein Jahr lang einmal pro Woche 10 oder 20 mg Iodmethan/kg KG subkutan injiziert bekamen. Es entstanden vorwiegend lokale Tumoren an der Einstichstelle, die auf die alkylierenden Eigenschaften zurückgeführt wurden. Einem Mäusestamm (A/He), der empfindlich für Lungentumore ist, wurde intraperitoneal 0; 8,5; 21,3 oder 44,0 mg Iodmethan/kg KG dreimal pro Woche (insgesamt 24 Injektionen) verabreicht und die Tiere 24 Wochen nach der ersten Injektion untersucht. Ein geringfügiger, aber statistisch signifikanter Anstieg der durchschnittlichen Anzahl an Lungenadenomen pro Maus wurde festgestellt. Allerdings konnte aufgrund der hohen Mortalität in der höchsten Dosisgruppe keine eindeutige Dosis-Wirkungs-Beziehung gesehen werden (Poirier et al. 1975). Seit der letzten Begründung zu Iodmethan 1992 sind zwei neue Studien zur Kanzerogenität durchgeführt worden. In einer 2-Jahre-Inhalations-Studie (gemäß OECD-Prüfrichtlinie 453) wurden männliche und weibliche Sprague-Dawley-Ratten gegen 0, 5, 20 oder 60 ml **Iodmethan**/m³ Ganzkörper-exponiert. Nur bei den männlichen Tieren der höchsten Konzentrationsgruppe wurde in der Schilddrüse ein statistisch signifikanter Anstieg der Summe von Adenomen und Karzinomen beobachtet (15/70 Tiere; Kontrolle: 4/60). Der Anstieg der Inzidenz an Adenomen (13/70, Kontrolle: 2/60) und Karzinomen (4/70, Kontrolle: 2/60) der follikulären Zellen in dieser Konzentrationsgruppe ist statistisch nicht signifikant. Das Auftreten von Astrozytomen bei beiden Geschlechtern wurde als nicht substanzbedingt bewertet. Die an der Schilddrüse beobachteten Effekte lassen auf eine durch Iodid ausgelöste Störung des Hypophysen-Schilddrüsensystems schließen (ECHA 2013, 2020 a).

In einer oralen Studie bekamen männliche und weibliche CD-1-Mäuse mikroverkapseltes Iodmethan (0, 60, 200 oder 600 mg/kg Futter, das entspricht bei den männlichen Tieren 0, 8, 28 oder 84 mg Iodmethan/kg KG; bei den weiblichen Tieren 0, 10, 35 oder 100 mg/kg KG) über 78 Wochen mit dem Futter verabreicht. Bei männlichen Mäusen der höchsten Dosisgruppe konnte mittels Trend-Test ein geringer aber statistisch signifikanter dosisbezogener Anstieg an follikulären Adenomen/Karzinomen der Schilddrüse (3/49, Kontrolle: 0/50) ermittelt werden. Ein paarweiser Vergleich mit der Kontrolle war nicht statistisch signifikant. Das Auftreten eines Tumors in der Schilddrüse (k. A. ob Adenom oder Karzinom) bei einem einzelnen männlichen Tier in der 28-mg/kg-Gruppe wurde als nicht substanzbedingt bewertet. Das Auftreten von nicht malignen Fibromen an Uterus und Zervix wurde ebenfalls als nicht substanzbedingt angesehen. Auch in dieser Studie wurden die Effekte an der Schilddrüse auf eine durch Iodid ausgelöste Störung des Hypophysen-Schilddrüsensystems zurückgeführt (ECHA 2013, 2020 a).

Fazit: Nierentumore treten nur bei der männlichen Maus und nur mit der höchsten getesteten Konzentration aufgrund geschlechtsspezifischer verstärkter Expressierung von CYP2E1 auf. Die strukturverwandten Halogenmethane Iodmethan und Brommethan verursachen im Langzeit-Tierversuch keine durch eine Alkylierung hervorgerufene kanzerogene Wirkung.

6 Bewertung

Die kritischen Endpunkte sind die Fertilität und die Neurotoxizität. Reizwirkungen wurden in Probandenstudien bis zu einer Konzentration von 200 ml Chlormethan/m³ nicht beobachtet.

MAK-Wert. Es liegen keine zur MAK-Wert-Ableitung geeigneten Daten beim Menschen vor.

Bei männlichen Ratten ist in einer 2-Generationenstudie nach dreimonatiger Exposition die Zahl der Nachkommen bei 475 ml Chlormethan/m³ verringert. Die NOAEC beträgt 150 ml/m³. Histopathologisch wurde Atrophie der Hodentubuli bei 1500 ml/m³ festgestellt (Hamm et al. 1985). In einer 2-Jahre-Studie an Mäusen und Ratten wurde Atrophie der Hodentubuli bei 1000 ml Chlormethan/m³ beobachtet (Battelle Columbus Laboratories 1981). Da die Beeinträchtigung der Fertilität ein empfindlicherer Effekt ist als die Atrophie der Hodentubuli, der aber in dieser Studie nicht untersucht wurde, wird angenommen, dass die NAEC, so wie in der 3-Monate-Studie, ein Zehntel der LOAEC für Hodentubulus-Atrophie beträgt. Somit wird aus der 2-Jahre-Studie eine NAEC für Fertilität von 100 ml Chlormethan/m³ für Ratten angenommen. Die davon extrapolierte Konzentration am Arbeitsplatz beträgt 38 ml/m³ (NAEC 100 ml/m³, Übertragung vom Tierversuch auf den Menschen 1:2, Anpassung der Expositionsdauer von sechs Stunden/Tag auf acht Stunden am Arbeitsplatz. Die erhöhte Atemtätigkeit am Arbeitsplatz im Vergleich zur Exposition der Tiere in Ruhe ist nicht zu berücksichtigen, da der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient < 5 ist). Nach dem Preferred-Value-Approach würde sich ein MAK-Wert von 20 ml/m³ ergeben.

Geringfügige verhaltenstoxische Wirkungen wurden beim Menschen ab 200 ml Chlormethan/m³ beobachtet (Putz-Anderson et al. 1981). Bei weit höheren Konzentrationen aufgrund von unfallartigen Szenarien traten schwere neurotoxische Effekte auf.

Bei zweijähriger Exposition von männlichen und weiblichen B6C3F1-Mäusen gegen 1000 ml Chlormethan/m³ wurden neurotoxische Effekte in Form von Degenerationen und Atrophie der Körnerschicht des Kleinhirns festgestellt. Die NOAEC betrug 225 ml/m³ (Battelle Columbus Laboratories 1981). Bei Ratten wurden keine derartigen Effekte gesehen. Aus der 2-Jahre-Studie ergibt sich eine auf den Arbeitsplatz extrapolierte Konzentration von 84 ml Chlormethan/m³ (NOAEC 225 ml/m³, Übertragung vom Tierversuch auf den Menschen 1:2, Anpassung der Expositionsdauer von sechs Stunden/Tag auf acht Stunden am Arbeitsplatz). Nach dem Preferred-Value-Approach würde sich ein MAK-Wert von 50 ml Chlormethan/m³ ergeben.

Weiterhin liegt eine 11-Tage-Studie an weiblichen C57BL/6-Mäusen, der empfindlichsten Spezies und auch der empfindlichste der getesteten Mäuse-Stämme, vor, in der nach Exposition gegen 400 ml Chlormethan/m³ an 5,5 Stunden pro Tag leichte Degenerationen der Körnerschicht des Kleinhirns beobachtet wurden. Bei dieser Konzentration kam es noch nicht zu Beeinträchtigungen im Rotarod-Test. Die NOAEC war 150 ml Chlormethan/m³ (Landry et al. 1985). Ausgehend von der NOAEC von 150 ml/m³ ergibt sich unter Berücksichtigung der Tier-Mensch-Übertragung (1:2), Anpassung der Expositionsdauer von 5,5 Stunden pro Tag auf 8 Stunden am Arbeitsplatz (5,5 h/d/8 h/d), 7 Tage Exposition auf 5 Tage (7:5) und einer Zeitextrapolation für chronische Exposition (1:6) eine Luftkonzentration für den Arbeitsplatz von 12 ml/m³. Nach dem Preferred-Value-Approach würde sich ein MAK-Wert von 10 ml/m³ ergeben.

Da in der 2-Jahre-Inhalationsstudie nur histopathologische und keine verhaltenstoxischen Effekte untersucht wurden, neurotoxische Effekte beim Menschen beschrieben wurden, und in Anbetracht der Schwere der beobachteten neurotoxischen Effekte im Tierversuch (Degeneration der granulären Schicht im Kleinhirn), der steilen Konzentrations-Wirkungs-Kurve bei kontinuierlicher Exposition und der fehlenden Daten zum Wirkungsmechanismus, wird der MAK-Wert auf 10 ml/m³ festgesetzt.

Spitzenbegrenzung. Da der MAK-Wert von einem systemischen Effekt abgeleitet wird, wird die Zuordnung zu Kurzzeitwert-Kategorie II beibehalten. Die initiale Halbwertszeit von Chlormethan ist deutlich kleiner als eine Stunde (Löf et al. 2000; Nolan et al. 1985), deshalb wird ein Überschreitungsfaktor von 1 festgelegt (Hartwig 2011 b).

Kanzerogenität. Neue Daten zur Kanzerogenität liegen nicht vor. Aus den epidemiologischen Studien ist keine Aussage zur Kanzerogenität für den Menschen möglich. In einer 2-Jahre-Inhalationsstudie mit Ratten und Mäusen wurden nur bei einer Spezies und einem Geschlecht (männliche Maus) in der höchsten Konzentrationsgruppe Nierentumoren

festgestellt (Battelle Columbus Laboratories 1981), deren Ursache sehr wahrscheinlich die geschlechtsspezifische Expression von CYP2E1 in der Niere der Maus ist (Abschnitt 3.2). In einer Metabolismusstudie mit Probanden (Löf et al. 2000) konnte gezeigt werden, dass der Metabolismusweg über CYP2E1 beim Menschen eine untergeordnete Rolle spielt. Zudem konnte keine Expression des CYP2E1-Enzyms in der Niere des Menschen nachgewiesen werden. Da weder bei Ratten noch bei weiblichen Mäusen Nierentumoren oder andere Tumortypen bis zu einer Konzentration von 1000 ml/m³ aufgetreten sind und die Nierentumoren bei der höchsten Konzentration von 1000 ml Chlormethan/m³ bei der männlichen Maus über die geschlechtsspezifisch verstärkte Expression von CYP2E1 erklärbar sind, werden die Nierentumoren für den Menschen als nicht relevant angesehen. DNA-Bindung bei Mäusen und Ratten tritt nicht auf (Henschler 1992 a). Im Vergleich dazu konnten für die Halogenmethane Brommethan und Iodmethan DNA-Addukte in der Leber, der Lunge, im Magen und im Vormagen nachgewiesen werden, jedoch zeigte sich in Langzeitstudien nach inhalativer Exposition keine auf die Alkylierung zurückzuführende kanzerogene Wirkung (Abschnitt 5.7). Selbst bei 150-fach höheren Konzentrationen (500–1500 ml/m³) als der MAK-Wert führte Chlormethan nicht zu DNA-Addukten (Kornbrust et al. 1982; Peter et al. 1985), daher ist eine genotoxische oder kanzerogene Wirkung in vivo nicht zu erwarten. Insgesamt zeigen die vorliegenden Untersuchungen zur Genotoxizität, dass das genotoxische Potential nur bei sehr hohen Konzentrationen zum Tragen kommt. Dennoch kann eine eventuelle Entstehung von DNA-Addukten nicht vollständig ausgeschlossen werden. Diese entstehen, wenn überhaupt, jedoch nur bei Exposition weit oberhalb des MAK-Wertes und auch dann nur in sehr geringem Ausmaß, so dass dies für die Situation am Arbeitsplatz keine Bedeutung hat.

Aufgrund der nur bei männlichen Mäusen geschlechtsspezifisch entstehenden Nierentumoren und der geringen genotoxischen Potenz erfolgt keine Einstufung in eine Kanzerogenitäts-Kategorie.

Keimzellmutagenität. In vitro wirkt Chlormethan bei sehr hohen Konzentrationen (ab 0,8 % Chlormethan) mutagen in Bakterien und mutagen und klastogen in Säugerzellen.

In vivo zeigen sich nur bei der männlichen Maus in Untersuchungen, die direkt nach der Exposition vorgenommen wurden, DNA-Protein-Crosslinks. UDS tritt bei der männlichen Ratte nur in den Leberzellen und bei sehr hoher Konzentration von Chlormethan auf, nicht jedoch in trachealen Epithelzellen oder Spermatozyten. Im Dominant-Letal-Test verursacht Chlormethan bei Ratten bei einer Konzentration von 3000 ml/m³ sowohl Post- als auch Präimplantationsverluste. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die Präimplantationsverluste durch die toxische Wirkung auf die Spermatogenese und einer daraus resultierenden Infertilität der männlichen Tiere verursacht werden. Die Postimplantationsverluste entstehen sekundär durch die durch Chlormethan verursachten Nebenhodenentzündungen (Abschnitt 5.6.2). Zusätzliche Hinweise auf eine nicht primär genotoxische Wirkung von Chlormethan in vivo liefern zwei DNA-Bindungsstudien, die zeigen, dass keine DNA-Alkylierung durch Chlormethan erfolgt (Kornbrust et al. 1982; Peter et al. 1985).

Die Daten zum Metabolismus lassen vermuten, dass beim Menschen nur die Konjugation mit Glutathion von Bedeutung ist (Löf et al. 2000). Der Metabolismusweg über die Oxidation führt anscheinend nur bei der männlichen Maus zur Bildung von Formaldehyd und damit zu den beobachteten DNA-Protein-Crosslinks. Grund für diese geschlechts- und speziesspezifische Bildung von Formaldehyd ist vermutlich das CYP2E1, das bei der männlichen Maus in der Niere stärker exprimiert ist als bei der weiblichen Maus und beim Menschen.

Insgesamt ergibt sich aus den Studien zur Genotoxizität in vivo und zum Metabolismus, dass bei Chlormethan zytotoxische und sekundär genotoxische Ursachen im Vordergrund stehen, daher erfolgt keine Einstufung in eine Kategorie für Keimzellmutagene.

Fruchtschädigende Wirkung. Bisher ist Chlormethan bei einem MAK-Wert von 50 ml/m³ (100 mg/m³) der Schwangerschaftsgruppe B zugeordnet.

Entwicklungstoxizität:

In zwei pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudien an C57BL/6-Mäusen treten ab 500 ml Chlormethan/m³ Herzanomalien (Reduktion oder Fehlen der Atrioventrikularklappe, Chordae tendineae oder Papillarmuskeln, verkleinerter

rechter Ventrikel, kugelförmiges Herz, weiße Flecken in der linken Ventrikelwand) auf. Die zweite Studie konnte qualitativ und quantitativ (CIIT 1981 a; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 b) die in der ersten Studie (CIIT 1981 b; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 b) festgestellten Veränderungen nicht reproduzieren. Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass Art, Anzahl und Grad der Herzdefekte Artefakte aufgrund der großen Variabilität zwischen den Tieren oder aufgrund der Sektions- und Fixierungstechnik darstellen können. Erschwert wird die Interpretation auch durch das Fehlen von historischen Kontrollen für diesen nicht standardmäßig verwendeten Mäusestamm. Aus den Mäusestudien ergibt sich eine NOAEC für Entwicklungstoxizität, die auch die teratogenen Effekte einschließt, von 250 ml Chlormethan/m³. In einer pränatalen Entwicklungstoxizitätsstudie an F344-Ratten kommt es bei der höchsten Konzentration von 1500 ml Chlormethan/m³ bei leichter Maternaltoxizität (verminderte Körpergewichtszunahme) zu Entwicklungsverzögerungen bei den Feten. Die NOAEC für Entwicklungstoxizität liegt bei 500 ml/m³ (CIIT 1981 b; Henschler 1992 a; Wolkowski-Tyl et al. 1983 a). Bei Neuseeländer-Kaninchen werden in einer Studie nach OECD-Prüfrichtlinie 414 bis zur höchsten Konzentration von 1000 ml Chlormethan/m³ keine maternal- und entwicklungstoxischen Effekte beobachtet. Die NOAEC für Entwicklungstoxizität beträgt damit 1000 ml/m³, die höchste Konzentration (Arts et al. 2019). Weder bei Ratten noch bei Kaninchen wurden teratogene Effekte festgestellt. Aus einer 2-Generationenstudie an F344-Ratten ergibt sich eine NOAEC für perinatale Toxizität von 475 ml/m³, bei dieser Konzentration wird bereits reduzierte Fertilität aufgrund einer toxischen Wirkung auf die Spermatozyten festgestellt (Hamm et al. 1985; Henschler 1992 a).

Da der Blut:Luft-Verteilungskoeffizient < 5 ist, ist das erhöhte Atemvolumen am Arbeitsplatz nicht zu berücksichtigen. Aus den NOAEC für Entwicklungstoxizität von 250 (Maus), 500 (Ratte) und 1000 (Kaninchen) ml/m³ bzw. der NOAEC für perinatale Toxizität von 475 (Ratte) ml/m³ ergeben sich 25-, 50-, 100- bzw. 48-fache Abstände zum MAK-Wert von 10 ml/m³.

Die Abstände der umgerechneten NOAEC für Entwicklungstoxizität/perinatale Toxizität zum MAK-Wert sind ausreichend groß. Auch die bei einer Spezies, der Maus, schwer zu interpretierenden Herzanomalien sind damit abgedeckt. Auf Basis der entwicklungstoxischen Wirkungen könnte eine Umstufung der Zuordnung von Chlormethan von Schwangerschaftsgruppe B zu C vorgenommen werden.

Entwicklungsneurotoxizität:

Seit 2016 ist für Substanzen, deren MAK-Wert von einem neurotoxischen Effekt abgeleitet wurde, eine Aussage über entwicklungsneurotoxische Effekte beim Fetus notwendig.

In der 2-Generationenstudie an F344-Ratten wurden bei den Nachkommen keine neurotoxischen oder verhaltensbezogenen Endpunkte untersucht (Hamm et al. 1985; Henschler 1992 a). Es liegen auch keine Untersuchungen zu derartigen Endpunkten bei Nachkommen von in utero exponierten Muttertieren vor.

Daten zur Toxikokinetik, zu Metabolismus oder Wirkungsmechanismus, die eine Aussage darüber ermöglichen würden, ob Feten weniger empfindlich als erwachsene Tiere reagieren, liegen nicht vor.

Aufgrund neurotoxischer Veränderungen in den Untersuchungen bei den adulten Tieren sind entwicklungsneurotoxische Effekte bei den Nachkommen nicht grundsätzlich auszuschließen.

Damit ist keine Aussage über entwicklungsneurotoxische Effekte von Chlormethan beim Fetus möglich. Chlormethan wird daher von Schwangerschaftsgruppe B nach D umgestuft.

Hautresorption. Chlormethan ist ein Gas und es liegen keine Studien zur dermalen Resorption, auch nicht zur dermalen Toxizität, vor. Eine dermale Exposition aus einer wässrigen Lösung ist unwahrscheinlich.

Wie in [Abschnitt 3.1](#) berechnet, werden aus der Gasphase bei achtstündiger Ganzkörperexposition gegen 10 ml/m³ 313 bzw. 46 µg Chlormethan aufgenommen.

Bei Exposition in Höhe des MAK-Werts werden maximal 60 % inhalativ resorbiert ([Abschnitt 3.1](#)) und somit bei 10 m³ Atemvolumen 126 mg aufgenommen.

Aufgrund der Modellrechnungen ist die Resorption aus der Gasphase sehr gering und eine Exposition gegen eine wässrige Lösung unwahrscheinlich, so dass Chlormethan nicht mehr mit „H“ markiert wird.

Sensibilisierende Wirkung. Zur sensibilisierenden Wirkung liegen keine Befunde beim Menschen und keine Ergebnisse aus experimentellen Untersuchungen am Tier oder aus In-vitro-Untersuchungen vor. Chlormethan wird daher weder mit „Sh“ noch mit „Sa“ markiert.

Anmerkungen

Interessenkonflikte

Die in der Kommission etablierten Regelungen und Maßnahmen zur Vermeidung von Interessenkonflikten (https://www.dfg.de/dfg_profil/gremien/senat/arbeitsstoffe/interessenkonflikte/index.html) stellen sicher, dass die Inhalte und Schlussfolgerungen der Publikation ausschließlich wissenschaftliche Aspekte berücksichtigen.

Literatur

- Andrews AW, Zawistowski ES, Valentine CR (1976) A comparison of the mutagenic properties of vinyl chloride and methyl chloride. *Mutat Res Genet Toxicol* 40(3): 273–275. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(76\)90054-9](https://doi.org/10.1016/0165-1218(76)90054-9)
- Arts J, Kellert M, Pottenger L, Theuns-van Vliet J (2019) Evaluation of developmental toxicity of methyl chloride (chloromethane) in rats, mice, and rabbits. *Regul Toxicol Pharmacol* 103: 274–281. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.02.001>
- Asakura M, Sasaki T, Sugiyama T, Arito H, Fukushima S, Matsushima T (2008) An improved system for exposure of cultured mammalian cells to gaseous compounds in the chromosomal aberration assay. *Mutat Res* 652(2): 122–130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.01.004>
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (1998) Toxicological profile for chloromethane. ATSDR, Atlanta, GA. <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp106.pdf>, abgerufen am 15 Okt 2019
- Battelle Columbus Laboratories (1981) A chronic inhalation toxicology study in rats and mice exposed to methyl chloride (final report) with cover letter dated 102591. NTIS/OTS0511310. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0511310.xhtml>, abgerufen am 25 Mrz 2020
- Bause GS (2019) Not just ethyl chloride or Somnoform: Anestile, a refrigerant anesthetic by Bengué. *Anesthesiology* 130(5): 676–676. DOI: <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000002742>
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung) (2020) The DevTox project: a resource for developmental toxicology. Version 3.1. https://www.devtox.org/index_en.php, abgerufen am 15 Jun 2020
- BUA (Beratergremium für Umweltrelevante Altstoffe der Gesellschaft Deutscher Chemiker) (Hrsg) (1986) Chlormethan. BUA-Stoffbericht Nr. 7. VCH, Weinheim
- Burek J, Potts W, Gushow T (1981) Methyl chloride: 48 and 72 hour continuous inhalation exposure in rats followed by up to 12 days of recovery (final report) with letter dated 102591 (sanitized). NTIS/OTS 0534632. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0534632.xhtml>, abgerufen am 27 Jul 2020
- Chapin RE, White RD, Morgan KT, Bus JS (1984) Studies of lesions induced in the testis and epididymis of F-344 rats by inhaled methyl chloride. *Toxicol Appl Pharmacol* 76(2): 328–343. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(84\)90014-0](https://doi.org/10.1016/0041-008x(84)90014-0)
- Chellman GJ, Bus JS, Working PK (1986) Role of epididymal inflammation in the induction of dominant lethal mutations in Fischer 344 rat sperm by methyl chloride. *Proc Natl Acad Sci USA* 83(21): 8087–8091. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.83.21.8087>
- CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) (1981 a) Initial submission: Methyl chloride structural teratogenicity evaluation in B6C3F1 mice (final report) with cover letter dated 042492. NTIS/OTS0536249. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0536249.xhtml>, abgerufen am 29 Sep 2020
- CIIT (Chemical Industry Institute of Toxicology) (1981 b) Initial submission: Structural teratogenicity evaluation of methyl chloride in rats and mice after inhalation exposure (final report) with cover letter dated 013092. NTIS/OTS0535810. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0535810.xhtml>, abgerufen am 02 Okt 2020
- Dekant W, Frischmann C, Speerschneider P (1995) Sex, organ and species specific bioactivation of chloromethane by cytochrome P450E1. *Xenobiotica* 25(11): 1259–1265. DOI: <https://doi.org/10.3109/00498259509046681>
- Dow Corning Corporation (1994) A case control study of respiratory cancers at the Dow Corning Midland silicones production plant with cover letter dated 04/28/94 (sanitized). NTIS/OTS0557316. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0557316.xhtml>, abgerufen am 24 Feb 2020

- Du Pont (1977) Mutagenic activity of methane, chloro- in the Salmonella microsome assay with cover letter. NTIS/OTS0215036. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0215036.xhtml>, abgerufen am 16 Jun 2021
- ECHA (European Chemicals Agency) (2013) CLH report for iodomethane, Proposal for Harmonised Classification and Labelling. Based on Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP Regulation), Annex VI, Part 2. ECHA, Helsinki. <https://echa.europa.eu/documents/10162/55475771-9afe-791a-4983-5e2b650c4941>, abgerufen am 22 Jan 2020
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020 a) Iodomethane (CAS Number 74-88-4). Registration dossier. Joint submission, first publication 03 Mar 2011, last modification 23 May 2020. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/12834/1>, abgerufen am 25 Feb 2020
- ECHA (European Chemicals Agency) (2020 b) Chloromethane; methyl chloride (CAS Number 74-87-3). Registration dossier. Joint submission, first publication 04 Mar 2011, last modification 14 Sep 2020. <https://echa.europa.eu/de/registration-dossier/-/registered-dossier/15768/1>, abgerufen am 28 Sep 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>
- Fostel J, Allen PF, Bermudez E, Kligerman AD, Wilmer JL, Skopek TR (1985) Assessment of the genotoxic effects of methyl chloride in human lymphoblasts. *Mutat Res* 155(1–2): 75–81. DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(85\)90028-x](https://doi.org/10.1016/0165-1218(85)90028-x)
- Ganewendt B, Foest U, Xu D, Hallier E, Bolt HM, Peter H (1991 a) Formation of DNA adducts in F-344 rats after oral administration or inhalation of [¹⁴C]methyl bromide. *Food Chem Toxicol* 29(8): 557–563. DOI: [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(91\)90048-C](https://doi.org/10.1016/0278-6915(91)90048-C)
- Ganewendt B, Xu D, Foest U, Hallier E, Bolt HM, Peter H (1991 b) DNA binding of methyl iodide in male and female F344 rats. *Carcinogenesis* 12(3): 463–467. DOI: <https://doi.org/10.1093/carcin/12.3.463>
- Greim (Hrsg) (2001) Chlormethan. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 33. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7487d0033>
- Hamm TE, Raynor TH, Phelps MC, Auman CD, Adams WT, Proctor JE, Wolkowski-Tyl R (1985) Reproduction in Fischer-344 rats exposed to methyl chloride by inhalation for two generations. *Fundam Appl Toxicol* 5(3): 568–577. DOI: [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(85\)90104-6](https://doi.org/10.1016/0272-0590(85)90104-6)
- Hartwig A (Hrsg) (2011 a) Brommethan. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 50. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7483d0050>
- Hartwig A (Hrsg) (2011 b) Spitzenbegrenzung. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 51. Lieferung. Wiley-VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mbpeakexpd0051>
- Henschler D (Hrsg) (1981) Iodmethan. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 8. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7488d0008>
- Henschler D (Hrsg) (1992 a) Chlormethan. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 18. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7487d0018>
- Henschler D (Hrsg) (1992 b) Iodmethan. In: *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*, 18. Lieferung. VCH, Weinheim. Auch erhältlich unter DOI: <https://doi.org/10.1002/3527600418.mb7488d0018>
- Holmes TM, Buffler PA, Holguin AH, Hsi BP (1986) A mortality study of employees at a synthetic rubber manufacturing plant. *Am J Ind Med* 9(4): 355–362. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajim.4700090407>
- Jäger R, Peter H, Sterzel W, Bolt HM (1988) Biochemical effects of methyl chloride in relation to its tumorigenicity. *J Cancer Res Clin Oncol* 114(1): 64–70. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00390487>
- John-Greene JA, Welsch F, Bus JS (1985) Comments on heart malformations in B6C3F1 mouse fetuses induced by methyl chloride – continuing efforts to understand the etiology and interpretation of an unusual lesion. *Teratology* 32(3): 483–487. DOI: <https://doi.org/10.1002/tera.1420320317>
- Keppeler F, Fischer J, Sattler T, Polag D, Jaeger N, Schöler HF, Greule M (2017) Chloromethane emissions in human breath. *Sci Total Environ* 605–606: 405–410. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.202>
- Kernan GJ, Ji B-T, Dosemeci M, Silverman DT, Balbus J, Zahm SH (1999) Occupational risk factors for pancreatic cancer: a case-control study based on death certificates from 24 U.S. states. *Am J Ind Med* 36(2): 260–270. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0274\(199908\)36:2%3C260::AID-AJIM5%3E3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0274(199908)36:2%3C260::AID-AJIM5%3E3.0.CO;2-P)
- Kornbrust DJ, Bus JS, Doerjer G, Swenberg JA (1982) Association of inhaled [¹⁴C]methyl chloride with macromolecules from various rat tissues. *Toxicol Appl Pharmacol* 65(1): 122–134. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(82\)90370-2](https://doi.org/10.1016/0041-008x(82)90370-2)
- Landry TD, Quast JF, Gushow TS, Mattsson JL (1985) Neurotoxicity of methyl chloride in continuously versus intermittently exposed female C57BL/6 mice. *Fundam Appl Toxicol* 5(1): 87–98. DOI: [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(85\)90052-1](https://doi.org/10.1016/0272-0590(85)90052-1)
- Löf A, Johanson G, Rannug A, Warholm M (2000) Glutathione transferase T1 phenotype affects the toxicokinetics of inhaled methyl chloride in human volunteers. *Pharmacogenetics* 10(7): 645–653. DOI: <https://doi.org/10.1097/00008571-200010000-00007>
- Longstaff E, Robinson M, Bradbrook C, Styles JA, Purchase IFH (1984) Genotoxicity and carcinogenicity of fluorocarbons: assessment by short-term in vitro tests and chronic exposure in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 72(1): 15–31. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(84\)90245-X](https://doi.org/10.1016/0041-008X(84)90245-X)

- McKenna M, Burek J, Henk J, Wackerle D, Childs R (1981) Methyl chloride: a 90-day inhalation toxicity study in rats, mice and beagle dogs. In: Five reports dealing with studies of methyl chloride pharmacokinetics and inhalation toxicity studies – with cover letter dated 071181. NTIS/OTS0511317. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0511317.xhtml>, abgerufen am 27 Jul 2020
- Morgan KT, Swenberg JA, Hamm TE Jr, Wolkowski-Tyl R, Phelps M (1982) Histopathology of acute toxic response in rats and mice exposed to methyl chloride by inhalation. *Fundam Appl Toxicol* 2(6): 293–299. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0272-0590\(82\)80008-0](https://doi.org/10.1016/s0272-0590(82)80008-0)
- NLM (National Library of Medicine) (2020) Methyl chloride. ChemIDplus Data Bank. <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/74-87-3>, abgerufen am 21 Apr 2020
- Nolan RJ, Rick DL, Landry TD, McCarty LP, Agin GL, Saunders JH (1985) Pharmacokinetics of inhaled methyl chloride (CH₃Cl) in male volunteers. *Fundam Appl Toxicol* 5(2): 361–369. DOI: [https://doi.org/10.1016/0272-0590\(85\)90084-3](https://doi.org/10.1016/0272-0590(85)90084-3)
- Olsen GW, Hearn S, Cook RR, Currier MF, Allen S (1989) Mortality experience of a cohort of Louisiana chemical workers. *J Occup Med* 31(1): 32–34
- Peter H, Laib RJ, Ottenwälder H, Topp H, Rupprich N, Bolt HM (1985) DNA-binding assay of methyl chloride. *Arch Toxicol* 57(2): 84–87. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00343115>
- Poirier LA, Stoner GD, Shimkin MB (1975) Bioassay of alkyl halides and nucleotide base analogs by pulmonary tumor response in strain A mice. *Cancer Res* 35(6): 1411–1415
- Putz-Anderson V, Setzer JV, Croxton JS, Phipps FC (1981) Methyl chloride and diazepam effects on performance. *Scand J Work Env Hea* 7(1): 8–13. DOI: <https://doi.org/10.5271/sjweh.2563>
- Rafnsson V, Gudmundsson G (1997) Long-term follow-up after methyl chloride intoxication. *Arch Environ Health* 52(5): 355–359. DOI: <https://doi.org/10.1080/00039899709602211>
- Rafnsson V, Kristbjörnsdóttir A (2014) Increased cardiovascular mortality and suicide after methyl chloride exposure. *Am J Ind Med* 57(1): 108–113. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajim.22243>
- Ristau C, Bolt HM, Vangala RR (1989) Detection of DNA-protein crosslinks in the kidney of male B6C3F1 mice after exposure to methyl chloride. In: Chambers PL, Chambers CM, Greim H (Hrsg) Biological monitoring of exposure and the response at the subcellular level to toxic substances. *Archives of Toxicology*, Bd 13. Springer, Berlin, Heidelberg, 243–245. https://doi.org/10.1007/978-3-642-74117-3_41
- Ristau C, Bolt HM, Vangala RR (1990) Formation and repair of DNA lesions in kidneys of male mice after acute exposure to methyl chloride. *Arch Toxicol* 64(3): 254–256. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02010734>
- SCOEL (Scientific Committee on Occupational Exposure Limits) (2017) Recommendation from the Scientific Committee on Occupational Exposure Limits for chloromethane. SCOEL/REC/191. European Commission, Brussels. <https://op.europa.eu/de/publication-detail/-/publication/2958d2db-0950-11e7-8a35-01aa75ed71a1>, abgerufen am 05 Mrz 2020
- Simmon VF, Kauhanen, K, Tardiff RG (1977) Mutagenic activity of chemicals identified in drinking water. In: Scott D, Bridges BA, Sobels FH (Hrsg) *Progress in genetic toxicology*. Elsevier, New York, 249–258
- Stewart RD, Hake CL, Wu A, Graff SA, Forster H, Keeler WH, Lebrun AJ, Newton PE, Soto RJ (1980) Methyl chloride: development of a biologic standard for the industrial worker by breath analysis. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/PB81167686.xhtml>, abgerufen am 07 Mai 2020
- 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>
- Triskelion (2016) A prenatal development study in New Zealand white rabbits with methyl chloride by inhalation. Studiennummer: 093.25527, 2016, Triskelion, Zeist, unveröffentlicht
- Tyl RW (1985) Response to comments on heart malformations in B6C3F1 mouse fetuses induced by methyl chloride – continuing efforts to understand the etiology and interpretation of an unusual lesion. *Teratology* 32(3): 489–492. DOI: <https://doi.org/10.1002/tera.1420320318>
- University of Wisconsin (1982) Drosophila sex linked recessive lethal test on chloromethane. NTIS/OTS0511305. NTIS, Alexandria, VA. <https://ntrl.ntis.gov/NTRL/dashboard/searchResults/titleDetail/OTS0511305.xhtml>, abgerufen am 26 Sep 2019
- US EPA (US Environmental Protection Agency) (2001) Toxicological review of methyl chloride (CAS No. 74-87-3). EPA/635/R01/003. US EPA, Washington, DC. https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/1003tr.pdf, abgerufen am 10 Mrz 2020
- Vaughan P, Lindahl T, Sedgwick B (1993) Induction of the adaptive response of *Escherichia coli* to alkylation damage by the environmental mutagen, methyl chloride. *Mutat Res* 293(3): 249–257. DOI: [https://doi.org/10.1016/0921-8777\(93\)90076-S](https://doi.org/10.1016/0921-8777(93)90076-S)
- Warholm M, Rane A, Alexandrie A-K, Monaghan G, Rannug A (1995) Genotypic and phenotypic determination of polymorphic glutathione transferase T1 in a Swedish population. *Pharmacogenetics* 5(4): 252–254. DOI: <https://doi.org/10.1097/00008571-199508000-00010>
- Westhorpe R (1994) Parrett's Somnoform inhaler. *Anaesth Intensive Care* 22(3): 249. DOI: <https://doi.org/10.1177/0310057X9402200301>
- Williams J, Wang N-Y, Cicerone RJ, Yagi K, Kurihara M, Terada F (1999) Atmospheric methyl halides and dimethyl sulfide from cattle. *Global Biogeochem Cycles* 13(2): 485–491. DOI: <https://doi.org/10.1029/1998GB900010>
- Wolkowski-Tyl R, Lawton AD, Phelps M, Hamm TE Jr (1983 a) Evaluation of heart malformations in B₆C₃F₁ mouse fetuses induced by in utero exposure to methyl chloride. *Teratology* 27(2): 197–206. DOI: <https://doi.org/10.1002/tera.1420270207>

- Wolkowski-Tyl R, Phelps M, Davis JK (1983 b) Structural teratogenicity evaluation of methyl chloride in rats and mice after inhalation exposure. *Teratology* 27(2): 181–195. DOI: <https://doi.org/10.1002/tera.1420270206>
- Working PK, Bus JS (1986) Failure of fertilization as a cause of preimplantation loss induced by methyl chloride in Fischer 344 rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 86(1): 124–130. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(86\)90405-9](https://doi.org/10.1016/0041-008x(86)90405-9)
- Working PK, Bus JS, Hamm TE Jr (1985 a) Reproductive effects of inhaled methyl chloride in the male Fischer 344 rat: I. Mating performance and dominant lethal assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 77(1): 133–143. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(85\)90274-1](https://doi.org/10.1016/0041-008x(85)90274-1)
- Working PK, Bus JS, Hamm TE Jr (1985 b) Reproductive effects of inhaled methyl chloride in the male Fischer 344 rat: II. Spermatogonial toxicity and sperm quality. *Toxicol Appl Pharmacol* 77(1): 144–157. DOI: [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(85\)90275-3](https://doi.org/10.1016/0041-008x(85)90275-3)
- Working PK, Doolittle DJ, Smith-Oliver T, White RD, Butterworth BE (1986) Unscheduled DNA synthesis in rat tracheal epithelial cells, hepatocytes and spermatocytes following exposure to methyl chloride in vitro and in vivo. *Mutat Res* 162(2): 219–224. DOI: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(86\)90088-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(86)90088-6)