

VAPONA-LIUSKOISTA HAIHTUVAN DDVP:n MYRKYLLISYYS

KURT HENRIKSSON

Valtion eläinlääketieteellinen laitos, Helsinki

KAARLO KALLELA

Eläinlääketieteellinen korkeakoulu, Helsinki

MATTI VIRTAMO ja PIRKKO PFÄFFLI

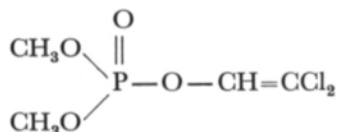
Työterveyslaitos, Helsinki

Saapunut 16. 5. 1971

Abstract. The purpose of the study was to clarify the toxicity to calves of the insecticide Vapona Strip®. Besides 39 calves, the study involved 1 heifer, 7 sheep, 6 guinea pigs and 20 mice. The highest concentration of DDVP in the air, 2.1 mg/m³, was measured when the number of strips was highest or 16 times the recommended number. The concentration of DDVP in the air did not prove dangerous for the calves or the other animals in the study.

Tuhohyönteisten hävittämiseen kasvihuoneissa on DDVP:tä käytetty ruiskutteina ja kaasutteina (Dedevap »Bayer», Nogos-50 »Ciba») Suomessa 1961 lähtien. Vapona-liuskoissa sitä on hyönteisten torjunnassa käytetty 1969 alkaen. Eri muodoissa on DDVP:tä käytetty n. 2100 kg (M. Markkula, suullinen tiedonanto 21. 4. 1971).

Kemiallisesti DDVP (diklorovossi) on 0.0-dimetyyli-2.2-dikloorivinyylifosfaatti, jonka empiirinen kaava on C₄H₇Cl₂O₄P ja rakennekaava



Fysikaalisilta ominaisuuksiltaan aine on puhtaana lievän ominaishajun omaavaa nestettä, jonka tiheys on 1.42 g/cm³ (25° C), sulamispiste — 18° C ja kiehumispiste 20 mm Hg paineessa 140° C, 1 mm Hg paineessa 84° C. Höyrynpaine on + 32° C:ssa 0.032 mm Hg

ja + 60° C:ssa 0.296 mm Hg. Aine luetaan kohtalaisen voimakkaisiin myrkkyihin. Virallisen kasvinsuojeluaineluettelon (1969) mukaan DDVP:n LD₅₀-arvo on rotalla suun kautta 25—30 mg/kg ja ihon kautta 75—900 mg/kg.

Kärpästen, koiden, sääskien, ym. lentävien hyönteisten torjuntaan on DDVP:tä käytetty PVC-muovimassaan sekoitettuna useissa maissa vuosikautia. Tuotetta valmistaa Shell ns. Vapona-liuskoina (Vapona Strip®), joissa DDVP:tä on n. 20 %. Tutkimusten mukaan tuotteen myrkyllisyys on näin käytettynä alhaisempi ja erilainen kuin teknisen DDVP:n. Tämä johtuu siitä, että tehoainetta vapautuu Vapona-liuskoista pieniä määriä pitkän ajan kuluessa, joten normaaleissa ympäristöolosuhteissa haihtuminen on »kontrolloitua».

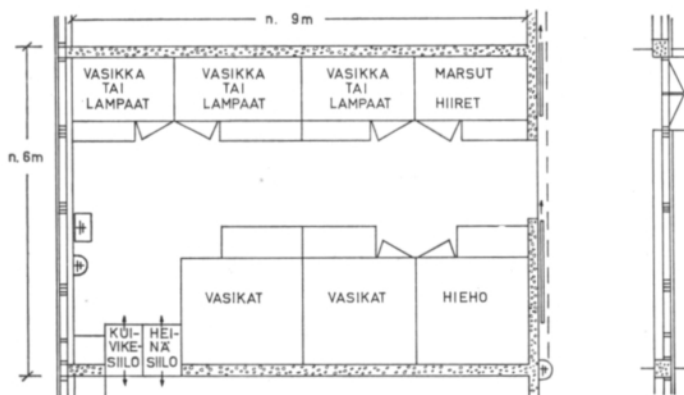
Suomessa Vapona-liuskojen käyttö on ollut sallittua vuodesta 1969. Vuoden 1970 loppuun mennessä oli liuskoja myyty 65 000—70 000 kappaletta (L. Iisakkila, suullinen tiedonanto 2. 3. 1971). Kaikkiaan oli vuoden 1970 alkuun mennessä Vapona-liuskoja eri puolilla maapalloa käytetty n. 100 miljoonaa kappaletta (n. 2 milj. kg DDVP:tä).

Valmisteen käytön suhteen on eri maissa hyvinkin erilaisia määrärajoituksia. Ruotsissa ja tiettävästi Yhdysvalloissa ei rajoituksia ole. Suomessa lienevät käyttörajoitukset ankarampia kuin missään muussa maassa. Niinpä valmistetta saadaan käyttää ainoastaan tiloissa, joissa ihmiset eivät jatkuvasti oleskele.

Selostettava tutkimus aiheutui epäilyksistä, joiden mukaan Vapona-liuskat olisivat aiheuttaneet myrkytyksiä kotieläimille, lähinnä vasikoille. Kun tiedot kirjallisuudessa vasikoiden herkyydestä DDVP:n mahdollisille haittavaikutuksille ovat puutteellisia ja kun tiedetään niiden täysikasvuisia nautaeläimiä herkemmin reagoivan orgaanisten fosforihappoestereiden myrkyvaikutuksille (ROSENBERGER 1970), katsottiin vasikat sopiviksi koe-eläimiksi tutkimukseen, jonka suorittamista puolsi myös Vapona-liuskojen uutuus Suomen markkinoilla ja käytännössä saatujen kokemusten puute.

Kokeiden järjestely

Koe suoritettiin Eläinlääketieteellisen korkeakoulun kotieläinhygienian laitoksella. Koehuoneena oli eläinosasto, jonka tilavuus oli n. 140 m³ ja korkeus n. 2.6 m. Koehuoneen muut mitat, sisustus ja koe-eläinten sijoittelu karsinoinhin selviävät kuvasta 1. Kuivikkeina eläimille käytettiin olkia ja turvepehkuu.



Kuva 1. Koetila ja eläinten sijoitus.

Fig. 1. Experiment premises and locations of animals.

Normaalisti toimii eläinosaston ilmanvaihto ylipainejärjestelmän mukaan siten, että ilmavirta kulkee koehuoneeseen eläinosaston käytävästä oven kautta ja poistuu sen katossa olevien poistoventtiilien kautta. Koeajaksi pyrittiin ilmanvaihto järjestämään mahdollisimman epäedulliseksi. Oviaukko peitettiin tiiviisti muoviverholla ja kattoventtiilit suljettiin. Ainoana poistoaukkona toimi raollaan oleva pieni (30 × 65 cm) ulkoseinäikkuna. Muutamia kertoja koejakson aikana jouduttiin yhtä kattoventtiileistä raottamaan lämmön ja kosteuden noustessa liian suureksi.

Kokeessa oli kaikkiaan 39 vasikkaa, 1 hicho, 7 lammasta, 6 marsua ja 20 valkoista hiirtä.

Vasikat hankittiin Karjakunnan eläinvälityksen kautta. Saapuessaan ne olivat keskimäärin 8 vrk:n ikäisiä ja 36 kg:n painoisia (taulukko 1). Vasikoista oli kolme mukana kokeessa koko sen kestoajan. Muut olivat koehuoneessa kolmen vasikan ryhmissä kokeen alkupuolella viikon, kokeen loppupuoliskolla kahden viikon ajan tietyn Vapona-liuskamäärän vaikutuksen alaisina.

Kokeen alkupuolella liuskojen lukua muutettiin viikoittain siten, että niitä koejakson ensimmäisellä viikolla oli valmistajan suosittelema määrä (1 liuska/28 m³) ja seuraavina viikkoina 2-, 4-, 6-, 10- ja 16-kertaiset määrät. Ennen koehuoneeseen sijoittamista vasikat pidettiin viikon ajan laitoksen eräässä toisessa eläinhuoneessa.

Kokeen loppupuoliskolla Vapona-liuskojen lukumäärää vähennettiin viikoittain päivittäisessä järjestyksessä. Vasikat sijoitettiin laitokselle saapumisensa jälkeen suoraan koehuoneeseen ja pidettiin ensin viikko yksittäiskarsinoissa ja sitten viikko yhteisessä kolmen vasikan karsinassa.

Koeajan päätyttyä vasikat siirrettiin toiseen huoneeseen, jossa niitä seurattiin vähintään yhden viikon ajan. Osa vasikoista jätettiin jälkitarastukseen laitokselle yli kahden kuukauden ajaksi. Kokeessa koko ajan mukana olleita kolmea vasikkaa on kokeen päätyttyä tarkkailtu yli 15 viikkoa.

Kokeen alkupuoliskolla vasikat saivat ensimmäisen vuorokauden aikana sokeri-suolaliuosta. Tämän jälkeen annettiin piimää kahdesti vuorokaudessa, aluksi n. 2 l/vrk. Määrää nostettiin siten, että se viikon kuluttua oli 6 l/vrk. Heinää oli vapaasti saatavissa. Kokeen loppupuoliskolla vasikoille annettiin piimää heti tulopäivästä lähtien, aluksi 1 l/vrk ja viikon kuluttua n. 6 l/vrk.

Hicho, joka kokeen alkaessa oli seitsemän kuukauden ikäinen ja 187 kg:n painoinen, oli koehuoneessa koko tutkimuksen ajan ja on jatkuvasti laitoksella. Lampaista oli uuhia kuusi ja pässejä yksi. Uuhet, yksi n. 3.5-vuotias, neljä n. 1.5-vuotias ja yksi n. 0.5-vuotias, oli joko juuri ennen koetta astutettu tai astutettiin sen alkupuolella edellä mainitulla pässillä, joka oli n. 0.5-vuotias. Lampaat siirrettiin toiseen huoneeseen koeajan puolivälissä, jolloin niiden tilat saatiin vasikoiden käyttöön (kuva 1).

Marsut oli jaettu kahteen hikkiin. Näistä toinen sijoitettiin 50 cm:n ja toinen 100 cm:n korkeudelle.

Hiiristä oli koiraita 10. Nämä sijoitettiin lasiastiaan 50 cm:n korkeudelle. Naaraat, joita oli myös 10, olivat 100 cm:n korkeudessa. Kokeen 43. vuorokautena kolme naaraa ja yksi uros eristettiin yhteen purkkiin 50 cm:n korkeudelle. Kun naaraat todettiin kantaviksi, ne siirrettiin omiin happeihinsä 50 cm:n korkeuteen ja uros takaisin urosten joukkoon. Hiiret synnyttivät seuraavasti:

Emä 1	kokeen	62. vrk:na	5 poikasta
Emä 2	»	63. »	9 »
Emä 3	»	64. »	9 »

Hiirten ruokinta oli sikäli normaalia poikkeavaa, että ne saivat pääasiallisesti teuraskarjalle tarkoitettua raerehua ja ainoastaan rajoitetusti hiiri- ja rottarehua.

Vapona Strip®-liuskat olivat 10 liuskaa käsittävissä pakkauksissa. Jokainen liuska oli lisäksi omassa ilmatiiviissä myyntipäällyksessä, joka avattiin ripustamisen yhteydessä. Liuskoissa oli Shellin tavaramerkki ja merkintä »Contains Vapona Insecticide AC 6750». Liuskat ripustettiin n. 2 m lattiasta koehuoneen pituussuunnassa olevalle kahdelle vajjerille tasaisin välein. Taulukosta 2 ilmenevät liuskojen viikottaiset lukumäärät koehuoneessa.

Kokeen päätyttyä määritettiin käyttämättömän sekä koko kokeen ajan (n. 3 kk) käytössä oleen liuskan DDVP-pitoisuus. Edellisen liuskan todettiin sisältävän 18.8 % ja jälkimmäisen 13.1 % DDVP:tä.

Koehuoneen lämpötila mitattiin katon rajaan sijoitetulla piirtävällä lämpömittarilla (Wilh. Lambrecht, tyyppi 251). Lisäksi lämpötilaa kontrolloitiin kolmella eri puolille koehuonetta sijoitetulla elohopeamittarilla. Vuorokautinen keskilämpö (kuva 2) on määritelty piirturin mittaaman käyrän kahden tunnin välein osoittamien lämpötilojen keskiarvona.

Suhteellinen kosteus mitattiin piirtävällä hiuskosteusmittarilla (Wilh. Lambrecht, tyyppi 250) huoneen ikkunanpuoleisessa päässä. Vuorokautinen suhteellisen kosteuden keskiarvo (kuva 2) on laskettu mittarin piirtämän käyrän kahden tunnin välein osoittamien lukemien keskiarvona.

DDVP-pitoisuus mitattiin eräin poikkeuksin yhden ja viiden vuorokauden kuluttua siitä, kun liuskamäärää oli muutettu (taulukko 2). Täten liuskojen määrä oli sama kahden peräkkäisen mittauskerran aikana.

DDVP absorboitiin veteen ilmasta. Absorptioastioina käytettiin kaasun hajoitussintterillä varustetuja pesupulloja, joita oli kytketty kaksi peräkkäin. Absorptionesteen määrä oli 25 ml pulloa kohden ja ilman virtaus 1 l/min. Näytteenottoaika vaihteli 60—120 minuuttiin. Ilmapumppuina käytettiin Reciprotor-mäntäpumppuja (valmistaja Reciprotor A/S, Danmark). Näyteilman tilavuus mitattiin suoraan osoittavalla kaasumittarilla.

DDVP:n määrittäminen vesiliuoksesta (HUGHES 1963, modif.) perustuu dikloorivinyylidimetyyliidifosfaatin hydrolysoitumiseen alkaalisessa vesiliuoksessa diklooriasetaldehydiksi, joka määritetään 2,4-dinitrofenyylihydratsoninaan kolorimetrisesti.

Reagenssit:

1. 1.2 N natriumhydroksidiliuos
2. 0.1 % 2,4-dinitrofenyylihydratsiniliuos (4 N HCl:ssa)
3. 4 N natriumhydroksidiliuos
4. Etanoli
5. 2,2-dikloorivinyylidimetyyliidifosfaatti (Vapona Analytical Standard, 94.4 %, Shell)

Absorptioliuoksesta otetaan 5 ml:n näyte 10 ml:n mittapulloon, joka sitten upotetaan jäihin. Kun näytteen lämpötila on 0° C, lisätään siihen 1 ml 1.2 N NaOH:a, jonka lämpötila on myös 0° C. Sekoitetaan ja pidetään 0° C:n lämpötilassa vielä täsmälleen 15 min. Lisätään 0.6 ml 0.1 % 2,4-dinitrofenyylihydratsiniliuosta, sekoitetaan, ja näyte siirretään 37° C vesihauteeseen 60 min. ajaksi. Lisätään 0.6 ml 4 N NaOH:a, sekoitetaan, ja pullo täytetään etanolilla merkkiin (10 ml).

Liuoksen aiheuttama valon absorptio mitataan aaltopituudella 575 nm käyttäen vertailuliuoksena liuosta, jossa on kaikki reagenssit mutta ei DDVP:tä.

Standardisuora valmistetaan käyttäen tunnettuja määriä dikloorivinyylidimetyyliidifosfaattia käsiteltyinä samoin kuin näytteet.

Standardeihin käytetään vesiliuoksia, joissa on 8—32 µg dikloorivinyylidimetyyliidifosfaattia/10 ml. Standardisuora on valmistettava aina uudestaan samanaikaisesti näytteiden kanssa. Dikloorivinyylidimetyyliidifosfaatin vesiliuokset säilyvät muuttumattomina noin kaksi päivää.

Vesiliuoksessa dikloorivinyylidimetyyliidifosfaatti voidaan määrittää vielä pitoisuudesta 0.4 µg/ml, ilmanäytteistä vielä pitoisuudesta 0.1 µg/l (= 0.1 mg/m³), jos näyteilman tilavuus on n. 100 l.

Hiilidioksidi-, rikkivety- ja ammoniakkipitoisuudet mitattiin kaasuilmaisinputkilla (valmistaja Drägerwerk AG, Lübeck). Mittaus perustuu tutkittavan kaasun ja putken täytteenä olevan reagenssin väliseen värinmuutosreaktioon. Pitoisuus luetaan suoraan putkessa olevalta mitta-asteikolta.

Happimittaukset tehtiin suoraan osoittavalla hapen paramagnetismiin perustuvalla laitteella »Beckman Oxygen Analyzer Model D2 S» (valmistaja Beckman Instruments Ltd., USA).

DDVP:n tai sen hajoamistuotteiden toteamiseksi suoritettiin vasikoiden verestä analyysijä ajankohtina, jolloin koehuoneessa oli vajaan viikon ajan ollut valmistajan suosittelemiin määriin verrattuna kaksi, kuusi- ja kuusitoistakertainen määrä Vapona-liuskoja. Analyysit suoritettiin kunakin kertana kahdesta koko kokeen ajan mukana olleesta vasikasta sekä kahdesta vasikasta, jotka olivat ennen verinäytteen ottoa olleet kyseisissä väkevyyksissä kuusi vuorokautta. Lisäksi analysoitiin vertailuryhmän saamiseksi neljän vasikan verinäytteet ennen kokeen alkua. Näiden joukossa olivat myös edellä mainitut kaksi koko kokeen ajan mukana ollutta vasikkaa.

Analyysimenetelmä perustuu DDVP:n rasvaliukoisuuteen ja klooripitoisuuteen. Verinäytteistä uutettu rasva puhdistettiin ohutkalvokromatografiaa käyttäen, ja puhdistettu uute analysoitiin EC-detektorilla varustetulla kaasukromatografialaitteella. Vertailuna käytettiin vastaavalla tavalla valmistettua Vapona-liuskautetta.

Eläintenhoitajien veriseerumin koliiniesteraasiaktiivisuus määritettiin kokeen alkupuolella kolmena ajankohtana, jolloin liuskoja oli koehuoneessa valmistajan suosittelema, 6- ja 16-kertainen määrä. Hoi-

tajat olivat koehuoneilmassa keskimäärin n. 2 t/vrk. Vastaava määräitys suoritettiin kuudesta vasikasta ajankohtana, jolloin liuskoja oli koehuoneessa 80 kpl eli 16 kertaa suositeltu määrä. Vasikoista oli kaksi ollut koko ajan koehuoneessa, kaksi kuusi vuorokautta mainitussa väkevyudessa ja kaksi ei ollut lainkaan ollut DDVP:n vaikutuksen alaisena. Seerumin kolliiniesteraasiaktiivisuus-määritykset tehtiin DE LA HUERGA *et al:n* (1952) menetelmän mukaan.

Tulokset

Kokeen aikana seurattiin vasikoiden painon kehitystä. Taulukosta 1 ilmenevät kunkin kolme vasikkaa käsittävän tulokerän keskimääräiset tulopainot, saapumisesta kuluneiden 19 vuorokauden keskimääräiset painot ja keskimääräinen vuorokautinen painonlisäys tänä aikana. Ensimmäisen tulopäivän vasikat muodostavat kaksi kolmen vasikan ryhmää, joista ensimmäinen käsittää ne vasikat, jotka olivat kokeessa koko koeajan (26. 10. 70—26. 1. 71) eli 92 vuorokautta.

Kokeen alkupuoliskolla (erät 23. 10.—27. 11. 70) vasikoilla oli yleensä saapumisen yhteydessä ripuli, joka kesti n. viikon ajan. Ripulikautena painot laskivat usein tulopainon alapuolelle (suurin lasku 5.0 kg). 30. 10. 70 saapuneesta erästä kuoli yksi vasikka, joten tämän erän arvot taulukossa 1 koostuvat vain kahden vasikan keskiarvoista. Kuolleen vasikan ruumiinavaus osoitti sen menehtyneen *Escherichia colin* aiheuttamaan suolistotulehdukseen. Vasikka oli myös heikosti kehittynyt. Taulukosta 3 ilmenevät koko kokeen ajan koetilassa olleiden vasikoiden sekä kolmen muun koevasikan painonkehitykset 120 vuorokauden ikään mennessä. Vertailuna ovat laitoksessa syntyneiden ja kokeen ulkopuolella olleiden yhdeksän vasikan vastaavien lukujen keskiarvot.

Hiehossa ja lampaista ei todettu kokeen kuluessa normaalista poikkeavaa. Hiehon paino lisääntyi kokeen aikana 55 kg.

Hiiristä kuoli kokeen alkupuolella neljä kappaletta. Kokeen aikana astutetut 3 naarashiirtä synnyttivät yhteensä 23 normaalia poikasta tavanomaisen tiineysajan jälkeen. Poikasista kuoli ensimmäisen elinviikon aikana yksi.

Marsut kuolivat kaikki 10—15 vrk:n kuluttua kokeen päättymisestä viikon sisällä. Kuolemansyyksi todettiin *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen*-tartunnan aiheuttama äkillinen suolistotulehdus.

Koetilan ilman kemiallisissa ja fysikaalisissa ominaisuuksissa tutkimuksen kuluessa tapahtuneet muutokset on esitetty taulukossa 2 ja kuvassa 2. Lämpötila koetilassa oli jokseenkin vakio ja keskimäärin 21.7° C. Suhteellinen kosteus vaihteli laajalti vuorokauden sisälläkin (45—95 %). Korkea suht. kosteus ilmeni mm. koevasikoiden hikoilemisena. Varsinkin kuivikkeiden vaihdon ja karsinoiden pesun yhteydessä suht. kosteus nousi.

Hiilidioksidin pitoisuus koetilassa oli koko ajan verrattain korkea. Pienin mittaustulos oli 1100 cm³/m³ ja suurin 4300 cm³/m³. Ammoniakin pitoisuus oli ajoittain suurehko (20—30 cm³/m³). Rikkivetyä ei ilmassa todettu (mittausmenetelmän erotusraja on n. 2 cm³ H₂S/m³). Ilman happipitoisuus oli normaali.

Vapona-liuskojen määrä ja niiden aikaansaama DDVP-pitoisuus kahdesti viikossa mitattuina ilmenevät taulukosta 2. Eri liuskamäärien aiheuttamat ilman DDVP-pitoisuudet ovat havainnollistettuina kuvassa 3. Korkein pitoisuus, 2.1 mg/m³, todettiin suurimman Vapona-liuskamäärän ripustamisen jälkeen tehdyn mittauksen yhteydessä.

Kokeen alkupuoliskolla, jolloin tuoreita liuskoja lisättiin, väheni ilman DDVP-pitoisuus saman liuskamäärän ensimmäisen ja toisen mittauskerran välillä. Muutos ei ollut

Taulukko 1. Koevasikoiden kasvu tulopäivää seuranneen 19 vuorokauden aikana.
 Table 1. Growth of calves in the 19 days subsequent to arrival.

Tulopäivä Day of arrival	Luku- määrä Number	Keskim. tulopaino Average weight at arrival kg	Keskim. elopaino 19 vrk kuluttua Average liveweight at 19 days kg	Keskim. kasvu g/vrk Average growth g/day	Altitusaika Time of subjection				
					5 kpl	10 kpl	20 kpl	30 kpl	50 kpl
23. 10. 70	3	34.7 (31.0—39.0)	43.8 (42.0—47.5)	482 (421—579)	10 vrk days	6 vrk days			
23. 10.	3	31.5 (27.5—35.0)	39.0 (36.0—42.5)	395 (342—447)	9 vrk days				
30. 10.	2	36.0 (36.0—36.0)	42.8 (42.5—43.0)	349 (342—355)		6 vrk days			
7. 11.	3	37.2 (30.5—43.0)	47.3 (40.3—54.0)	535 (500—579)			6 vrk days		
14. 11.	3	31.2 (27.5—34.0)	37.7 (31.5—41.0)	342 (211—447)				6 vrk days	
20. 11.	3	40.3 (33.0—49.0)	48.8 (41.5—55.0)	447 (316—579)					6 vrk days
27. 11.	3	35.0 (32.5—37.5)	42.8 (41.5—44.5)	408 (342—526)					7 vrk days
4. 12.	3	35.7 (31.5—39.0)	47.7 (42.5—51.0)	632 (579—684)					6 vrk days
11. 12.	3	37.0 (32.0—43.0)	45.2 (38.0—52.0)	430 (316—500)					6 vrk days
18. 12.	3	41.2 (38.0—44.5)	49.7 (47.0—53.0)	447 (421—474)			8 vrk days		6 vrk days
28. 12.	3	36.8 (33.0—39.0)	45.5 (38.5—48.5)	456 (289—553)	1 vrk days	4 vrk days	11 vrk days		
8. 1. 71	3	37.2 (36.5—38.5)	47.2 (45.5—49.5)	526 (474—579)	8 vrk days	4 vrk days			
15. 1.	3	39.0 (37.0—41.5)	46.0 (42.0—50.0)	368 (263—447)	5 vrk days				

1) Valmistajan suosittelema määrä koettilan ilmatilassa 5 liuskaa
 Manufacturer recommends 5 strips for air space of experiment premises

Taulukko 2. Mittaustulokset kochooneen ilmasta.
 Table 2. Measurements of experiment room atmosphere.

Päivämäärä ja viikon päivä Number of days and day of week	27. 10		30. 10		03. 11		06. 11		10. 11		13. 11		17. 11		20. 11		24. 11		27. 11		01. 12		04. 12		08. 12			
	ti	Tu	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti	pe	ti
Mitattu aine Substance measured																												
DDVP: liuskojen lukumäärä number of strips		5							10		20				30				50				80					
näytteenottoaika (min.) sampling time (min.)	120	120	120	120	120	120	120	90	90	120	120	120	120	120	90	60	60	90	60	90	60	60	60	60	60	60	60	
pitoisuus (mg/m ³) content (mg/m ³)	0.14	0.14	0.14	0.11				0.36	0.18	0.66	0.64				0.74	0.69			1.3	1.1	2.1	1.1						
CO ₂ (cm ³ /m ³)	2500—	2300—	3000—	3000—				3200—	1900—	2600—	2700—				3600	3300			3400	3300	3400	3300	3400	3500—				
NH ₃ (cm ³ /m ³)	3000	2400	2400	10				2900	1400	3000	2500				< 5	10			< 5	20	5	< 2	5	5—10				
H ₂ S (cm ³ /m ³)	15—10	10	10	< 2				10	5	5	< 5				< 5	< 2			< 5	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	< 2	
O ₂ (til.-%) (vol. %)	< 2	< 2	< 2	< 2				< 2	< 2	< 2	< 2				20.5	20.5			20.1	20.5	20.5	20.5	20.2	20.2	20.6	20.6	20.6	

Jatkuu s. 194
 Continues p. 194

Päivämäärä ja viikon päivä. Number of days and day of week	11. 12		15. 12		18. 12		22. 12		29. 12		05. 01		08. 01		12. 01		15. 01		19. 01		26. 01		
	pe	Fr	ti	Tu	pe	Fr	ti	Tu	ti	Tu	ti	Tu	pe	Fr	ti	Tu	pe	Fr	ti	Tu	ti	Tu	
Mittattu aine Substance measured																							
DDVP: liuskojen lukumäärä number of strips			50				30					20						5					0
näytteenottoaika (min.) sampling time (min.)			90		60		90					90		90		90		90				120	90
pitoisuus (mg/m ³) content (mg/m ³)			1.0		1.4		0.91		0.97		0.43		0.50		0.41		0.12					0.09	0.10
CO ₂ (cm ³ /m ³)			2000—		2300—		2600—		2900—		2000—		2200—		2300		2100					1200—	2700—
			1600		2400		2500		3100		2300		3500									2400	4300
NH ₃ (cm ³ /m ³)			< 5		15		< 5		5—10		10		25		15		25—30					5—10	15
H ₂ S (cm ³ /m ³)			< 2		< 2		< 2		< 2		< 2		< 2		< 2		< 2					< 2	< 2
O ₂ (til.-%) (vol. %)			20.7		—		20.6		20.3		20.6		20.3		20.4		20.6					20.5	20.2

Huomautuksia

Mittaukset tehty klo 10—11 välisenä aikana.

Hiihdiksiidi ja ammoniakki: kullakin kerralla tehty kaksi mittausta noin 1 tunnin aikavällein.

Mikäli pitoisuusvaihtelua on esiintynyt, tulokset on ilmoitettu vaihteluvälinä.

Mittayksiköt

cm³/m³ = kuutiometriä kaasua tai höyryä ilmakuutiometriä kohden.

mg/m³ = milligrammoja ilmakuutiometriä kohden.

til.-% = tilavuusprosentteja.

Notes

Measurements made 10—12 o'clock.

Carbon dioxide and ammonia: on each occasion two measurements made at interval of c.1 hour.

If variations in concentration have occurred, the results are given in terms of range.

Units of measurement

cm³/m³ = cubic centimetres of gas or vapour per cubic metre of air.

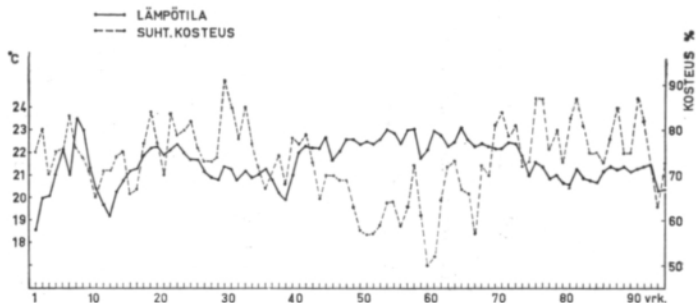
mg/m³ = milligrammes per cubic metre of air.

vol % = volume per cent.

Taulukko 3. Vasikoiden painon kehitys 120 vuorokauden ikään mennessä.
 Table 3. Development in weight of calves to age of 120 days.

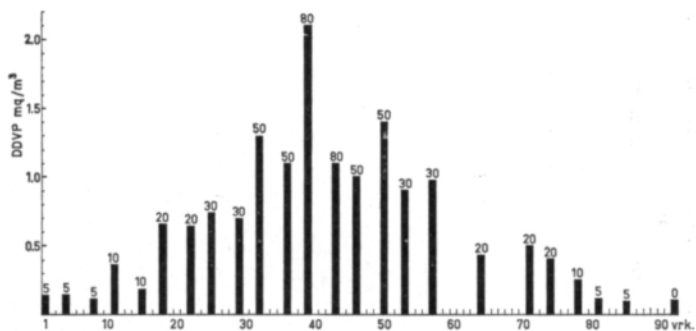
Tulopäivä Day of arrival	Luku- määrä Number	Keskim. (syntymä- tai tulopaino ¹⁾ Average weight at (birth or) arrival ¹⁾ kg	Keskim. elopaino 120 vrk ikäisenä Average live weight at age of 120 days kg	Keskim. kasvu g/vrk Average growth g/day	Huomautuksia Notes
	9	(34.8) (30.0—41.0)	132.0 (110.0—152.0)	809 (625—950)	Syntyneet laitoksella, eivät ole olleet ko- keessa mukana <i>Born at establishment, not included in experiment</i>
23. 10. 70	3	34.7 (31.0—39.0)	120.3 (110.0—132.0)	765 (705—830)	Koehuoneessa koko tutkimuksen kestoajan (92 vrk) <i>In experiment room throughout experiment (92 days)</i>
20. 11. 70	2	44.0 (39.0—49.0)	132.5 (128.5—137.0)	790 (786—795)	Koehuoneessa 6 vrk 50 Vapona-liuskan väkevydessä <i>In experiment room 6 days at concentration of 50 Vapona Strips</i>
11. 12. 70	1	43.0	124.0	723	Koehuoneessa 6 vrk 50:n ja 5 vrk 30:n Vapona-liuskan väkevydessä <i>In experiment room 6 days at concentration of 50 Vapona Strips and 5 days at 30</i>

¹⁾ Ikä saapuesssa keskim. 8 vrk.
 Average age at arrival 8 days.



Kuva 2. Koetilan lämpötila ja suhteellinen kosteus.

Fig. 2. Temperature and relative humidity of experiment premises.



Kuva 3. DDVP:n pituusvaihtelu Vapona liuskojen annostuksen muuttuessa (liuskojen lukumäärä merkitty pylvään kärkeen).

Fig. 3. Variation in DDVP content with varying dosage of Vapona strips (number of strips shown at top of column).

säännöllinen loppupuolella, jolloin liuskoja vastaavasti poistettiin. Lisättäessä liuskoja, varsinkin lisäyksessä 50:stä 80:een, todettiin suhteellisen selvä pistävä haju sekä limakalvoja ärsyttävä vaikutus, joka kuitenkin vuorokauden parin sisällä huomattavasti heikkeni. Hengitystä ärsyttävä vaikutus ilmeni myös koevasikoissa, joilla suurimman liuskamäärän (80 kpl) aikana oli hetkellistä hengenahdistusta.

Vasikoiden verinäytteistä suoritettujen kaasukromatografiset DDVP:n ja sen mahdollisten hajoamistuotteiden analyysit olivat kaikki kielteisiä. Koliiniesteraasin aktiivisuus eläinlääkäreiden ja vasikoiden seerumissa on esitetty taulukossa 4. Normaaliaktiivisuus käytetyn menetelmän mukaan on ihmisellä 130—310 μ moolia/ml seerumia/tunti.

Taulukko 4. Seerumin koliiniesteraasin aktiivisuus (μ moolia/ml seerumia/tunti).
Table 4. Serum cholinesterase activity (μ mols/ml serum/hr).

Vapona-liuskojen määrä <i>Number of Vapona Strips</i>	0	5	30	80	Huomautuksia <i>Notes</i>
Vrk kokeen alusta <i>Days after experiment started</i>	—	1	30	45	
Eläintenhoitaja 1. <i>Keeper 1.</i>	—	160	200	245	Koehuoneessa keskim. 2 t. vuorokaudessa
Eläintenhoitaja 2. <i>Keeper 2.</i>	—	125	170	215	<i>In experiment room on average 2 hours per day</i>
Vasikka 801 <i>Calf</i>	—	—	—	85	Koehuoneessa kokeen alusta lähtien <i>In experiment room since start of experiment</i>
Vasikka 802 <i>Calf</i>	—	—	—	80	
Vasikka 1901 <i>Calf</i>	—	—	—	85	Koehuoneessa 6 vrk 80 Vapona-liuskan väkevyydessä
Vasikka 1903 <i>Calf</i>	—	—	—	85	<i>In experiment room 6 days at concentration of 80 Vapona Strips</i>
Vasikka 8 <i>Calf</i>	80	—	—	—	Vertailueläimet <i>Control animals</i>
Vasikka 9 <i>Calf</i>	85	—	—	—	

— ei määritetty

— not determined

Tulosten tarkastelua

Lukuisissa kokeissa on todettu Vapona-liuskojen (Vapona Strip®) suhteellinen vaarattomuus ihmisille (ZAVON & KINDEL 1966, CAVAGNA *et al.* 1969). Veren plasmassa on kuitenkin ilmennyt koliiniesteraasiaktiivisuuden laskua vuodepotilaissa, jotka olivat 0.2 mg/m³ DDVP-kaasuväkevyydessä 24 tuntia vuorokaudessa. Spesifisen punasoluihin sidotun asetylikoliiniesteraasin laskua ei käytännössä ole lainkaan todettu. Koelosuhteissa aikaansaaduissa sangen korkeissa DDVP-pitoisuuksissa (8.7—2.4 mg/m³) on tosin ilmennyt koehenkilöiden punasolujenkin koliiniesteraasin aktiivisuuden vähenemistä, mutta jo viikon kuluttua arvot palautuivat normaaleiksi. Vastasyntyneet eivät ole aikuisia herkempiä DDVP:n vaikutuksille.

Normaaliolosuhteissa suosituksen mukaisia Vapona-määriä (1 liuska/28 m³) käytettäessä DDVP-määrä harvoin ylittää 0.05 mg/m³:n rajan. Joskus se voi kuitenkin nousta aina 0.2 mg/m³ määrään (CAVAGNA *et al.* 1969). Höyrystymiseen vaikuttavat ilman fyysikaaliset ominaisuudet, kuten lämpötila, kosteus ja ilmanpaine. Työpaikan ilmassa jatku-

vassa päivittäisessä työssä (8 t/vrk) suositellaan sallittavaksi enintään 1 mg DDVP:tä/m³ (Threshold Limit Values 1970).

DDVP-kokeiden ja Vapona-liuskojen käytön yhteydessä saatujen kokemusten perusteella on todettu, että valmisteen turvallisuusmarginaali on suuri ja että se suositusten mukaisesti käytettynä on vaaraton useille koti-, lemmikki- ja koe-eläimille. (TRACY *et al.* 1960). Eräille trooppisille akvaariokaloille ja häkkilinnuille liuskat voivat olla vaarallisia, jos ne on ripustettu eläinten välittömään läheisyyteen (LÜTHGEN & LUCAS 1971).

Useista koe-eläimillä suoritetuista kokeista mainittakoon koe (MELLO 1967), jossa rottia pidettiin 63 vuorokautta ilmatilassa, jossa Vapona-liuskojen määrä suositeltuun määrään verrattuna oli 280-kertainen. Kliinisiä myrkytysoireita ei kokeen aikana tai sen jälkeen rotissa todettu. Ruumiinavauksissa ei myöskään ilmennyt DDVP:n vaikutuksesta johtuvia muutoksia.

Nyt suoritettun tutkimuksen puitteissa käytettiin koehuoneessa vaihtuvia liuskamääriä (5, 10, 20, 30, 50 ja 80 liuskaa/140 m³). Liuskojen määrät olivat suositeltuun määrään verrattuna 1-, 2-, 4-, 6-, 10- ja 16-kertaiset. Vaikka koehuoneen ilmanvaihto oli pyritty järjestämään mahdollisimman epäedulliseksi, ei DDVP:n pitoisuus noussut 80 liuskan aikana korkeammaksi kuin 2.1 mg/m³. Ilmanvaihdon heikkoutta kokeessa osoittavat mm. korkea CO₂-pitoisuus, suhteellisen kosteuden korkeat arvot sekä vasikoiden jatkuva hikoileminen kokeen aikana.

Taulukossa 2 esitetyt saman liuskamäärän eri DDVP-pitoisuudet kokeen alkupuolella osoittavat, että tehoaineen höyrystyminen ilmeisesti on suurin heti liuskapakkauksen avaamisen jälkeen, koska mittaustulokset poikkeuksetta ovat suuremmat ensimmäisen mittauskerran yhteydessä. DDVP:n höyrystyminen lienee kuitenkin sangen hidasta, koska kolme kuukautta riippuneessa liuskassa todettiin vielä n. 70 % alkuperäisestä tehoaineesta. Taulukosta 2 ja kuvasta 3 ilmenevät ilman DDVP-määrät osoittavat myös, että samat liuskamäärät liuskojen lisäämisen ja poiston yhteydessä johtavat likimain yhtäpitäviin ilman DDVP-pitoisuuksiin. Tämä osoittaa liuskojen pitkäikäisyyden niiden insektisidisen tehon suhteen samoin kuin sen, että DDVP:n höyrystyminen vakio-olosuhteissa on tasaista.

Kokeen alkupuolella suoritettujen eläinlääkintöjen koliiniesteraasin aktiivisuuden määrittelytulokset pysyivät normaalirajoissa. Tämä osoittaa, etteivät DDVP-pitoisuudet ilmassa aiheuttaneet seerumin koliiniesteraasin aktiivisuudessa häiriöitä. Tiedetään, että tämä aktiivisuus punasolujen spesifiseen asetyylikoliiniesteraasin aktiivisuuteen verrattuna mm. ihmisellä yleensä laskee aikaisemmassa vaiheessa orgaanisten fosforihappestereiden vaikutuksesta. Suurimman ilman DDVP-pitoisuuden aikana suoritettu vasikoiden vastaavan seerumin koliiniesteraasin aktiivisuusmäärittely osoitti sen alhaiseksi ja kontrollivasikoihin verrattuna muuttumattomaksi. Useiden tutkimusten (esim. RADELEFF & WOODWARD 1956, DYBING & HJELLE 1957) mukaan onkin nautaeläimillä plasma- tai seerumi- eli ns. pseudokoliiniesteraasin aktiivisuus sangen alhainen ja merkityksetön.

Kokeen aikana ei vasikoiden veressä kaasukromatograafisesti voitu osoittaa DDVP:tä tai sen hajoamistuotteita. Mahdollinen vereen imeytynyt DDVP on kuitenkin voinut hajota niin nopeasti, ettei sitä voitu osoittaa. Tunnettua onkin, että DDVP hajoaa nopeasti maksassa (TRACY 1960, TRACY *et al.* 1960). Metaboliittien LD₅₀-arvot ovat DDVP:n LD₅₀-arvoja huomattavasti suuremmat (CASIDA *et al.* 1962) eikä niillä ole koliiniesteraasin aktiivisuutta alentavaa tehoa. Kliinisiä oireita, jotka voisivat johtua DDVP-myrkytyksestä, ei todettu kokeen tai sitä seuranneen kontrollijakson aikana koe-eläimissä. Lukuun-

ottamatta suhteellisen yleistä tulon yhteydessä esiintynyttä ripulia oli yleiskunto vasikoilla hyvä ja kehitys normaalia. Kuitenkin painon lisäys kontrolleihin verrattuna oli pienempi. Tämä johtunee osittain huonoista ympäristöolosuhteista ja osittain vasikoiden heikosta ja vaihtelevasta tulokunnosta. Viimeksi mainittu seikka aiheutti mm. sen, että usein kesti useita vuorokausia ennen kuin vasikoiden paino alkoi nousta. Vastaavia häiriötekijöitä ei omassa navetassa syntyneillä kontrollivasikoilla ole ollut.

Koetilassa olleet marsut kuolivat kokeen jälkeen *Salmonella typhimurium*-suolistotulehdukseen. Koska *Salmonella typhimurium* on patogeeni bakteeri mm. marsuille, koska kokeen loppumisesta oli kulunut jo yli 10 vuorokautta ja koska tiedetään, että DDVP on akuutisti vaikuttava ja nopeasti metabolisoituva myrkkä (TRACY 1960, TRACY *et al.* 1960), voidaan ko. bakteeritartunta katsoa kuoleman syyksi.

Yhteenvetona voidaan todeta, ettei suositusta 16 kertaakaan suurempi Vapona-liuskamäärä aiheuttanut myrkytyksiä kokeessa, jossa mm. pyrittiin aikaansaamaan mahdollisimman epäedullinen ilmanvaihto. Näin ollen näyttää ilmeiseltä, ettei Vapona Strip®-valmiste suosituksen mukaan käytettynä voi aiheuttaa haittavaikutuksia normaaleissa kasvuolosuhteissa vasikoille ja että valmisteen turvallisuusmarginaali on riittävä.

KIRJALLISUUS

- CASIDA, J. E., MCBRIDE, L. & NIEDERMEIER, R. P. 1962. Metabolism of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate in relation to residues in milk and mammalian tissues. *J. Agric. Fd Chem.* 10: 370—377
- CAVAGNA, G., LOCATI, G. & VIGLIANI, E. C. 1969. Clinical effects of exposure to DDVP (Vapona) insecticide in hospital wards. *Archs Environ. Hlth* 19: 112—123.
- DYBING, O. & HJELLE, A. 1957. Kolinesteraseaktiviteten i blod hos storfe. *Nord. VetMed.* 9: 41—48.
- DE LA HUERGA, J., CHARLOTTE YESINICK & POPPER, H. 1952. Colorimetric method for the determination of serum cholinesterase. *Am. J. Clin. Path.* 22: 1126—1133.
- HUGHES, J. T. 1963. Colorimetric determination of low concentrations of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate in the atmosphere. *Analyst* 88: 318—319.
- Kasvinsuojeluinluettelo 1969. *Kasvinsuoj. Seur. Julk.* 39: 1—101.
- KNAPP, F. W. & GRADEN, A. P. 1964. Accidental exposure of dairy cows to excessive amount of dichlorvos. *J. Econ. Ent.* 57: 790—791.
- LÜTHGEN, W. & LUCAS, H. 1971. Vergiftungen von Ziervögeln durch DDVP (Dichlorvos) bei der Ektoparasiten- und Schädlingsbekämpfung. *Verhandlungsbericht des XIII Internationalen Symposiums über die Erkrankungen der Zootiere*, p. 191—194. Helsinki.
- MELLO, D. 1967. Verificaco de toxicidade, para ratos brancos, do dichlorvos (DDVP) sob a forma de vaporizantes. *Biologico (Sao Paulo)* 33: 204—206.
- RADELEFF, R. D. & WOODARD, G. T. 1956. Cholinesterase activity of normal blood of cattle and sheep. *Vet. Med.* 51: 512—514.
- ROSENBERGER, G. 1970. *Krankheiten des Rindes*. Berlin und Hamburg.
- Threshold limit values of airborne contaminants for 1970, 1970. *American conference of governmental industrial hygienists*, 1—27.
- TRACY, R. L. 1960. Insecticidal and toxicological properties of DDVP. *Soap Chem. Spec.* 36: 74—76, 105.
- »— WOODCOCK, J. G. & CHODROFF, S. 1960. Toxicological aspects of 2,2-dichlorovinyl dimethyl phosphate (DDVP) in cows, horses and white rats. *J. Con. Ent.* 53: 593—601.
- ZAVON, M. R. & KINDEL, E. A. jr. 1966. Potential hazard in using dichlorvos insecticide resin. *Adv. Chem. Ser.* 60: 177—186.

SUMMARY

THE TOXICITY OF DDVP (DICHLORVOS) EVAPORATED FROM VAPONA STRIP®

KURT HENRIKSSON

State Veterinary Medical Institute, Helsinki

KAARLO KALLELA

College of Veterinary Medicine, Helsinki

MATTI VIRTAMO and PIRKKO PFÄFFLI

Institute of Occupational Health, Helsinki

The experiment comprised 39 calves, three of which were exposed to DDVP evaporation during the whole period, i.e. about three months. The number of the strips was varied, the recommended number in the experiment room (about 140 m³) being multiplied during the first half of the study by 1, 2, 4, 6, 10, and 16. The additions took place once a week. During the second half of the study the number of strips was correspondingly reduced.

In addition to the three calves which were kept in the experiment room during the whole study, another group of three calves was subjected to every alteration in the number of strips. Each of these groups was kept in the room for one week during the first half of the study and for two weeks during the second half.

Besides the calves, the study involved 1 heifer, 6 guinea pigs, and 20 mice. Three mice were mated and bore normal litters during the experiment. The study also involved 7 sheep, which were removed from the experiment room to an environment free of Vapona when the number of strips was highest (80).

The ventilation in the experiment room was kept at a minimum. The temperature and relative humidity were observed during the study. The temperature was rather constant, approx. 21.7° C. The relative humidity varied (45—95 %) and was often high. The concentrations of DDVP, CO₂, H₂S, NH₃, and O₂ in the air were measured twice a week, i.e. twice in connection with each number of strips. During the recommended number of strips the concentration of DDVP in the air was 0.09—0.14 mg/m³. The highest concentration, 2.1 mg/m³, was measured when the number of strips was 16 times the recommended number. The CO₂ content of the air was 2—8-fold (1100—4300 cm³/m³) compared with normal, pure air. The NH₃ content was at times rather high (20—30 cm³/m³), whereas the O₂ content was normal. The H₂S was never ascertained. During the study period the DDVP content of the strips used for three months was reduced by 30 per cent.

The DDVP content of the blood of the calves was measured by means of gas chromatography, with negative results, at 2, 6, and 16 times the recommended number of strips.

The serum cholinesterase activity (SCA) of the keepers of the animals was observed during the first half of the study and was found to keep within normal values. The SCA of the calves was measured at the highest number of strips, the values did not differ from those of the control calves.

No symptoms of DDVP intoxication could be observed during or after the experiment in the calves or the other animals. When the number of strips was highest (16 times the recommended number) there was a temporary pungent smell in the air which had a slightly irritating effect on the mucuous membranes of the keepers and caused momentary symptoms of dyspnea in some of the calves. The gain in weight of the calves was also recorded and did not differ from normal.

When the number of strips was twice the recommended number, one of the calves died of *Escherichia coli*-gastroenteritis. Also four mice died during the study period; this can be regarded as a normal reduction. About two weeks after the experiment had ended, all the guinea pigs died of a *Salmonella typhimurium* infection.

In conclusion it can be stated that even when the number of Vapona Strips® was sixteen times the recommended number, the concentration of DDVP in the air did not prove dangerous for the calves or the other animals involved in the study, although the ventilation was kept as low as possible. Thus it is obvious that Vapona Strip® used in accordance with the recommendations does not have a detrimental effect on calves.