

## TOKSIČNA METHEMOGLOBINEMIJA U PROIZVODNJI ANILINSKIH BOJA

M. ŠARIĆ i DANICA PRPIĆ-MAJIĆ

*Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb*

*(Priljeno 15. IV. 1960).*

Prikazana je toksična methemoglobinemija u proizvodnji anilinskih boja u jednom poduzeću kemijske industrije u Zagrebu. Analiza tehnološkog procesa pokazala je, da je za konverziju hemoglobina u methemoglobin odgovorna vjerojatno boja: naphthol-blau schwarz 10B s obzirom da ta boja sadrži anilin i p-nitroanilin, t. j. supstancije s izraženim methemoglobinskim efektom.

Prodiskutirani su ostali simptomi otrovanja i laboratorijski nalazi i uspoređeni su s literaturnim podacima o intoksikaciji amino i nitro derivatima benzena.

Methemoglobinemija je zajednički simptom trovanja mnogim nitro i amino derivatima benzena. O kemijskoj strukturi i svojstvima methemoglobina kod nas je već pisano (1). Minimalne količine methemoglobina prisutne su i normalno u krvi (2). Najmanja količina methemoglobina, koja dovodi do znakova cijanoze, iznosi 5 g/100 ml krvi (3). Ali sve dotle, dok je koncentracija methemoglobina oko 20–30%, nisu obično prisutne nikakve subjektivne tegobe (2, 4), iako je boja kože izrazito promijenjena. Cijanozu uzrokovanu methemoglobinemijom karakterizira posebna plavkasto-siva boja, koja varira u intenzitetu sve do zagasito-modre (3, 5, 6). Cijanoza je naročito vidljiva na licu, rukama, vršku nosa i noktima prstiju. Kad procenat methemoglobina dosegne vrijednosti od preko 25% pa do 50% ili više, javljaju se simptomi, koji variraju između osjećaja slabosti, mučnine, glavobolje i umora. Letalna točka saturacije methemoglobinom je oko 85% (2). Prema nekim autorima smrt može nastati već kod razine methemoglobinemije od 66% (5).

Formiranje methemoglobina nije vjerojatno uvjetovano direktnim djelovanjem aromatskih amino i nitro spojeva već posredstvom njihovih intermedijarnih produkata nastalih akcijom jetre. Pokazalo se, naime, da ti spojevi ne oksidiraju lako hemoglobin *in vitro* (2). Od intermedijarnih produkata, koji bi trebali biti odgovorni za konverziju he-

moglobina u methemoglobin, spominju se p-aminofenol (7) i fenilhidroksilamin (8). Kasnija su istraživanja pokazala, da je methemoglobinski efekt p-aminofenola dosta slab (9), odnosno kratkotrajan (10). Vidjelo se, da methemoglobinemija uzrokovana p-aminofenolom nestaje mnogo brže od one uzrokovane anilinom (10). Prema *Bodanskom* (2) ne može se još uvijek stvoriti definitivni sud u pogledu prave prirode intermedijarnog produkta amino i nitro derivata benzena, koji vrši oksidaciju hemoglobina u methemoglobin.

God. 1938. *Hamblin* i *Mangelsdorf* (11) publicirali su prikladnu metodu za određivanje methemoglobina. Radi se o spektrofotometrijskoj metodi, kojom se mogu dokazati varijacije u postotku methemoglobina od 1–100%. Ti su autori izvršili velik broj mjerenja methemoglobina kod osoba eksponiranih nitrobenzenu, dinitrobenzenu, anilinu, dimetil-anilinu i p-nitroanilinu. U svim slučajevima klinička slika otrovanja odgovarala je koncentraciji methemoglobina u krvi. Prije toga bilo je razlika u mišljenju, što se tiče odnosa između procenta methemoglobinemije i cijanoze, odnosno težine otrovanja. Tako je 1930. god. *Smith* (12) smatrao da se apsorpcione pruge karakteristične za methemoglobin javljaju tek onda kad je 40% hemoglobina transformirano u methemoglobin. Sigurno je, da je takvo gledište bilo uvjetovano tadašnjim poteškoćama u identifikaciji i kvantitativnom određivanju methemoglobina u krvi (3).

Methemoglobinemija je utvrđena kod otrovanja velikim brojem spojeva. *Hunter* (3) ih navodi 28. Kod nas su opisane toksičke methemoglobinemije u vezi s otrovanjem anorganskim nitritima (1), etilnim nitritom (13), m-dinitrobenzenom (14) i trotilom (15).

Toksička methemoglobinemija, o kojoj želimo izvijestiti, nastala je u produkciji anilinskih boja, dakle na radnom mjestu kod nas još neopisanom.

#### Prikaz bolesnika:

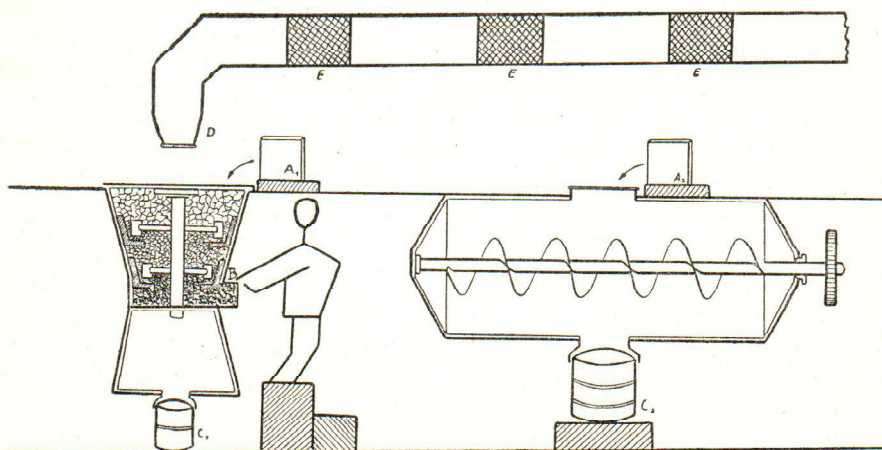
1. Bolesnik T. S. star 36 godina, radnik, zaposlen je u produkciji anilinskih boja u jednom poduzeću kemijske industrije u Zagrebu. Primljen je na liječenje u Odjelu za profesionalne bolesti 8. I. 1960. god. oko 13 sati. Bolesnik je upućen u bolnicu pod sumnjom na profesionalno otrovanje.

Već 6. I. t. j. dva dana prije, okolica je za vrijeme rada primijetila da dotični radnik ima plavo lice, usnice i uške. On sam nije osjećao nikakve tegobe, pa je nastavio radom toga i idućeg dana. 8. I. simptomi cijanoze bili su još jače izraženi, ali i dalje bez subjektivnih smetnja. Zbog znakova cijanoze, odnosno zbog sumnje na intoksikaciju, liječnik zdravstvene stanice poduzeća upućuje ga u bolnicu.

Kod primitka na liječenje bolesnik se ne osjeća loše. Objektivno su koža lica, uške, nokti i prsti ruku izrazito sivo-plavkasti. Znakovi cijanoze – uz podatak da je radnik zaposlen u proizvodnji anilinskih boja – naveli su odmah na pomisao da se radi o otrovanju anilinom ili nekim



nitro-derivatom, odnosno amino-derivatom benzena. Uzeta je odmah krv na analizu. Procenat methemoglobina iznosio je 23%. U pojedinim eritrocitima nađena su Heinzova tjelešca (41%). Broj eritrocita je 4,460.000, hemoglobin 80 (Sahlijevih jedinica). Ostali nalazi (broj leukocita i leukogram, broj trombocita, broj retikulocita, mokraća i krvni tlak) u normalnim granicama. Bilirubin u krvi određivan slijedećeg dana pokazuje lako povećanje (1,76 mg<sup>0</sup>/o) uz normalne funkcionalne jetrene probe.



Sl. 1.

Za vrijeme liječenja na odjelu aplicira se metilensko modrilo, iako bolesnik nema smetnja. Već slijedećeg dana boravka u bolnici cijanoza je manje izražena. 12. I. bolesnik se otpušta kući uz dobro subjektivno osjećanje i bez znakova cijanoze. Poslije otpusta iz bolnice bolesnika se ambulantno kontrolira. Na kontrolnom pregledu 19. I. bolesnik osjeća laki umor. Pregled krvi pokazuje znatan pad eritrocita (3,630.000) uz hemoglobin 72 i indeks boje 1. Retikulociti su umnoženi (29%). Heinzovih tjelešaca više nema u eritrocitima. Prilikom tri slijedeća kontrolna pregleda (26. I., 2. II. i 8. II.) eritrociti su još uvijek sniženi čak s tendencijom daljeg pada (do 3,420.000), hemoglobin je od 73-75 Sahlijevih jedinica, a retikulociti su umnoženi (do 32%), Heinzovih tjelešaca nema, a bilirubin u krvi je u normalnim granicama.

Na kontrolnom pregledu 1. III. t. j. oko 2 mjeseca od pojave prvih znakova otrovanja, a 40 dana od kako je registrirana anemija, eritrociti su 4,100.000, hemoglobin je 85, a retikulociti su 9%.

2. Bolesnik N. M. star 32 godine, radnik, zaposlen također u produkciji anilinskih boja u istom poduzeću. Primljen je na liječenje u Odjelu za profesionalne bolesti dana 26. I. 1960. Radilo se ponovo o sumnji na

profesionalno otrovanje. Taj je radnik 18. i 19. I. radio u noćnoj smjeni. Okolica je i sada prva primijetila, da su mu u toku rada usnice i uške poplavile. Idućeg dana plavila više nije bilo. Radnik nastavlja radom sve do 22. I., kad je zbog subjektivnih smetnja (glavobolja) pregledan u zdravstvenoj stanici poduzeća. Prilikom pregleda utvrđeno je, da ima svega 3,400.000 eritrocita (hemoglobin 70). Od 22. I. pa do 26. I., kad je primljen na bolničko liječenje, radnik N. M. nije na svom radnom mjestu, već na bolovanju.

Kod primitka u bolnicu koža i vidljive sluznice su blijede; palpira se jetra za jedan poprečni prst, mekanog ruba. Ostalo u fizikalnom statusu u granicama normale. Radna anamneza, odnosno uvjeti i način rada odgovaraju sasvim prvom slučaju otrovanja. Laboratorijski nalazi pokazuju anemiju od 3,310.000 eritrocita (hemoglobin 71). Retikulociti su umnoženi (30%), dok Heinzovih tjelešaca nema. Methemoglobin u krvi nije prisutan. Ostalo (leukociti, leukogram, trombociti, urin, jetrene probe) u normalnim granicama.

I. II. bolesnik se otpušta u kućnu njegu. Subjektivno se dobro osjeća, ali je anemija još uvijek izražena – broj eritrocita je bez promjene. Na kontrolnom pregledu 15. II., dakle nešto manje od 1 mjesec od pojave simptoma cijanoze i 23 dana od kako je registrirana anemija broj eritrocita pokazuje tendenciju porasta (4,070.000), hemoglobin je 80, retikulociti su 7%. 19. III. t. j. nakon daljih 34 dana eritrociti su već 4,710.000, a hemoglobin iznosi 93 Sahljevih jedinica.

U vezi s prikazanim slučajevima otrovanja izvršen je sistematski pregled još trinaestorice radnika, koji su radili u proizvodnji anilinskih boja na opisanim ili sličnim radnim mjestima. Pregled je uključivao brojenje eritrocita, određivanje hemoglobina, brojenje retikulocita i određivanje Heinzovih tjelešaca. Ni kod jednog od pregledanih radnika nije bilo kliničkih ni laboratorijskih znakova otrovanja.

#### RADNO MJESTO

Radni proces na kojem su radila oba oboljela radnika sastoji se od mljevenja i miješanja boja. Nakon završene sinteze, koja se vrši na drugom mjestu, osušeni i donekle zdrobljeni produkti moraju se u mlinu fino pulverizirati, a po potrebi dvije ili više komponenata treba zajedno promiješati u bubnju za miješanje, da bi se dobila boja novih svojstava. Početne komponente su razne boje, koje ubrajamo u grupu anilinskih boja. Slika 1 prikazuje skicu dezintegratora (mlina) i bubnja za miješanje boja.

U vrijeme intoksikacije ili točnije od 4. I. 1960. god. radilo se na mljevenju i miješanju boja: orange II i naphthol-blau schwarz 10B. Odnos komponenata je cca 1:2, a stvoreni produkt je Arbamid crna ATT-boja.



Šarže boja se ručno ubacuju u mlin, budući da uređaji za automatsko ubacivanje ( $A_1$ ) nisu dobro funkcionirali. Radnik je zauzimao položaj u neposrednoj blizini mlina i na bočnom otvoru (B) ručno je izdvajao veće komade pomoću drvenog štapića. Pulverizirane boje skupljaju se u bačvu ( $C_1$ ) ispod mlina, a zaštitni okvir nije dobro konstruiran. Budući da se u istom mlinu izmjenično vrši mljevenje i drugih komponentata, mlin se – nakon završene šarže – ispere vodom, a onda suši toplim zrakom iz cijevi (D). Ali, vrlo često, radnik sam ulazi u mlin i ručno čisti zaostalu boju pri čemu je izložen velikim količinama prašine.

Prilikom miješanja u bubnju za miješanje šarže se isto tako ubacuju ručno, makar postoji uređaj za ubacivanje ( $A_2$ ). Bujanj se okreće brzinom od 75 okretaja u minuti, a osovina s vijcima potpomaže miješanje. Nakon završenog miješanja boja se sprema u bačvu ( $C_2$ ), čiji zaštitni okvir također nije dobro konstruiran. Budući da u bubnju zaostane oko 30–40 kg boje istaložene na stijenkama bubnja i perajima vijka, radnik ulazi u bubanj i ručno struže i čisti zaostalu boju. Pritom nije opskrbljen nikakvim zaštitnim sredstvima osim gaze s papirnatom vatom preko usta. Na bubnju nema uređaja za lokalnu ventilaciju, dok je opća ventilacija osigurana preko otvora (E).

### DISKUSIJA

Podaci o radnom mjestu, vrsti rada i radnim uvjetima nesumnjivo govore za profesionalnu etiologiju methemoglobinemije kod radnika T. S. Vjerojatno je, da je do unošenja pulveriziranih boja u organizam došlo najviše inhalacijom i to naročito u vrijeme čišćenja unutrašnjeg dijela mlina i bubnja od ostataka boja. Što se tiče uloge pojedinih komponentata u pojavi methemoglobinemije moglo bi se kazati ovo: Za orange II je poznato, da može uzrokovati dermatitis (16). Međutim, toj se boji ne pripisuje sposobnost konverzije hemoglobina u methemoglobin. Prema tome bi nastanak methemoglobinemije bio u vezi s ekspozicijom drugoj komponenti s kojom se u kritično vrijeme radilo, a to je naphthol-blau schwarz 10 B. U literaturi nismo mogli naći podataka o toksikološkim svojstvima te boje. Sax (16) navodi, da su gotove anilinske boje najvećim dijelom neškodljive. Ali, imajući u vidu činjenicu, da se ova boja dobiva sintezom p-nitroanilina, anilina i H-kiseline (1-amino-8 naphthol-3,6 disulfonska kiselina), odnosno da sadrži aromatske amino i nitro grupe, moguće je pretpostaviti da ima svojstvo stvaranja methemoglobinemije. Cijanoza bolesnika potpuno je odgovarala methemoglobinskoj cijanozi, koja je ranije opisana. Pomanjkanje subjektivnih smetnji uz methemoglobinemiju od 23% podudara se s navedenim iskustvima (2), da su kod tih vrijednosti methemoglobincemije odsutni svi drugi simptomi osim objektivnih znakova cijanoze.

Pojava Heinzovih tjelešaca u eritrocitima potvrđuje dijagnozu profesionalnog otrovanja. Naphthol-blau schwarz 10 B se izričito ne spomi-



nje među supstancijama, kojima je do sada uspjelo eksperimentalno izazvati pojavu Heinzovih tjelešaca (17). Ova se boja isto tako ne navodi u dosad opisanoj kliničkoj kazuistici otrovanja, kod kojih su opažena Heinzova tjelešca (17). S druge strane, od sastavnih dijelova boje, anilin spada u supstancije pod čijim je djelovanjem i u eksperimentu i klinički zabilježeno prisustvo Heinzovih tjelešaca, dok je nitroanilinom uspjelo eksperimentalno izazvati pojavu Heinzovih tjelešaca (17).

Nastanak anemije (hemolitički efekt) pripisuje se djelovanju anilina i nitroanilina (3, 5), dakle i jednoj i drugoj »aktivnoj« supstanciji spomenute anilinske boje. Iako je teško prosuditi, u kojoj je mjeri aktivnost anilina i p-nitroanilina sačuvana ili izmijenjena u jednom novom kompleksu nastalom njihovom sintezom, mišljenja smo, da se anemija – prema momentu pojave i trajanju – može bez sumnje dovesti u vezu s trovanjem. Tome u prilog govori i slučaj drugog radnika, kod kojeg je prolazna anemija bila vodeći simptom intoksikacije.

Lako povećanje bilirubina u krvi zabilježeno je kod bolesnika T. S. onda, dok još nisu bili registrirani znakovi anemije (hemolize). Ali, radi se o neznatno povišenim vrijednostima i to svega u jednom navratu, a bez drugih znakova oštećenja jetre. Zanimljivo je, da je kod drugog radnika jetra bila prolazno povećana u toku posmatranja, ali su funkcionalne jetrene probe bile samo na gornjoj granici normale. (Timol 7/+1), a bilirubin u krvi 0,90 mg<sup>0</sup>/<sub>100</sub>.

U drugog bolesnika (N. M.) methemoglobinemija nije dokazana. To je razumljivo, s obzirom da je kod tog radnika krv na methemoglobin analizirana tek kad je primljen u bolnicu, odnosno nakon nekoliko dana bolovanja kod kuće. Methemoglobinemija se, dakle, nije tada mogla ni očekivati, budući da se methemoglobin brzo pretvara ponovo u oksihemoglobin (3, 5).

Simptomi cijanoze za vrijeme rada, kao i nizak broj eritrocita četvrti dan nakon zapaženih znakova cijanoze, koji se u roku od nepuna dva mjeseca penju na sasvim normalne vrijednosti, uz podatke o radnom mjestu identične kao kod prvog radnika, dopuštaju pretpostavku da se i kod radnika N. M. radilo o trovanju istim toksičkim agensom. Kod radnika N. M. nisu dokazana ni Heinzova tjelešca u eritrocitima. Analiza je izvršena tek sedmi dan nakon pojave cijanoze. Poznato je, da se Heinzova tjelešca javljaju rano – već nekoliko sati poslije trovanja – i da ih ima najviše 3–4 dana nakon toga (18). Možda se i u ovom slučaju zakasnilo s pretragom ili se te tvorbe nisu ni pojavile. Iskustva govore o značajnim individualnim razlikama s obzirom na pojavu Heinzovih tjelešaca (17).

Što se tiče odsustva bilo kakvih simptoma otrovanja kod ostalih radnika iz istog odjeljenja tvornice, vjerojatno je to najviše u vezi s razlikama u ekspoziciji. Svi radnici ne rade isti posao na isti način. Pojedinci su uvijek manje oprezni i podcjenjuju opasnost. Anamnestički je, međutim, naknadno te razlike teško evaluirati.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu izloženih podataka može se zaključiti ovo: Pri radu u proizvodnji anilinskih boja, odnosno točnije kod mljevenja i miješanja boja: orange II i naphthol-blau schwarz 10 B, u jednog radnika zaposlenog na mlinu i bubnju za miješanje razvila se methemoglobinemija. Komponenta, koja je dovela do konverzije hemoglobina u methemoglobin, je vrlo vjerojatno naphthol-blau schwarz 10 B s obzirom da ta boja sadrži anilin i paranitroanilin, t. j. supstancije s izraženim methemoglobinskim efektom. Ostali nalazi (pojava Heinzovih tjelešaca u eritrocitima i anemija) zabilježeni kod ovog radnika ulaze u sliku otrovanja jednim nitro ili amino derivatom benzena. Na istom radnom mjestu i pod istim uvjetima rada, registriran je poslije kratkog vremena novi slučaj otrovanja, ali ovog puta iz razloga, koji su opisani (duži interval van ekspozicije do primitka na liječenje), methemoglobinemija nije laboratorijski dokazana. Međutim, zapažena cijanoza uz izraženu tranzitornu anemiju, koja je bila prisutna i kod prvog radnika, govore da se i u ovom slučaju radilo o trovanju istom toksičkom supstancijom.

## LITERATURA

1. Beritić, T., Ualić, F.: Arh. hig. rada, 6 (1955), 303.
2. Bodanski, O.: Pharmacol. Rev., 3 (1951), 144.
3. Hunter, D.: The Diseases of Occupation, English Universities Press, London, 1955.
4. Mahl, G. K.: Industr. Med. Surg. 28 (1959), 38.
5. Derobert, L.: Intoxications et maladies professionnelles, Éditions médicales Flammarion, Paris, 1954.
6. Beritić, T.: Lij. vjes. 72 (1950), 162.
7. Heubner, W.: Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. 72 (1913), 239, cit. 2.
8. Lipschitz, W.: Ztsch. f. physiol. Chem., 109 (1920), 189, cit. 2.
9. Greenberg, L. A., Lester, D.: J. Pharmacol. & Exper. Therap. 88 (1946), 97.
10. Clark, B., Morrissey, R.: Blood, 6 (1951), 532.
11. Hamblin, D. O., Mangelsdorf, A. F.: J. industr. Hyg. 20 (1938), 523.
12. Smith, P.: Occupation and Health, I. L. O., Geneva, I (1930), 252 cit. 3.
13. Beritić, T.: Arh. hig. rada, 8 (1957), 333.
14. Beritić, T.: Brit. J. industr. Med. 13 (1956), 114.
15. Branislavljević, M.: Arh. hig. rada, 4 (1953), 213.
16. Sax, N. J.: Handbook of Dangerous Materials, New York, 1951.
17. Beritić, T.: Arh. hig. rada, 8 (1957), 97.
18. Hughes, J. P., Treon, J. F.: A. M. A. Arch. Ind. Hyg. Occup. Med. 10 (1954), 102.



*Summary*TOXIC METHEMOGLOBINEMIA IN THE MANUFACTURE  
OF ANILINE DYES

Two cases of toxic methemoglobinemia in a chemical plant in Zagreb are reported. The analysis of the technological process has shown that the conversion from hemoglobin into methemoglobin was likely to be due to naphthol-blau schwarz 10B, a dye containing aniline and p-nitroaniline, i. e. the substances with a pronounced methemoglobin-forming effect.

The symptoms of poisoning and laboratory findings are discussed and compared with literature data on intoxication due to amino and nitro benzene derivatives.

*Institute for Medical Research  
(incorporating the Institute of Industrial Hygiene)  
Zagreb*

*Received for publication  
April 15, 1960*