

**GRUNNLAGSDOKUMENT FOR FASTSETTING
AV ADMINISTRATIV NORM FOR
LYSTGASS**

**Direktoratet for arbeidstilsynet
2000**

INNHALDSFORTEGNELSE

| | |
|---|-----------|
| 1. STOFFETS IDENTITET: LYSTGASS | 3 |
| 2. GRENSEVERDIER | 3 |
| 3. FYSIKALSKE OG KJEMISKE DATA | 3 |
| 4. TOKSIKOLOGISKE DATA OG HELSEEFFEKTER | 4 |
| 4.1 NÅVÆRENDE KLASSIFISERING..... | 4 |
| 4.2 OPPTAK, BIOTRANSFORMASJON, FORDELING OG EKSKRESJON..... | 4 |
| 4.3 MEKANISME..... | 4 |
| 4.4 EFFEKTER VED EKSPONERING FOR LYSTGASS | 5 |
| 4.4.1 Reproduksjonstoksiske effekter..... | 5 |
| 4.4.2 Nevrotoksisk effekt..... | 8 |
| 4.4.3 Effekter på lever | 10 |
| 4.4.4 Effekter på nyrer..... | 11 |
| 4.4.5 Effekter på immunsystemet og på blod og bloddannende organer..... | 11 |
| 4.4.6 Gentoksiske effekter..... | 11 |
| 4.4.7 Karsinogen effekt..... | 13 |
| 4.5 KONKLUSJON | 13 |
| 5. BRUK, FOREKOMST, HÅNDTERING OG TEKNOLOGI | 14 |
| 5.1 OPPLYSNINGER FRA KRITERIEDOKUMENTET (EDLING 1982) | 14 |
| 5.2 OPPLYSNINGER I PRODUKTREGISTERET | 14 |
| 5.3 ANTALL MULIG EKSPONERTE | 14 |
| 6. MÅLEDOKUMENTASJON | 14 |
| 6.1 MÅLE- OG ANALYSEMETODER | 14 |
| 6.2 NIVÅ AV EKSPONERING | 14 |
| 7. EVENTUELLE ERSTATNINGSSTOFFER | 16 |
| 8. NY ADMINISTRATIV NORM | 16 |
| 9. REFERANSER | 16 |

Den toksikologiske litteraturen om lystgass dekker både eksponeringsforhold som er relevante for arbeidstakere og forhold som er relevante for pasienter som får lystgass som anestesimiddel eller til smertelindring, samt ved misbruk av lystgass. Vi har lagt vekt på studier som er av betydning for revisjon av den administrative normen for lystgass, inkludert relevante dyrestudier. Særlig vekt er lagt på undersøkelser av de reproduksjonstoksiske effektene av gassen. Vi har tatt med undersøkelser hvor det bare har vært eksponering for lystgass (og ikke andre anestesigasser i tillegg), så langt dette har vært mulig.

1. Stoffets identitet: Lystgass

Cas-nr: 10024-97-2

Einecs-nr:

Index-nr:

Elincs-nr:

Synonymer: Dinitrogenoksid

2. Grenseverdier

Nåværende administrative norm: 100 ppm, 180 mg/m³

Tabell 2.1: Grenseverdier fra andre land og organisasjoner

| Land/organisasjon | Kilde | Grenseverdi, inkl anmerkning | Kommentar |
|-------------------|--------------------------------------|--------------------------------|--|
| Sverige | AFS 2000:3 | 100 ppm, 180 mg/m ³ | Korttidsverdier: 500 ppm, 900 mg/m ³ |
| Danmark | At-vejledning C.0.1 Oktober 2000 | 50 ppm, 90 mg/m ³ | |
| Storbritannia | EH40/2000 | 100 ppm, 183 mg/m ³ | |
| Nederland | De Nationale MAC- lijst 1997-1998 | 80 ppm, 152 mg/m ³ | |
| Australia | Worksafes internettsider | 25 ppm, 45 mg/m ³ | |
| NIOSH | NIOSHs internettsider | 25 ppm, 46 mg/m ³ | |
| MAK | 1999-lista | 100 ppm, 180 mg/m ³ | |
| ACGIH | 2000-lista | 50 ppm | |

3. Fysikalske og kjemiske data

Lystgass er en fargeløs gass uten lukt og smak. Gassen er ikke brennbar ved romtemperatur.

Formel: N₂O
Molekylvekt: 44.02
Smeltepunkt: - 90,81 °C
Kokepunkt: - 88,5 °C
Tetthet: 1,5
Løselighet: Løselig i vann, alkohol, eter og olje
Omregningsfaktor: 100 ppm = 180 mg/m³
Blod/gasskoeffisient: 0,47

4. Toksikologiske data og helseeffekter

4.1 Nåværende klassifisering

Lystgass er ikke omfattet av forskrift om klassifisering, merking m.v. av farlige kjemikalier, og er derfor ikke klassifisert av myndighetene.

4.2 Opptak, biotransformasjon, fordeling og ekskresjon

Lystgass tas opp gjennom lungene, men siden gassen er lite løselig i blod, tas den opp i små mengder.

Lystgass fordeles etter opptak i hovedsak til hjertet, hjernen og fettvev. Gassen passerer placentabarrieren. Lystgass elimineres hovedsakelig gjennom lungene i uendret form. Små mengder kan dessuten bli skilt ut gjennom porene i huden (Adriani, 1962). Det meste av gassen er forsvunnet fra kroppen 17 - 35 minutter etter at narkose er avsluttet (McGlothlin *et al.* 1994).

4.3 Mekanisme

Lystgass oksiderer redusert kobolt i vitamin B₁₂, noe som inaktiverer vitaminet. Vitamin B₁₂ er viktig blant annet for dannelsen av røde blodlegemer og for funksjonen av sentralnervesystemet. Enzymet metionin syntase er avhengig av vitamin B₁₂, og lystgass hemmer derfor metionin syntase. Dette er vist av blant annet Koblin *et al.* (1981), Kondo *et al.* (1981) og Sharer *et al.* (1983). Metionin syntase katalyserer metylering av homocystein til metionin samtidig med demetylering av metyltetrahydrofolat til tetrahydrofolat. Tetrahydrofolat er viktig for dannelsen av tymidin og puriner. Resultatet av et inaktivt vitamin B₁₂ kan dermed bli at syntesen av DNA blir redusert. Kronisk eksponering for lystgass påvirker derfor spesielt celler med rask turnover, som celler i beinmargen (Amos *et al.* 1984, Sweeney *et al.* 1985, Yagiela 1991, Donaldson *et al.* 1995).

Det har også blitt antatt at effekten på DNA-syntesen er årsaken til at lystgass virker reproduksjonsskadelig. Blant annet viste Baden og medarbeidere (1987) at aktiviteten av metionin syntase fra fostere og mordyr var redusert etter at enzymene var inkubert med 50% lystgass i perioder på opptil 24 timer, reduksjonen i aktiviteten var tidsavhengig. I et tidligere forsøk hadde den samme gruppen (Baden *et al.* 1983) funnet at metionin syntase var inaktivert i drektige Sprague-Dawley-rotter som ble eksponert for 0,75%, 7,5% og 75% lystgass på dag 9 i

drektighetsperioden. Aktiviteten ble målt øyeblikkelig etter eksponering og 72 timer etter eksponering. Aktiviteten var ikke normalisert igjen ved 72 timer. Det ble ikke funnet skader på fostrene (vekt og utseende). Hansen og Billings (1985) fant også at eksponering for lystgass under drektighetsperioden (50% lystgass, eksponering i 4, 24 eller 48 timer, rottene ble avlivet på dag 14 i drektighetsperioden) førte til hemmet aktivitet av metionin syntase og redusert folatinnhold i mordyrets lever og i fosteret.

Andre mekanismer enn den som involverer metionin syntase og folater blir også diskutert (Rowland *et al.* 1995). Blant annet viser Rowland og medarbeidere til at halotan, men ikke folat, i et forsøk med rotter beskyttet mot den skadelige effekten av lystgass under svangerskapet (Mazze *et al.* 1988). (Dette står imidlertid i motsetning til et studie av Keeling *et al.* (1986), som fant at folinsyre delvis beskyttet mot skader på grunn av lystgass gitt på dag 9 i drektige rotter.) Rowland og medarbeidere påpeker videre at lystgass i forsøksdyr er vist å interferere med gonadotropin releasing hormon (Kugel *et al.* 1990), og mener at en effekt på reproduksjonshormoner i løpet av svangerskapet er annen mulig mekanisme. Andre muligheter de trekker fram er at det kan dannes skadelige frie radikaler fra lystgass, og at lystgass kan omdannes til nitrogendioksid og nitrogenoksid, som forfatterne sier er mistenkte for å være reproduksjonsskadelige.

Mangel på vitamin B₁₂ kan også føre til redusert omdanning av metylmalonyl CoA til succinyl CoA katalysert av enzymet metylmalonyl CoA mutase, og dermed til syntese av visse typer lipider. Dette kan være en mulig mekanisme for de nevrologiske effektene som er sett ved eksponering for lystgass (Suruda 1997).

4.4 Effekter ved eksponering for lystgass

Lystgass er i mennesker satt i sammenheng med reproduksjonsskader, skader på nervesystemet, lever, nyre, hematologiske og immunologiske problemer, og det har vært diskutert om lystgass har ført til ondartede svulster (se blant annet oversiktsartiklene til McGlothlin *et al.* 1994, Donaldson *et al.* 1995, Howard 1997, Smith 1998).

4.4.1 Reproduksjonstoksiske effekter

En rekke epidemiologiske undersøkelser er utført for å studere mulige reproduksjonsskadelige effekter av lystgass og andre anestesigasser. Undersøkelser hvor det hovedsakelig har vært eksponering for lystgass (og ikke andre anestesigasser i tillegg) er referert nedenfor. Cohen og medarbeider publiserte i 1980 resultatene av en stor epidemiologisk undersøkelse av helseeffekter forårsaket av lystgass hos tannleger og tannlegeassistenter. 30650 tannleger og 30547 tannlegeassistenter deltok i undersøkelsen, som var en spørreskjemaundersøkelse. Responsraten var ca 70% for begge yrkesgruppene. 98,5% av tannlegene var menn og 99,1% av tannlegeassistentene var kvinner. Det vil si at undersøkelsen av tannlegene var en undersøkelse av hvordan menns helse påvirkes av lystgass, mens undersøkelsen av tannlegeassistentene var det tilsvarende for kvinner. Eksponeringen for lystgass ble ikke målt, men definert etter hvor mange timer personene ble eksponert for lystgass per uke, omregnet til kumulativ eksponering i en dekade (det vil si 10 år). Tre eksponeringsgrupper ble etablert: Ikke-eksponerte, lett eksponerte (1 - 2999 timer siste dekade) og høyt eksponerte (3000 timer eller mer siste dekade).

Undersøkelsen viste en statistisk signifikant økning av spontanabort både på grunn av maternell og paternell eksponering for lystgass. For maternell eksponering var det en økning i ratene på 1,7 - 2,3 ganger for de eksponerte gruppene i forhold til gruppen som ikke ble eksponert for lystgass. For paternell eksponering var det en økning på 50% for den høyest eksponerte gruppen i forhold til tannlegene som ikke ble eksponert.

Når det gjaldt misdannelser (disse var særlig i muskel og skjelett) var det bare maternell eksponering som førte til økning (1,4 - 1,6 ganger i forhold til tannlegeassistentene som ikke var eksponert for lystgass). Økningen var statistisk signifikant bare for den lavt eksponerte gruppen og for de to eksponerte gruppene sett under ett.

Som nevnt dreier dette seg om en spørreskjemaundersøkelse. Forfatterne mener selv at undersøkelsen gir gode holdepunkter for at lystgass kan medføre de helseeffektene som ble funnet (se også nedenfor). Blant annet trekker de fram at referansegruppene består av de samme yrkesgruppene, men uten lystgasseksponering. Svarprosenten var dessuten rimelig høy, og relativt lik for alle grupper. Dessuten påpeker forfatterne at resultatene samsvarer med undersøkelser som er gjort av personell fra operasjonsstuer. I en tidligere studie av tannleger fant Cohen og medarbeidere (1975) også økt forekomst av spontanaborter hos ektefellene til mannlige tannleger.

Rowland *et al.* (1992) undersøkte om lystgass påvirket fertiliteten til kvinnelige tannlegeassistenter. 7000 tannlegeassistenter fikk et innledende spørreskjema. På grunnlag av svarene fra de 69% (4856 personer) som svarte på skjemaet, ble 418 telefonintervjuet. Det ble ikke foretatt eksponeringsmålinger. Eksponeringsgrupper ble etablert på grunnlag av bruk av avsug i forbindelse med bruken av lystgass (ja eller nei) og hvor mange timer de arbeidet med lystgass per uke. Undersøkelsen viste at tannlegeassistentene som jobbet 5 timer eller mer per uke med lystgass uten avsug hadde redusert fruktbarhet i forhold til dem som ikke var eksponert for lystgass (justert fekundabilitetsratio = 0,41, 95% CI = 0,23 - 0,74), og i forhold til de andre eksponeringsgruppene.

Rowland og medarbeidere (1995) undersøkte også forekomsten av spontanaborter i den samme gruppen tannlegeassistenter, men da i en gruppe på 1465 personer av de 4856 som besvarte skjemaet og som arbeidet fulltid i den perioden da graviditeten startet. Analysen av svarene til denne gruppen viste en økning i risiko for spontanaborter blant kvinnene som arbeidet med lystgass i tre timer eller mer per uke uten avsug i forhold til dem som ikke var eksponert for lystgass. Relativ risiko var 2,6, 95% CI = 1,3 - 5,0 etter justering for alder, røyking og antall amalgamfyllinger håndtert per uke.

En svensk gruppe har undersøkt hvilken betydning skiftarbeid og eksponering for lystgass har for forskjellige typer reproduksjonsskader blant jordmødre. Spørreskjema ble sendt til 3985 jordmødre som var medlemmer av den svenske jordmorforeningen i 1989. Opplysninger ble delvis innhentet fra disse spørreskjemaene og delvis fra det medisinske fødselsregisteret i Sverige (Bodin *et al.* 1999). Det ble ikke foretatt eksponeringsmålinger. Datagrunnlaget er analysert i de tre artiklene nedenfor.

Ahlborg *et al.* (1996) undersøkte om lystgass og skiftarbeid hadde betydning for fertiliteten til jordmødrene, målt som fekundabilitetsratio. De fant at skiftarbeid førte til redusert fertilitet. Blant dem som var eksponert for lystgass, var fertiliteten redusert hos dem som rapporterte at de

deltok ved 30 fødsler eller mer per måned hvor lystgass ble brukt (fekundabilitetsratio = 0,64, 95% CI = 0,44 - 0,95).

Axelsson *et al.* (1996) tar for seg forholdet mellom lystgass, henholdsvis skiftarbeid, og spontanabort blant jordmødrene. Skiftarbeid førte til økt odds ratio (OR) for spontanabort. Det ble ikke funnet sammenheng mellom eksponering for lystgass og spontanabort (OR = 0,95, 95% CI = 0,62 - 1,47).

Hvorvidt skiftarbeid og eksponering i svangerskapet for lystgass hadde betydning for fødselsvekt og svangerskapets lengde ble undersøkt i Bodin *et al.* (1999). Sammenheng ble i varierende grad vist mellom skiftarbeid og for tidlig fødsel og lav fødselsvekt. Eksponering for lystgass under svangerskapet ble assosiert med redusert fødselsvekt (- 77 g, 95% CI = (-129) - (-24)) og økning i sannsynligheten for at det nyfødte barnet var lite i forhold til lengden på svangerskapet (OR = 1,8, 95% CI = 1,1 - 2,8).

Mange studier er gjort i rotter for å undersøke den reproduksjonsskadelige effekten av lystgass. Ved eksponering for svært høye konsentrasjoner i forbindelse med drektighet (50000 ppm - 750000 ppm) er det funnet økt antall misdannelser og økt antall resorpsjoner (se for eksempel oppsummering i McGlothlin *et al.* 1994 og Edling 1982). Det er også gjort dyreforsøk hvor det ikke er funnet effekter av lystgass på reproduksjonen, selv ved så høye konsentrasjoner som nevnt over (Mazze *et al.* 1982, Mazze *et al.* 1984).

Nedenfor er det referert noen studier av reproduksjonseffekter sett ved lavere nivå av lystgass. Corbett *et al.* (1973) eksponerte grupper av gravide rotter, 6 - 12 dyr per gruppe, for lystgass eller 22% O₂ + 78% N₂ (kontrollgruppene) på forskjellige tidspunkt i drektighetsperioden. Dyrene ble eksponert i eksponeringskamre. Gruppene ble eksponert for henholdsvis 15000 ppm lystgass i 24 timer, 1000 ppm i 24 timer, 1000 ppm i 8 timer eller 100 ppm i 8 timer. Antall implantater per rotte var redusert etter 24 timers eksponering for 15000 ppm (eksponering dag 8-13) og 1000 ppm (eksponering dag 12-19). Forekomst av fosterdød var økt i gruppene hvor mordyrene var eksponert for 15000 ppm i 24 timer (eksponering dag 8-13), 1000 ppm i 24 timer (eksponering dag 12-19), 1000 ppm i 8 timer (både gruppen med eksponering dag 10-13 og gruppen med eksponering dag 14-19) samt 100 ppm i 8 timer (eksponering dag 10-13). Forskjellen var signifikant for den siste gruppen (100 ppm, 8 timer per dag, dag 10-13) bare sammenliknet med den ene kontrollgruppen (O₂ + N₂ 24 timer per dag, dag 8-13). Forfatterne påpeker behovet for videre studier ved kroniske, lave nivåer for lystgass.

Vieira (1979) eksponerte 12 gravide Wistar hunnrotter kontinuerlig for 5000 ppm lystgass og 12 andre gravide Wistar-rotter for luft fra dag 1 til 19 i drektighetsperioden. Rottene ble avlivet på dag 19. Det ble funnet en signifikant reduksjon i kullstørrelsen hos rottene som ble eksponert for lystgass i forhold til kontrollene. Følgende ble funnet i studiegruppen, men ikke i kontrollgruppen: Resorpsjoner (hos 10 av 12 rotter), skjelettmisdannelser (9% av fostrene) og total reduksjon i fosterstørrelsen.

I Vieira *et al.* (1980) blir det rapportert om en studie hvor grupper på 12 Wistar-rotter ble eksponert for lystgass (250 ppm, 500 ppm eller 1000 ppm) eller luft fra og med parringen og kontinuerlig i 19 døgn. Rottene ble avlivet på dag 19. Det ble funnet effekter av lystgass bare i gruppen som ble eksponert for 1000 ppm: Kullstørrelsen var redusert med nesten 50 %, hver av

de 12 morddyrene hadde én resorpsjon (ingen i de andre gruppene), fostrene var mindre og det var misdannelser av skjelettet. Forfatterne mente selv at det kritiske nivået i rotter ved kontinuerlig eksponering ligger mellom 500 og 1000 ppm.

Senere gjorde den samme gruppen studier (Vieira *et al.* 1983a) hvor de eksponerte Wistar-rotter, hanner, for 5000 ppm lystgass i 30 dager (6 timer per dag, 5 dager per uke), kontrolldyrene ble eksponert for luft. Alle hannene ble parret med 3 hunner hver, for deretter å bli parret med 3 nye hunner hver etter en periode på seks måneder hvor ingen av hannene ble eksponert for lystgass. Avkommet ble veid og målt åtte uker etter fødselen. Det var en signifikant reduksjon i gjennomsnittlig størrelse på kullene blant hunnene som var parret med hanner direkte etter eksponering for lystgass. Dessuten var avkommet til disse hunnene mindre enn avkommet til kontrollrottene.

Videre ble grupper à 12 gravide hunnrotter eksponert for 5000 ppm lystgass, 1000 ppm, 500 ppm eller 250 ppm 6 timer per dag, 5 dager per uke i hele drektighetsperioden. Rottene ble avlivet på dag 19. En signifikant reduksjon av gjennomsnittlig størrelse på kullene ble bare funnet i gruppen som ble eksponert for 5000 ppm (kullstørrelsen i de andre eksponeringsgruppene var som i kontrollgruppen). Det ble ikke funnet resorpsjoner eller misdannelser av skjelettet i noen av gruppene (Vieira *et al.* 1983b). Det er som forventet at periodevis eksponering førte til mindre grad av reproduksjonsskade enn kontinuerlig eksponering. Forfatterne påpeker at studien er gjort på 1700 meter over havet og ved et lufttrykk på 82,9 kPa, og at dette må tas hensyn til ved ekstrapolering av resultatene til andre høyder.

Kugel *et al.* (1989) eksponerte hunnrotter for 500 ppm i 8 timer per dag i 35 dager og fant at rottene fikk nedsatt fertilitet. Alle de eksponerte rottene fikk avbrutt egggløsningssyklusen, noe som blir forklart med forstyrret funksjon av luteiniserede hormon frisettingshormon (LHRH)-celler i hypotalamus.

Holson og medarbeidere (1995) eksponerte hannrotter og hunnrotter for luft eller 1000, 5000 eller 10000 ppm lystgass 6 timer per dag. Hannrottene ble eksponert i 9 uker. Hunnene ble eksponert under hele drektighetsperioden. Det ble gjort atferdstester på avkom fra behandlede foreldre. Det var ingen klare effekter i disse testene. Både morrottene og avkommet hadde normal vekt gjennom hele forsøket. Behandlede hannrotter ble dessuten parret med ikke-behandlede hunnrotter. Det var en liten dose-relatert økning av resorpsjoner og nedgang i antall levendefødte unger med økende paternell lystgass-eksponering.

4.4.2 Nevrotoksisk effekt

Lystgass kan i høye konsentrasjoner gi skader på nervesystemet, se oppsummering i Edling (1982) og Yagiela (1991).

I den store undersøkelsen av tannleger og tannlegeassistenter som Cohen og medarbeidere publiserte i 1980 ble det også funnet nevrotoksiske effekter. For tannlegene var det en økning på 1,2 - 1,9 ganger når det gjaldt nevrologiske sykdommer, mens det var en økning på 1,7 - 2,8 ganger når det gjaldt tannlegeassistenter. Økningen var enda høyere for uspesifikke symptomer som prikking/kribling, følelse av nummenhet og svakhet.

Nedenfor har vi referert noen undersøkelser om mulig nevrotoksisk effekt av lystgass ved lavere nivåer.

Bruce og Bach (1976) studerte den nevrotoksiske effekten av eksponering for halotan og lystgass sammen, og for lystgass alene. Fem grupper à 20 unge menn ble eksponert for 1) 500 ppm N₂O + 10 ppm halotan, 2) 500 ppm N₂O, 3) 50 ppm N₂O + 1 ppm halotan, 4) 50 ppm N₂O og 5) 25 ppm N₂O + 0,5 ppm halotan. Alle deltakerne ble testet to ganger ved en rekke tester for normal ytelse.

Testingen begynte 2 timer etter at eksponeringen for gassen(e) hadde startet, og forsøkspersonene var eksponert i totalt 4 timer. Bare den siste av sju tester ("Tachiscope, Raven Matrices, O'Connor Dexterity Test, Audiovisual Task (to tester), Vigilance Test, Digit Span") ble utført uten samtidig eksponering for gass. I hver gruppe på 20 ble halvparten eksponert for anestesigasser i forbindelse med første testing og den andre halvparten for luft. Ved neste testing (en uke senere) ble de to gruppene byttet om.

Resultatene for de to gruppene som bare ble eksponert for lystgass viser at eksponering for 500 ppm reduserte yteevnen i de fleste testene. Ved 50 ppm lystgass var det redusert effekt i de to testene som undersøkte audiovisuell evne.

På grunnlag av blant annet denne undersøkelsen anbefaler NIOSH en tidsveid gjennomsnittsverdi på 25 ppm for den perioden lystgass blir administrert. Andre forskere har ikke greid å bekrefte undersøkelsen (Edling 1982, Suruda 1997).

Lucchini og medarbeidere (1996) undersøkte 30 arbeidstakere på operasjonsstuer på et sykehus og sammenliknet dem med en gruppe på 20 ansatte fra andre avdelinger på det samme sykehuset for å se om anestesigasser hadde atferdseffekter grunnet CNS-endringer og neuroendokrine effekter. De eksponerte arbeidstakerne ble testet i begynnelsen og slutten av en uke de brukte gassanestesi og en uke de brukte annen type anestesi, med to ukers mellomrom mellom de to testukene. Tre parametre ble målt: Enkel reaksjonstid ("simple reaction time", SRT) og nivåene av henholdsvis prolaktin (PRL, for å undersøke mulig interferens med det dopaminerge systemet) og kortisol (for å undersøke stressnivået) i serum. Lystgassnivået var 50,9 ppm (geometrisk middelværdi, GM) den første dagen og 54,2 ppm (GM) den siste dagen i uken med gassanestesi. Den uken det ikke ble brukt gassanestesi, var nivået allikevel ca 5 ppm (antas å skyldes lekkasje fra nabo-operasjonsstuer). Testene viste at SRT og PRL bare ble redusert ved bruk av gassanestesi, og ikke hos kontrollene eller i den uken andre anestesityper ble brukt. Kortisolnivået viste ingen forskjeller mellom de forskjellige eksponeringssituasjonene. Forfatterne mener at funnene indikerer at det kan være fare for atferdsforstyrrelser (reversible) og neuroendokrine effekter under 100 ppm. En svakhet ved undersøkelsen er at det ikke er oppgitt hvilke andre anestesigasser arbeidstakerne ble eksponert for, og i hvilke nivåer. Dette problemet blir heller ikke diskutert i artikkelen.

I en annen undersøkelse med et liknende oppsett (66 eksponerte og 46 ikke-eksponerte, alle ansatt på sykehus, men testing bare én gang i uken uten eksponering) fant Lucchini og medarbeidere (1995) også at SRT var redusert ved slutten av den arbeidsuken hvor arbeidstakerne var eksponert for anestesigasser. Lystgassnivået i denne undersøkelsen varierte fra 7 ppm til 553 ppm (geometrisk middel 62,6 ppm). I tillegg var det eksponering for enfluran, i

nivåer fra 0,1 ppm til 18,8 ppm (geometrisk middel 1,3 ppm). Det ble funnet redusert SRT for arbeidstakerne ved eksponering for mindre enn 100 ppm. Det var ikke noe dose-effekt forhold mellom nivå av anestesigasser og SRT.

En studie ble gjennomført på flere sykehus i det samme området i Italia (Lucchini *et al.* 1997). Til sammen 112 ansatte fra operasjonsstuer og 135 ikke-eksponerte fra de samme sykehusene ble undersøkt med en test for reaksjonstid, et spørreskjema for å finne nevropsykologiske symptomer og forskjellige andre tester (Color Word Vigilance test, Block Design test fra Wais intelligensskala og Mood Scale). Testene ble utført før det første skiftet og etter det siste skiftet i en arbeidsuke. Geometrisk middelværdi på mengde lystgass i urin var 7,1 µg/L den første dagen i uken og 7,8 µg/L den siste dagen (tilsvarer ca 15 ppm). Tilsvarende verdier for isofluran var 0,7 µg/L og 0,8 µg/L (tilsvarer ca 0,2 ppm). Stasjonære målinger ga en geometrisk middelværdi på lystgass på 23,2 ppm første dagen og 20,6 ppm siste dagen i testuken. Tilsvarende verdier for isofluran var 0,4 og 0,3 ppm. Det ble ikke observert noen statistisk signifikante forskjeller mellom eksponerte og kontroller verken når det gjaldt symptomer eller i de nevropsykologiske testene, og heller ikke noe dose-effekt forhold mellom eksponeringsindikatorer og testresultatene. Forfatterne opplyser at de biologiske grenseverdiene i Italia er 13 µg/L for lystgass i urin og 1,8 µg/L for isofluran i urin (svarende til henholdsvis ca 25 ppm og 0,5 ppm i luftkonsentrasjon) og de mener selv at dette gir tilstrekkelig beskyttelse når det gjelder de normale ytelsesfunksjonene hos arbeidstakerne målt med de aktuelle testene.

Stollery *et al.* (1988) undersøkte 22 anestesileger som jobbet annenhver dag på en operasjonsstue med et gjennomsnittlig nivå av lystgass på 58 ppm og av halotan på 1,4 ppm, og annenhver dag utførte arbeid uten eksponering for anestesigasser. Det ble ikke funnet noen effekt av anestesigassene verken på humør eller kognitive funksjoner.

Voksne hann Swissmus ble eksponert for luft eller 1000 ppm eller 2000 ppm lystgass 8 timer per dag i åtte dager etter hverandre. (Fung *et al.* 1993). Resultatene indikerte at de eksponerte dyrene ikke hadde tap av motorisk koordinasjon eller angstnivå, det var ikke signifikante forskjeller i antall nevrone celler, nevrogliale celler eller totalt antall celler i nevralt vev. Mus som var eksponert for lystgass hadde redusert lokomotorisk aktivitet i forhold til kontrolldyrene, men denne forskjellen var hovedsakelig ikke statistisk signifikant. Dyr som var eksponert for lystgass viste imidlertid en doseavhengig reduksjon i stereotypisk oppførsel. Forfatterne antyder at kortvarig eksponering for lystgass kan føre til endringer i sentral dopaminerg nevralt aktivitet i de striatale og mesolimbiske områdene i hjernen.

4.4.3 Effekter på lever

Cohen *et al.* (1980) fant at det blant tannlegene og tannlegeassistentene som ble eksponert for lystgass var en økning i leversykdom på 1,7 ganger hos den høyest eksponerte gruppen tannleger og 1,6 ganger for den tilsvarende gruppen tannlegeassistenter sammenliknet med dem som ikke var eksponert. I den tidligere undersøkelsen (Cohen *et al.* 1975) ble det også funnet økt forekomst av leversykdommer blant tannleger som brukte anestesigasser sammenliknet med andre tannleger.

4.4.4 Effekter på nyrer

I undersøkelsen til Cohen *et al.* (1980) ble det funnet at de eksponerte tannlegene hadde en økning i nyresykdommer på 1,2 ganger i forhold til ikke-eksponerte, mens forholdet for tannlegeassistenter var 1,2 - 1,7.

4.4.5 Effekter på immunsystemet og på blod og bloddannende organer

Det har lenge vært kjent at lystgass kan føre til hematologiske forandringer hos pasienter, og tilsvarende er også vist i forsøksdyr ved høye konsentrasjoner. Det har blitt antatt at dette skyldes at lystgass inaktiverer vitamin B₁₂ (Edling 1982, Donaldson *et al.* 1995).

Immunologiske forstyrrelser hos anestesipersonale som var eksponert for lystgass og halotan ble undersøkt av Peric og medarbeidere (1991). Arbeidstakerne var eksponert for lystgass i området 80 - 10000 ppm, med tidsveide gjennomsnitt på 85 - 1500 ppm, det laveste på pauserommet. Halotannivået varierte mellom 10 og 350 mg/m³. Det høyeste halotannivået var på den samme operasjonsstua som det høyeste lystgassnivået. En gruppe på 21 eksponerte arbeidstakere ble sammenliknet med 35 friske kontoransatte fra den samme sosioøkonomiske klassen som de eksponerte. Den eksponerte gruppen ble testet for flere immunhematologiske variable før og etter sommerferien, referansegruppen før sommerferien. Det ble funnet at variablene for røde blodlegemer (antall, hemoglobinkonsentrasjonen og hematokritt) ikke var signifikant redusert under eksponeringen, men at variablene økte signifikant i løpet av ferien. Forandringene (reduksjon i antall på grunn av eksponering og økning i antall etter eksponering) i de hvite blodlegemene var sterkere, B-celler og NK-celler var mer påvirket enn T-celler. B-cellene trengte mer enn 4 uker (sommerferien) på å øke i antall. Forfatterne opplyste at funnene som gjaldt aktivitet av NK-celler, respons på mitogener og konsentrasjonen av immunglobuliner i serum (korrelerte ikke med antall B-lymfocytter) er uklare. Arbeidstakerne ble eksponert for både halotan og lystgass. Fordi lystgass ble brukt ved alle operasjonene og i høyere konsentrasjoner, legger forfatterne større vekt på eksponeringen for lystgass enn for halotan. Vi gjør imidlertid oppmerksom på at det er vist helseskader av halotan ved 10 ppm (nerveskader og reproduksjonsskader), jf grunnlagsdokumentet for halotan.

Sweeney og medarbeidere (1985) fant at tre av 21 tannleger som var eksponert for lystgass i området 159 - 4600 ppm hadde forstyrrelse av DNA-syntesen i beinmargen.

Healy og medarbeidere (1990) fant doseavhengige effekter på aktiviteten til beinmargen hos CD-1 hannmus etter eksponering for henholdsvis 0, 50, 500 og 5000 ppm 6 timer per dag, 5 dager per uke i 13 uker.

4.4.6 Gentoksiske effekter

Etter å ha undersøkt søster kromatide utbytninger ("sister chromatide exchange" = SCE) i perifere lymfocytter både hos sykehuspersonale som ble eksponert for anestesigasser og for ikke-eksponerte, konkluderte Husum *et al.* (1980) at anestesigasser som lystgass og halotan ikke hadde mutagen effekt. Den samme gruppen undersøkte SCE i tannleger og tannlegeassistenter

som var eksponert for lystgass, samt en referansegruppe, og kom til samme konklusjon (Husum *et al.* 1986). Andre eldre undersøkelser er referert i Edling (1982).

Karelová *et al.* (1992) har også oppsummert noen tidligere studier av den gentoksiske effekten av anestesigasser. Gruppen undersøkte selv SCE og kromosomaberrasjoner i perifere lymfocytter fra 24 arbeidstakerne som var eksponert for halotan i blanding av lystgass og oksygen, og sammenliknet dem med 30 friske blodgivere. Lystgassnivået er ikke målt, men halotannivået lå mellom 9 og 490 mg/m³. Siden halotan bare er tilsatt i mengder på 1 - 1,5% og lystgass gjerne i rundt 50%, betyr dette at lystgassnivået må ha vært høyt. I studien ble det funnet at antallet celler med kromosomaberrasjoner og SCE var økt i den eksponerte gruppen i forhold til i referansegruppen. Studien gir ikke grunnlag for å si om kromosomskadene skyldes lystgass og/eller halotan.

SCE i ansatte på operasjonsstuer ble også studert av Sardas og medarbeidere (1992). Den eksponerte gruppen besto av 67 arbeidstakere som hadde jobbet med anestesigasser i 2 - 29 år. Anestesigassene inkluderte lystgass, halotan og isofluran. Det ble ikke gjort målinger. Gruppen fant at SCE var signifikant økt i den eksponerte gruppen i forhold til i referansegruppen. Dette var også tilfelle dersom ikke-røykerne blant de eksponerte ble sammenliknet med ikke-røykerne blant kontrollene. Det var videre en økt forekomst blant gruppen som hadde jobbet lengst med anestesigasser. Studien gir ikke grunnlag for å si om SCE skyldes lystgass og/eller halotan/isofluran.

En ny undersøkelse ble publisert av Sardas og medarbeidere i 1998. Denne undersøkelsen ble gjort på 66 ansatte som hadde jobbet med anestesigasser i 1 - 17 år og en referansegruppe på 41 personer. Anestesigassene omfattet hovedsakelig lystgass, halotan og isofluran. Det ble ikke gjort målinger. Mulige DNA-skader i perifere lymfocytter ble testet med alkalisk komet assay (single celle gelelektroforese teknikk). Det var en større grad av skade i eksponerte arbeidstakere enn i referansegruppen. Studien gir ikke grunnlag for å si om DNA-skadene skyldes lystgass og/eller andre anestesigasser.

Hoerauf og medarbeidere har nylig publisert flere studier som gjelder den gentoksiske effekten av anestesigasser. Det første studiet (Hoerauf *et al.* 1999a) viste at lymfocytter som ble eksponert enten for 50% lystgass eller 0,3, 0,6 eller 1,2 mmol/L isofluran *in vitro* hadde en økt grad av SCE sammenliknet med ikke-eksponerte lymfocytter. Forskjellene var statistisk signifikante.

De to andre undersøkelsene er gjort på lymfocytter fra arbeidstakere eksponert for isofluran og lystgass. I den første undersøkelsen ble det funnet at frekvensen av SCE i 27 ikke-røykere som ble eksponert for de to anestesigassene ved arbeid på operasjonsstuer var økt signifikant i forhold til en ikke-røykende referansegruppe. Fordelt på kjønn var det funnene i de mannlige arbeidstakerne som var statistisk signifikante. Arbeidstakerne ble eksponert for et tidsveid gjennomsnitt for lystgass på 11,8 ppm og for isofluran på 0,5 ppm. Forfatterne (Hoerauf *et al.* 1999b) påpeker at selv så lave konsentrasjoner for anestesigasser som i dette tilfellet fører til genetiske skader som tilsvarer røyking av 11 - 20 sigaretter per dag. Studien gir ikke grunnlag for å si om SCE skyldes lystgass og/eller isofluran.

Undersøkelse av lymfocytter fra 10 ikke-røykere ansatt på operasjonsstuer og en referansegruppe på 10 ikke-røykere viste at frekvensen av SCE var signifikant økt i den eksponerte gruppen i forhold til i referansegruppen (Hoerauf *et al.* 1999c). Andelen mikrokjerner var også økt, men

ikke signifikant. De eksponerte arbeidstakerne ble utsatt for et 8 timers tidsveid gjennomsnitt for lystgass på 12,8 ppm og for isofluran på 5,3 ppm. Som over påpeker forfatterne at lave konsentrasjoner av anestesigasser fører til genetiske skader som tilsvarer røyking av 11 - 20 sigaretter per dag. Studien gir ikke grunnlag for å si om den gentoksiske effekten skyldes lystgass og/eller isofluran.

4.4.7 Karsinogen effekt

Cohen *et al.* (1980) undersøkte også om tannlegene og tannlegeassistentene som ble eksponert for lystgass hadde overhyppighet av kreft sammenliknet med de ikke-eksponerte gruppene. Det var ingen økning i raten for kreft blant noen av tannlegene. Tannlegeassistentene hadde en lav gjennomsnittsalder (29 år i gjennomsnitt). Kreftraten var økt 1,5 ganger (ikke signifikant), med en økning i cervix cancer på 2,4 ganger (signifikant) for den høyest eksponerte gruppen.

4.5 Konklusjon

Det er tre typer mulige helseeffekter ved lystgass som bør trekkes fram ved utarbeiding av ny administrativ norm for stoffet: Den reproduksjonsskadelige effekten, nevrotoksisk effekt og gentoksiske effekt.

De epidemiologiske undersøkelsene som er referert, gir sterke holdepunkter for at lystgass er reproduksjonsskadelig i mennesker. Lystgass er satt i sammenheng med økt forekomst av spontanabort, redusert fruktbarhet og økt grad av misdannelser hos barna født av lystgasseksponerte. Graden av eksponering for lystgass i de epidemiologiske undersøkelsene er dessverre ikke målt, men estimert, ofte ut fra om det er brukt avsug eller ikke. Det er kjent at eksponeringen for lystgass på tannklinikker har vært høy når avsug ikke har vært brukt (Donaldson *et al.* 1995), opp i 500 - 6000 ppm (Cohen *et al.* 1975).

Eksponering for 1000 ppm lystgass har gitt reproduksjonsskader i forsøksdyr i noen studier (Corbett *et al.* 1973, Vieira *et al.* 1980), mens andre studier har vist effekt bare ved 5000 ppm og ikke 1000 ppm (Vieira *et al.* 1983b). Corbett og medarbeidere fant også effekter ved 100 ppm, men disse var statistisk signifikante bare sammenliknet med en av kontrollgruppene.

Nevrotoksiske effekter er funnet i mennesker ved 50 ppm (Bruce og Bach 1976). Dette er et gammelt studie, som har vært vanskelig å gjenta. Studiet er imidlertid noe av det viktigste grunnlaget for NIOSH sin grenseverdi for lystgass på 25 ppm (McGlothlin *et al.* 1994). At lystgass kan antas å føre til nevrotoksiske skader ikke bare ved svært høye konsentrasjoner, blir til en viss grad underbygget av undersøkelsene utført av Lucchini og medarbeidere, selv om de ansatte der var eksponert for halogenerte anestesigasser i tillegg til lystgass. Lucchini og medarbeidere mener selv (1997) at en grenseverdi for lystgass på 25 ppm og for isofluran på 0,5 ppm er lav nok i forhold til nevrotoksiske effekter (målt ved deres tester).

I flere studier er det funnet økt forekomst av søster kromatideutbyttinger i arbeidstakere eksponert for anestesigasser. I noen av undersøkelsene er det ikke oppgitt hvilken eksponering som har forekommet. Hoerauf og medarbeidere (1999b og c) har foretatt målinger, og funnet relativt lave verdier av lystgass, i forhold til gjeldende norsk norm, og relativt høye verdier av

isofluran i forhold til norsk norm. Det er derfor dessverre vanskelig å trekke sikre konklusjoner om hvilken effekt lystgass alene vil ha på DNA ved de konsentrasjonene som blir funnet i operasjonsstuer.

5. Bruk, forekomst, håndtering og teknologi

5.1 Opplysninger fra kriteriedokumentet (Edling 1982)

Lystgass er i bruk som anestesigass ved operative inngrep, enten alene eller i kombinasjon med andre bedøvende midler. Stoffet brukes også til smertelindring og som sedativt middel. Yrkesmessig eksponering omfatter personalet i operasjonsrom, på oppvåkingsavdelinger, på fødestuer, tannkirurgisk personale og annet personale på tannklinikker, veterinærer og annet personale som håndterer dyr, ambulanspersonale.

5.2 Opplysninger i Produktregisteret

Lystgass inngår ikke i produkter som er registreringspliktige i Produktregisteret. Det foreligger derfor ingen opplysninger om hvilke typer produkter stoffet inngår i og ingen opplysninger om bransjeanvendelse fra registeret.

5.3 Antall mulig eksponerte

Fordi anestesigasser har et klart avgrenset bruksområde, har vi kontaktet foreninger som organiserer helsepersonell. Basert på opplysningene fra disse foreningene, anslår vi at 6500 - 7000 eksponeres for anestesigasser. Av disse arbeider ca 430 innen tannhelsen, mens ca 1050 er jordmødre. Disse gruppene arbeidstakere er normalt ikke eksponert for andre anestesigasser enn lystgass.

6. Måledokumentasjon

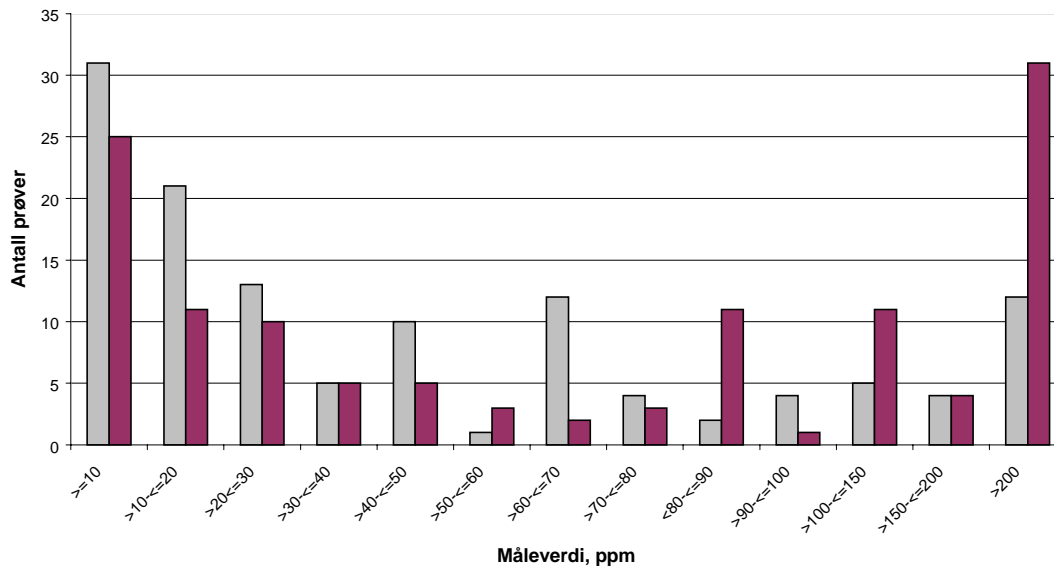
6.1 Måle- og analysemetoder

- Direktevisende IR/fotoakustisk IR, analyseres med IR- (= infrarød) spektroskopi, metode N6600
- Prøvetaking på rør med molekylsikt, analyse på gasskromatografi, metode: Punpeng T, Frohlinger JO, Esmen NA. Improved gas chromatography method for field measurements of nitrous oxide in air. *Anal Chem* 1979;51:159 - 161

6.2 Nivå av eksponering

For lystgass har vi måledata fra STAMIs måledatabase EXPO og målinger foretatt på en rekke

sykehus i Norge de siste årene. Målinger av anestesigasser er ofte gjort i den tiden en operasjon eller behandling tar. Dette gjør at målingene ofte tas over perioder som er kortere enn åtte timer. Måledataene som vi har mottatt fra STAMI inkluderer 143 målinger totalt, alle gjort før 1990. 119 var over deteksjonsgrensen. Stolpediagrammet nedenfor viser relativt stor spredning på måleverdiene, både når det gjelder gjennomsnitt i måleperioden og høyeste måleverdi i perioden.



Figur 1 Målinger over deteksjonsgrensen av lystgass, utført av STAMI. Målingene er målt med direktevisende utstyr (IR) i perioden 1984-86. ■ viser gjennomsnitt i måleperioden og ■ viser høyeste måleverdi i perioden

Sykehus A

Ved sykehus A ble det i 1997 foretatt en kartlegging av de ansattes eksponering for lystgass og isofluran. Målingene ble foretatt med direktevisende IR spektrofotometer, og i noen tilfeller på diffusjonssamler (gjelder lystgass). Målingene ble gjort i anestesørens pustesone, i tillegg til at det ble gjort noe lekkasjesøk. Det ble vist at lystgasskonsentrasjonen overskred 25 ppm for en rekke operasjoner og behandlinger. På noen avdelinger som for eksempel barneavdelingen ble det målt opp til 633 ppm lystgass ved operasjoner og gjennomsnittsverdiene var over 100 ppm. Gjennomsnittet på de forskjellige stuen varierte mellom 2 og 407 ppm. Rapporten konkluderer med forslag til tiltak for å redusere eksponeringen.

Sykehus B

Dette sykehuset har foretatt målinger både på sykehuset, på andre sykehus innen helseregionen og på to tannhelseklinikker.

Lystgassmålingene på tannhelseklinikkene ble utført i tannlegens og assistentens arbeidsatmosfære. I tillegg ble det utført teknisk kontroll av utstyret og det ble sett på hvordan lystgassen blir administrert. Det ble rapportert tre 8-timers målinger fra den ene av tannklinikkene (ingen fra den andre). Gjennomsnittskonsentrasjonene var 19, 20 og 34 ppm. Maksimumskonsentrasjonene var 655, 705 og 725 ppm. Til sammen ble det målt lystgass ved 9 behandlinger. Gjennomsnittskonsentrasjonene for behandlingene varierte mellom 14 og 75 ppm.

I en kommentar til målingene, blir det i rapporten påpekt at masken (både utforming og bruk), hvor rolig pasienten sitter og lekkasjer fra utstyret har betydning for hvor stor eksponeringen for lystgass er.

Gjennomsnittskonsentrasjonene fra operasjonsstuer og fødeavdelinger gjelder for den enkelte operasjonen eller fødselen. Målingene på oppvåkingsavdelinger er tatt som stasjonære prøver, og gir ikke nødvendigvis informasjon om arbeidstakernes eksponering for lystgass. Vi har ikke beregnet gjennomsnitt av de tilsendte målingene, men resultatene varierer mellom 4 og 440 ppm. Fødestuer har ofte et høyt nivå, til og med over gjeldende norm.

Høye lystgassnivåer kan generelt skyldes lekkasjer i det tekniske anlegget, for dårlig allmennventilasjon, manglende eller ikke bruk av næravsug og punktavsug, problemer med å holde maske tett nok rundt pasientens ansikt. Erfaring fra sykehuset er at et bakgrunnsnivå av lystgass på mer enn 10 ppm ofte skyldes lekkasjer i utstyret.

Felles for de fleste anestesigassmålinger er at det ofte er svært høye toppeksponeeringer, for lystgass ofte flere hundre ppm. Disse toppene kan være langt kortere enn 15 minutter.

7. Eventuelle erstatningsstoffer

Lystgass blir brukt både til anestesi alene og som bæregass for andre anestesigasser. Vi har ikke kjennskap til om det er aktuelt å bruke andre gasser som bæregass og/eller anestesigass.

8. Ny administrativ norm

På grunnlag av høringsforslag og styrebehandling ble ny administrativ norm fastsatt til:

| ppm | mg/m ³ | Anmerkninger |
|-----|-------------------|--------------|
| 50 | 90 | Rep1 |

9. Referanser

Adriani, J. (1962). The chemistry and physics of anesthesia. 2nd ed. Springfield, IL: Thomas, p.849

Ahlborg, G. Jr, Axelsson, G., Bodin, L. (1996). Shift work, nitrous oxide exposure and subfertility among Swedish midwives. Int J Epidemiol 25: 783-790

Amos, R. J., Amess, J. A., Nancekievill, D. G., Rees, G. M. (1984). Prevention of nitrous oxide-induced megaloblastic changes in bone marrow using folinic acid. Br J Anaesth 56: 103-107

Axelsson, G., Ahlborg G. Jr, Bodin, L (1996). Shift work, nitrous oxide exposure, and spontaneous abortion among Swedish midwives. Occup Environ Med 53: 374-378

- Baden, J. M., Rice, S. A., Serra, M., Kelley, M., Mazze, R. (1983). Thymidine and methionine synthesis in pregnant rats exposed to nitrous oxide. *Anesth Analg* 62: 738-741
- Baden, J. M., Kundomal, Y. R., Luttrupp, M. E. Jr, Mazze, R. I., Kosek, J. C. (1986). Carcinogen bioassay of nitrous oxide in mice. *Anesthesiology* 64: 747-750
- Baden, J. M., Serra, M., Mazze, R. I. (1987). Inhibition of rat fetal methionin synthase by nitrous oxide. An in vitro study. *Br J Anaesth* 59: 1040-1043
- Bodin, L., Axelsson, G., Ahlborg, G. Jr (1999). The association of shift work and nitrous oxide exposure in pregnancy with birth weight and gestational age. *Epidemiology* 10: 429-436
- Bruce, D. L., Bach, M. J. (1976). Effects of trace concentrations of anesthetic gases on behavioral performance of operating room personnell. HEW Publication No. (NIOSH) 76-169
- Cohen, E. N., Brown, B. W. Jr, Bruce, D. L., Cascorbi, H. F., Corbett, T. H., Jones, T. W., Whitcher, C. E. (1975). A survey of anesthetic health hazards among dentists. *JADA* 90: 1291-1296
- Cohen, E. N., Brown, B. W., Wu, M. L., Whitcher, C. E., Brodsky, J. B., Gift, H. C., Greenfield, W., Jones, T. W., Driscoll, E. J. (1980). Occupational disease in dentistry and chronic exposure to trace anesthetic gases. *JADA* 101: 21-31
- Corbett, T. H., Cornell, R. G., Endres, J. L., Millard, R. I. (1973). Effects of low concentrations of nitrous oxide on rat pregnancy. *Anesthesiology* 39: 299-301
- Donaldson, D. & Meechan, J. G. (1995). The hazards of chronic exposure to nitrous oxide: an update. *Br Dent J.* 178: 95-100
- Edling, C. (1982). Nordiska expertgruppen för gränsvärdesdokumentation 34. Lustgass. *Arbete och Hälsa* 1982:28
- Fung, Y. K., Brown, M. R., Sullivan, R. E. (1993). Effects of nitrous oxide exposure on behavioral changes in mice. *Pediatr Dent* 15: 93-98
- Hansen, D. K., Billings, R. E. (1985). Effects of nitrous oxide on maternal and emryonic folate metabolism in rats. *Dev Pharmacol Ther* 8: 43-54
- Healy, C. E., Drown, D. B., Sharma, R. P. (1990). Short term toxicity of nitrous oxide on the immune, hemopoietic, and endocrine systems in CD-1 mice. *Toxicol Ind Health* 6: 57-70
- Hoerauf, K. H., Schrogendorfer, K. F., Wiesner, G., Gruber, M., Spacek, A., Kress, H. G., Rudiger, H. W. (1999a). Sister chromatide exchange in human lymphocytes exposed to isoflurane and nitrous oxide in vitro. *Br J Anaesth* 82: 268-270
- Hoerauf, K. H., Wiesner, G., Schrogendorfer, K. F., Jobst, B. P., Spacek, A., Harth, M., Sator-Katzenschlager, S., Rudiger, H. W. (1999b). Waste anaesthetic gases induce sister chromatid exchanges in lymphocytes of operating room personnel. *Br J Anaesth* 82: 764-766

Hoerauf, K. H., Lierz, M., Wiesner, G., Schrogendorfer, K. F., Lierz, P., Spacek, A., Brunnberg, L., Nusse, M. (1999c). Genetic damage in operating room personnel exposed to isoflurane and nitrous oxide. *Occup Environ Med* 56: 433-437

Holson, R. R., Bates, H. K., LaBorde, J. B., Hansen, D. K. (1995). Behavioral teratology and dominant lethal evaluation of nitrous oxide exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol* 17: 583-592

Howard, W. R. (1997). Nitrous oxide in the dental environment: Assessing the risk, reducing the exposure. *JADA* 128: 356-360

Husum, B., Wulf, H. C. (1980). Sister chromatid exchanges in lymphocytes in operating room personnel. *Acta Anaesthesiol Scand* 24: 22-24

Husum, B., Wulf, H. C., Mathiassen, F., Niebuhr, E. (1986). Sister chromatid exchange in lymphocytes of dentists and chairside assistants: no indication of mutagenic effect of exposure to waste nitrous oxide. *Community Dent Oral Epidemiol* 14: 148-151

Karelová, J., Jablonická, A., Gavora, J., Hano, L. (1992). Chromosome and sister-chromatid exchange analysis in peripheral lymphocytes, and mutagenicity of urine in anesthesiology personnel. *Int Arch Occup Environ Health* 64: 303-306

Keeling, P. A., Rocke, D. A., Nunn, J. F., Monk, S. J., Lumb, M. J., Halsey, M. J. (1986) Folinic acid protection against nitrous oxide teratogenicity in the rat. *Br J Anaesth* 58: 528-534

Koblin, D. D., Watson, J. E., Deady, J. E., Stokstad, E. L., Eger E. I. (1981). Inactivation of methionine synthetase by nitrous oxide in mice. *Anesthesiology* 54: 318-324

Kondo, H., Osborne, M. L., Kolhouse, J. F., Binder, M. J., Podell, E. R., Utley, C. S., Abrams, R. S., Allen, R. H. (1981). Nitrous oxide has multiple deleterious effects on cobalamin metabolism and causes decreases in activities of both mammalian cobalamin-dependent enzymes in rats. *J Clin Invest* 67: 1270-1283

Kugel, G., Letelier, C., Atallah, H., Zive, M. (1989). Chronic low level nitrous oxide exposure and infertility. *Journal of dental research* 68: 313-

Kugel, G., Letelier, C., Zive, M. A., King, J. C. (1990). Nitrous oxide and infertility. *Anesth Prog* 37: 176-180

Lucchini, R., Toffoletto, F., Camerino, D., Fazioli, R., Ghittori, S., Gilioli, R., Signorini, A., Alessio, L. (1995). Neurobehavioral functions in operating theatre personnel exposed to anesthetic gases. *Med Lav* 86: 27-33

Lucchini, R., Placidi, D., Toffoletto, F., Alessio, L. (1996). Neurotoxicity in operating room personnel working with gaseous and nongaseous anesthesia. *Int Arch Occup Environ Health* 68: 188-192

Lucchini, R., Belotti, L., Cassitto, M. G., Faillace, A., Margonari, M., Micheloni, G., Scapellato, M. L., Somenzi, V., Spada, T., Toffoletto, F., Gilioli, R. (1997). Neurobehavioral functions in operating theatre personnel: A multicenter study. *Med Lav* 88: 396-405

Mazze, R. I., Wilson, A. I., Rice, S. A., Baden, J. M. (1982). Reproduction and fetal development in mice chronically exposed to nitrous oxide. *Teratology* 26: 11-16

Mazze, R. I., Wilson, A. I., Rice, S. A., Baden, J. M. (1984). Reproduction and fetal development in rats exposed to nitrous oxide. *Teratology* 30: 259-265

Mazze, R. I., Fujinaga, M., Rice, S. A., Harris, S. B., Baden, J. M. (1986). Reproductive and teratogenic effects of nitrous oxide, halothane, isoflurane, and enflurane in Sprague-Dawley rats. *Anesthesiology* 64: 339-344

Mazze, R. I., Fujinaga, M., Baden, J. M. (1988). Halothane prevents nitrous oxide teratogenicity in Sprague-Dawley rats; folic acid does not. *Teratology* 38: 121-127

McGlothlin, J. D., Cruch, K. G., Mickelsen, R. L. (1994). Control of nitrous oxide in dental operatories. DHHS (NIOSH) Publication No. 94-129

Peric, M., Vraneš, Z., Marušić, M. (1991). Immunological disturbances in anaesthetic personnel chronically exposed to high occupational concentrations of nitrous oxide and halothane. *Anaesthesia* 46: 531-537

Rowland, A. S., Baird, D. D., Weinberg, C. R., Shore, D. L., Shy, C. M., Wilcox, A. J. (1992). Reduced fertility among women employed as dental assistants exposed to high levels of nitrous oxide. *N Engl J Med* 327: 993-997

Rowland, A. S., Baird, D. D., Shore, D. L., Weinberg, C. R., Savitz, D. A., Wilcox, A. J. (1995). Nitrous oxide and spontaneous abortion in female dental assistants. *Am J Epidemiol* 141: 531-538

Sardas, S., Churuk, H., Karakaya, Atakurt, Y (1992). Sister-chromatid exchanges in operating room personnel. *Mutation Research* 279: 117-120

Sardas, S., Aygün, N., Gamli, M, Ünal, Y., Ünal, N., Berk, N., Karakaya, A. E. (1998). Use of alkaline Comet assay (single cell gel electrophoresis technique) to detect DNA damages in lymphocytes of operating room personnel occupationally exposed to anaesthetic gases. *Mutation Research* 418: 93-100

Sharer, N. M., Nunn, J. F., Royston, J. P., Chanarin, I. (1983). Effects of chronic exposure to nitrous oxide on methionine synthase activity. *Br J Anaesth* 55: 693-701

Smith, D. A. (1998). Hazards of nitrous oxide exposure in health care personnel. *Journal of the American Association of Nurse Anesthetists* 66: 390-393

Stollery, B. T., Broadbent, D. E., Lee, W. R., Keen, R. I., Healy, T. E., Beatty, P. (1988). Mood and cognitive functions in anaesthetists working in actively scavenged operating theatres. *Br J Anaesth* 61:446-455.

Sweeney, B., Bingham, R. M., Amos, R. J., Petty, A. C., Cole, P. V. (1985). Toxicity of bone marrow in dentists exposed to nitrous oxide. *Br Med J* 291: 567-569

Vieira, E. (1979). Effect of the chronic administration of nitrous oxide 0,5 % to gravid rats. *Br J Anaesth* 51: 283-287

Vieira, E., Cleaton-Jones, P., Austin J. C., Moyes, D. G., Shaw, R. (1980). Effects of low concentrations of nitrous oxide on rat fetuses. *Anesth Analg* 59: 175-177

Vieira, E., Cleaton-Jones, P., Moyes D. (1983a). Effects of intermittent 0,5% nitrous oxide/air (v/v) on the fertility of male rats and the post-natal growth of their offspring. *Anaesthesia* 38: 319-323

Vieira, E., Cleaton-Jones, P., Moyes D. (1983b). Effects of low intermittent concentrations of nitrous oxide on the developing rat fetus. *Br J Anaesth* 55: 67-69

Yagiela, J. A. (1991). Health hazards and nitrous oxide: A time for reappraisal. *Anesth Prog* 38: 1-11