

Ракитский В.Н., Епишина Т.М., Чхвиркия Е.Г.

Изучение отдалённых эффектов действия на организм крыс соединения класса бензотиадиазинонов

ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека, 141014, Мытищи, Московская область

Введение. В настоящее время известно немало ксенобиотиков (пестицидов, детергентов, синтетических красителей и т. д.), широко применяемых в промышленности и сельском хозяйстве, которые способны вызывать серьёзные нарушения течения беременности и развития плода. В связи с этим изучение влияния пестицидов на эмбриогенез в опытах на лабораторных животных является обязательным этапом санитарно-токсикологического исследования.

Целью исследования являлось изучение отдалённых последствий действия соединения класса бензотиадиазинонов для оценки его эмбриотоксического и тератогенного эффектов, а также репродуктивной токсичности по методу двух поколений при многократном пероральном поступлении в организм теплокровных животных (крысы), установление уровней недействующих доз для родителей и потомства и определения класса опасности.

Материал и методы. Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия проведена на крысах-самках и крысах-самцах с массой тела в начале исследования 230–240 г. Испытаны дозы: 0; 40; 100 и 250 мг/кг массы тела (1 контрольная и 3 опытные группы, по 15 особей в каждой). Спаривание самок проводили с интактными самцами в соотношении 2:1. Соединение вводили самкам ежедневно, перорально в течение 20 сут беременности. В динамике опыта наблюдали за состоянием и поведением крыс, потреблением воды и корма, изменением массы тела. При анализе эмбрионального материала учитывали: абсолютную и относительную массу внутренних органов (тимус, сердце, лёгкие, печень, почки), для оценки тератогенного эффекта часть плодов фиксировали в этаноле для изучения состояния скелета по методике Доусона. Репродуктивную токсичность соединения изучали на крысах по методу двух поколений в дозах 0; 15; 50 и 200 мг/кг массы тела (1 контрольная и 3 опытные группы, по 20 особей в каждой). Изучаемое соединение самцам родительского поколения вводили в период сперматогенеза и спаривания, самкам F0 родительского поколения в течение трёх эструсов, спаривания, беременности и продолжали до окончания вскармливания поколения F2. Спаривание самок и самцов проводили в соотношении 2:1. Крысы контрольной группы получали дистиллированную воду (растворитель) в эквивалентных объёмах.

Результаты. По результатам изучения эмбриотоксического и тератогенного эффектов установлены недействующие дозы на следующих уровнях: NOEL для матери — 100 мг/кг массы тела; NOEL по эмбриотоксичности — 100 мг/кг массы тела; NOEL по тератогенности — 100 мг/кг массы тела. Результаты по изучению репродуктивной активности: NOEL для родителей и потомства — 50 мг/кг массы тела.

Заключение. Проведённые исследования свидетельствуют о необходимости изучения эффектов отдалённого действия ксенобиотиков на организм млекопитающих при проведении санитарно-токсикологических исследований с целью повышения надёжности разрабатываемых гигиенических нормативов в объектах окружающей среды и продуктах питания.

К л ю ч е в ы е с л о в а : химические соединения; пестициды; лабораторные животные; пероральное введение; токсичность.

Для цитирования: Ракитский В.Н., Епишина Т.М., Чхвиркия Е.Г. Изучение отдалённых эффектов действия на организм крыс соединения класса бензотиадиазинонов. Гигиена и санитария. 2020; 99 (9): 986–989. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-986-989>

Для корреспонденции: Ракитский Валерий Николаевич, профессор, академик РАН, науч. рук. Института гигиены, токсикологии пестицидов и химической безопасности ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, 141014, Мытищи, Московская область. E-mail: pesticidi@fiferisman.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имеет финансовой поддержки.

Участие авторов: все соавторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Поступила 04.06.2020

Принята к печати 18.09.2020

Опубликована 20.10.2020

Valerii N. Rakitskii, Tatiana M. Epishina, Elena G. Chkhvirkiya

Studying of the remote effects of the action on the organism of rats of the compaund from the class benzothiadiazinones

F.F. Erisman Federal Scientific Center of Hygiene, Mytishchi, 141014, Russian Federation

Introduction. Currently, many xenobiotics are widely used in industry and agriculture, which can cause serious disorders of pregnancy and fetal development. In this regard, the study of the effect of pesticides on embryogenesis in experiments on laboratory animals is a mandatory stage of sanitary and toxicological research.

The aim of the study was to investigate the long-term effects of a compound of the class benzothiadiazinones for the assessment of embryotoxic and teratogenic effects, as well as reproductive toxicity by the method of two generations, with repeated oral intake of it into the body of warm-blooded animals (rats), establishing the levels of inactive doses for parents and offspring, and determining the hazard class.

Material and methods. The embryotoxic and teratogenic effects were evaluated in female and male rats with a bodyweight of 230–240 g at the beginning of the study. Tested doses: 0; 40.0; 100.0 and 250.0 mg / kg body weight (1 control and 3 experimental groups, 15 individuals each). Mating of females was performed with intact males in a ratio of 2:1. The Compound was introduced during 20 days of pregnancy. In

the dynamics of the experiment, the state and behavior of rats, water and feed consumption, and changes in body weight were observed. The analysis of embryonic material took into account: the absolute and relative mass of internal organs (thymus, heart, lungs, liver, kidneys), to determine the teratogenic effect, a group of fetuses (1/3) was fixed in Buena fluid and used to study internal organs using the Wilson method modified by Dyban the remaining 1/3 of the fetuses was fixed in ethanol to study the state of the skeleton using the Dawson method. When studying the reproductive toxicity of benzothiadiazinones in mammals (rats) using the method of two generations at doses of 0; 15.0; 50.0 and 200.0 mg/kg of body weight (1 control and 3 experimental groups, 20 individuals each). Female F0 of the parent generation was primed during the mating period, pregnancy, and continued until the end of the feeding of the F2 generation. Mating 2:1.

Results. Based on the results of studying the embryotoxic and teratogenic effects, invalid doses were established at the following levels: NOEL for the mother – 100.0 mg/kg of body weight; NOEL for embryotoxicity – 100.0 mg/kg of body weight; NOEL for teratogenicity – 100.0 mg/kg of body weight. Results on the study of reproductive activity: NOEL for parents and offspring–50.0 mg/kg of body weight.

Discussion. Studies on the effects of a long-term action of a technical product – “generic”, belonging to the class of benzothiadiazinones, found the studied compound for teratogenic, embryotoxic effects, as well as for its effect on reproductive toxicity, in accordance with the hygienic classification of pesticides by hazard (SanPiN 1.2.2584-10) to be a moderately dangerous compound (hazard class 3). Studied product class benzothiadiazinones on toxicological parameters are identical with the technical product is “originator”.

Conclusion. Thus, the research shows that it is necessary to study the effects of long-term action of xenobiotics on the mammalian body when conducting sanitary and toxicological studies, to increase the reliability of the developed hygiene standards in environmental objects and food products.

Key words: chemical compounds; pesticides; laboratory animals; oral administration; toxicity.

For citation: Rakitskii V.N., Epishina T.M., Chkhvirkiya E.G. Studying of the remote effects of the action on the organism of rats of the compound from the class benzothiadiazinones. *Gigiena i Sanitariya (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99 (9): 986-989. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2020-99-9-986-989> (In Russ.)

For correspondence: Valery N. Rakitskii, MD, Ph.D., DSci., professor, Academician of the RAS scientific director of the Institute of hygiene, toxicology of pesticides and chemical safety of the Federal Budgetary Establishment of Science «Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F.Erisman» of the Federal Service for Supervision in Protection of the Rights of Consumer and Man Wellbeing, Mytishchi, 141014, Russian Federation. E-mail: pesticidi@fferisman.ru

Information about the authors:

Rakitskii V.N., <https://orcid.org/0000-0002-9959-6507>; Epishina T.M., <https://orcid.org/0000-0003-0331-0701>; Chkhvirkiya E.G., <https://orcid.org/0000-0003-4543-7364>

Conflict of interests. The authors declare the absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Contribution: all co-authors made equivalent contributions to the publication

Received: June 4, 2020

Accepted: September 18, 2020

Published: October 20, 2020

Введение

Химические вещества играют значительную роль в повседневной жизни человека, их производство и применение с каждым годом растёт. Интенсивное развитие химической отрасли приводит к развитию экономики, однако химические вещества могут оказывать негативное влияние на здоровье человека и окружающую природную среду. Серьёзную озабоченность мирового сообщества вызывает современное состояние репродуктивного здоровья. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на долю заболеваний, связанных с репродуктивной функцией, приходится 20% случаев среди женщин и 14% среди мужчин. В существующих социально-экономических условиях состояние репродуктивного здоровья населения остаётся одной из наиболее острых медико-социальных проблем, являясь фактором национальной безопасности [1–6].

В настоящее время известно немало ксенобиотиков (пестицидов, детергентов, синтетических красителей и т. д.), широко применяемых в промышленности и сельском хозяйстве, которые способны вызывать серьёзные нарушения течения беременности и развития плода. На фоне ряда показателей, характеризующих здоровье нации (рождаемость, рост аллергической, инфекционной, репродуктивной, онкологической заболеваемости и др.), пестициды являются дополнительным фактором риска [7–11]. Всё вышесказанное показывает актуальность и значимость изучения влияния химических продуктов на отдаленные эффекты организма.

В настоящем эксперименте проведено санитарно-токсикологическое исследование по изучению эффектов отдалённого действия химического продукта производного класса бензотиадиазинов.

Отсутствие данных о влиянии данного соединения на эффекты отдалённого действия послужило основанием для проведения настоящих исследований.

Целью исследования являлось изучение отдалённых последствий действия соединения класса бензотиадиазинов

на эмбриотоксический и тератогенный эффекты, а также репродуктивную токсичность по методу двух поколений при многократном пероральном его поступлении в организм теплокровных животных (крысы), установление уровней действующих доз для родителей и потомства и определения класса опасности.

Материал и методы

Исследования проведены в виварии ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора. Оценка эмбриотоксического и тератогенного эффектов [12–14] проведена на крысах самцах и самках с массой тела в начале исследования 230–240 г. Испытаны дозы: 0; 40; 100 и 250 мг/кг массы тела (1 контрольная и 3 опытные группы, по 15 особей в каждой группе). Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду (растворитель) в эквивалентном объёме. Спаривание самок проводили с интактными самцами в соотношении 2:1. Соединение вводили ежедневно, перорально, с помощью металлического зонда в течение 20 сут беременности. В динамике опыта наблюдали за состоянием и поведением крыс, потреблением воды и корма, изменением массы тела. На основании полученных данных для опытных и контрольных групп животных рассчитывали показатели до- и после имплантационной гибели плодов (в %), выживаемость эмбрионов (в %), индекс оплодотворения (в %), регистрировали количество плодов, общую массу помёта, количество жёлтых тел, массу и длину эмбрионов, массу и диаметр плаценты.

После наружного осмотра плодов и регистрации всех аномалий плоды каждого помёта делили на три группы по 1/3 плодов в каждой группе. При анализе эмбрионального материала учитывали: абсолютную и относительную массу внутренних органов (тимус, сердце, лёгкие, печень, почки), для выяснения тератогенного эффекта группу плодов (1/3) фиксировали в жидкости Буэна и использовали для изучения внутренних органов по методу Вильсона–Дыбана,

и остальные 1/3 плодов фиксировали в этаноле для изучения состояния скелета по методике Доусона.

Изучение репродуктивной токсичности проводили на крысах самцах и самках по методу двух поколений в дозах 0; 15; 50 и 200 мг/кг массы тела (1 контрольная и 3 опытные группы, по 20 особей в каждой). Изучаемое соединение самцам родительского поколения вводили в период сперматогенеза и спаривания, самкам F0 родительского поколения – в течение периода трёх эструсов, спаривания, беременности и продолжали до окончания вскармливания поколения F2. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду (растворитель) в эквивалентном объёме. Спаривание самок с самцами проводили в соотношении 2:1. В динамике опыта наблюдали за состоянием и поведением крыс, потреблением воды и корма, изменением массы тела, фиксировали сроки гибели. У самок регистрировали следующие показатели: количество живых и мёртвых плодов, гибель потомства в период вскармливания, массу тела в динамике на 4-е, 7-е, 14-е, 21-е и 30-е сутки после рождения, соотношение плодов (самцы/самки), количество родившихся и количество выживших потомков, общее количество потомков в поколениях F1 и F2.

Проводили наблюдение за физическим развитием потомства в период вскармливания. Фиксировали следующие физиологические показатели: день отлипания ушной раковины, появление волосяного покрова, прорезывание резцов, открытие глаз, переход к самостоятельному питанию.

Функциональное состояние организма потомства лабораторных животных поколений F1 и F2 оценивали по достижению их 30-дневного возраста.

Оценку состояния нервной системы определяли по способности животных суммировать подпороговые импульсы (суммационно-пороговый показатель – СПП (в вольтах) с помощью импульсного стимулятора [15].

Изучение поведенческих реакций (двигательная активность, длина пройденного пути, время отдыха, норковый рефлекс, ориентировочная реакция) проводили на совмещённой установке «открытого поля» и «открытой площадки» с автоматической регистрацией поведения крыс (прибор ОРТО-МАКС «Columbus Instumehs», США). За единицу наблюдения при статистической обработке полученных результатов принимали один помёт [16].

Результаты проведённых исследований обработаны статистически общепринятыми методами с использованием *t*-критерия Стьюдента в программе ПК «Microsoft Excel» [17].

Выбор доз для проведения эксперимента обусловлен литературными данными об эмбриотоксичности, тератогенности и репродуктивной токсичности изучаемого химического продукта [18–20].

Результаты

При изучении эмбриотоксического и тератогенного эффектов в опытных группах, получавших соединение в дозах 40 и 100 мг/кг массы тела, у самок и их плодов не выявлено статистически достоверных изменений по всем изученным показателям по сравнению с контрольными животными. При введении соединения в дозе 250 мг/кг у самок через

2 нед выявлено статистически достоверное снижение массы тела, достоверное снижение количества жёлтых тел и общей массы плодов в помёте на одну самку, снижение абсолютной и относительной массы печени у плодов по сравнению с контролем. Проведённое патоморфологическое исследование плодов выявило наличие аномалий осификации грудные и позвоночника по сравнению с контролем.

Экспериментальные исследования по изучению эмбриотоксического и тератогенного эффектов исследуемого соединения при многократном пероральном воздействии его на организм теплокровных животных (крысы) в течение всего периода беременности позволили установить недействующие дозы (NOEL) для матери, по эмбриотоксичности и по тератогенности на уровне 100 мг/кг м.т.

В эксперименте по изучению репродуктивной токсичности исследуемого соединения на млекопитающих (крысы) по методу двух поколений установлено, что дозы 15 и 50 мг/кг м.т. не вызывают достоверных изменений в организме опытных животных по всем изученным показателям. Токсическое действие на организм родителей и потомства выявлено в дозе 200 мг/кг м.т., а именно:

- у поколения F0 – снижение массы тела у самцов и самок;
- у поколения F1 – снижение количества крысят при рождении на одну самку и в том числе живых крысят на одну самку, повышение показателя СПП у крысят в возрасте 30 сут;
- у поколения F2 снижение массы тела крысят на 7-е, 14-е и 21-е сутки после рождения; повышение показателя СПП у крысят в возрасте 30 сут.

На основании результатов проведённых исследований по изучению репродуктивной токсичности установлена максимально недействующая доза (NOEL) для родителей и потомства на уровне 50 мг/кг м.т.

Обсуждение

Исследованиями по изучению эффектов отдалённого действия химического продукта, относящегося к классу бензотиадиазинонов, установлено, что изученное соединение по тератогенному, эмбриотоксическому эффектам, а также по влиянию на репродуктивную токсичность относится в соответствии с гигиенической классификации пестицидов по степени опасности (СанПиН 1.2.2584-10) к умеренно опасным соединениям (3-й класс опасности). Изученный продукт класса бензотиадиазинонов по токсикологическим параметрам не имеет существенных отличий от существующих опубликованных данных [18–20].

Заключение

Таким образом, проведённые исследования свидетельствуют о необходимости изучения эффектов отдалённого действия ксенобиотиков на организм млекопитающих при проведении санитарно-токсикологических исследований с целью повышения надёжности разрабатываемых гигиенических нормативов в объектах окружающей среды и продуктах питания.

Литература

(п.п. 5, 10, 11, 18–20 см. References)

1. Хамидулина Х.Х., Дорофеева Е.В. Репродуктивное здоровье и опасности веществ, воздействующих через лактацию. В кн.: Попова А.Ю., Ракитский В.Н., ред. *Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 125-летию основания Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана. Гигиена, токсикология, профпатология: традиции и современность*. М.; 2016: 356–61.
2. ООН. *Согласованная на глобальном уровне система классификации опасности и маркировки химической продукции (СГС)*. Нью-Йорк, Женева; 2013.
3. Оценка токсичности и опасности химических веществ и их смесей для здоровья человека: Руководство. М.; 2014.
4. Хамидулина Х.Х., Дорофеева Е.В., Фесенко М.А. Современные подходы к формированию национального перечня химических веществ, обладающих воздействием на репродуктивную функцию и развитие потомства. *Токсикологический вестник*. 2014; (4): 2–17.
5. Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях. Женева; 2001.
6. Ракитский В.Н., ред. *Токсиколого-гигиеническая характеристика пестицидов и первая помощь при отравлении*. М.; 2015.

8. Ракитский В.Н., Чхvirкиya E.Г., Епишина Т.М. Оценка риска применения продукта бытовой химии для населения. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2019; 63(2): 61–5. <https://doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-2-103-107>
9. Ракитский В.Н., Епишина Т.М., Чхvirкиya E.Г., Синицкая Т.А., Мухина Е.А. Оценка токсичности и опасности технического продукта производного триазинов. *Токсикологический вестник*. 2019; (1): 39–42. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2019-1-39-42>
12. Антонович Е.А., Кaгaн Ю.С., Белоножко Г.А., Болотный А.В., Бурый В.С., Войтенко Г.А. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. Киев: 1988.
13. Хабриев Р.У., ред. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических средств*. М.; 2005.
14. Миронов А.Н., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., Журавлева М.В., Лепехин В.К. и соавт. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая*. М.: Гриф и К; 2012.
15. Павленко С.М. Применение суммационно-порогового показателя в токсикологическом эксперименте на белых крысах. В кн.: *Методики санитарно-токсикологического эксперимента: Сборник научных трудов МНИИГ им. Ф.Ф. Эрисмана*. М.; 1975: 5–7.
16. Анохин П.К. *Очерки по физиологии функциональных систем*. М.: Медицина; 1975.
17. Ноткин Е.Л. *Статистика в гигиенических исследованиях*. М.: 1986.

References

1. Khamidulina Kh.Kh., Dorofeeva E.V. Reproductive health and the dangers of substances acting through lactation. In: Popova A.Yu., Rakitskiy V.N., eds. *Materials of the All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation Dedicated to the 125th Anniversary of the Foundation of the Federal Scientific Center for Hygiene Named After F.F. Erisman. Hygiene, Toxicology, Occupational Pathology: Traditions and Modernity [Materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoy 125-letiyu osnovaniya Federal'nogo nauchnogo tsentra gigieny im. F.F. Erismana. Gigiena, toksikologiya, profpatologiya: traditsii i sovremennost']*. Moscow; 2016: 356–61. (in Russian)
2. The United Nations. A deep-Level harmonized system of hazard classification and labelling of chemical products (GHS). New York, Geneva; 2013.
3. Assessment of the toxicity and hazard of chemicals and their mixtures for human health: Manual. Moscow; 2014. (in Russian)
4. Khamidulina Kh.Kh., Dorofeeva E.V., Fesenko M.A. Present approaches to developing a national list of chemicals having an adverse effect on the reproductive system and development of posterity. *Toksikologicheskii vestnik*. 2014; (4): 2–17. (in Russian)
5. Regulation (EC) № 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) № 1907/2006.
6. Stockholm convention on persistent organic pollutants. Geneva; 2001.
7. Rakitskiy V.N., ed. *Toxicological and Hygienic Characteristics of Pesticides and First Aid for Poisoning*. Moscow; 2015. (in Russian)
8. Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M. Risk assessment of household chemicals product use for the population. *Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii*. 2019; 63(2): 61–5. <https://doi.org/10.18821/0044-197X-2019-63-2-103-107> (in Russian)
9. Rakitskiy V.N., Epishina T.M., Chkhvirkiya E.G., Sinitskaya T.A., Mukhina E.A. Assessment of toxicity and hazard of technical product of triazinone derivative. *Toksikologicheskii vestnik*. 2019; (1): 39–42. <https://doi.org/10.36946/0869-7922-2019-1-39-42> (in Russian)
10. Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M. Comparative toxicological study of six active substances of ditiocarbamate class pesticides. In: *7th International Conference. Biomaterials and Nanobiomaterials: Recent Advances Safety-Toxicology and Ecology Issues*. Heraklion, Crete, Greece; 2016.
11. Rakitskiy V.N., Chkhvirkiya E.G., Epishina T.M. Toxicological equivalence of desmedipham samples from different manufactures. In: *The 52nd European Congress of the European Societies of Toxicology*. Seville, Spain; 2016.
12. Antonovich E.A., Kagan Yu.S., Belonozhko G.A., Bolotnyy A.V., Buryy V.S., Voytenko G.A. *Methodological Guidelines for the Hygienic Assessment of New Pesticides [Metodicheskie ukazaniya po gigienicheskoy otsenke novykh pestitsidov]*. Kiev; 1988. (in Russian)
13. Khabriev R.U., ed. *Guide to Experimental (Preclinical) Study of New Pharmacological Agents*. Moscow; 2005. (in Russian)
14. Mironov A.N., Bunyatyan N.D., Vasil'ev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepikhin V.K., et al. *Guidelines for Conducting Preclinical Research of Medicinal Products. Part One [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya]*. Moscow: Grif and K; 2012. (in Russian)
15. Pavlenko S.M. Application of the summation threshold indicator in a toxicological experiment on white rats. In: *Methods of Sanitary-Toxicological Experiment: Collection of Proceedings of MNIIG im. F.F. Erisman [Metodiki sanitarno-toksikologicheskogo eksperimenta: Sbornik nauchnykh trudov MNIIG im. F.F. Erismana]*. Moscow; 1975: 5–7. (in Russian)
16. Anokhin P.K. *Essays on the Physiology of Functional Systems [Ocherki po fiziologii funktsional'nykh sistem]*. Moscow: Meditsina; 1975. (in Russian)
17. Notkin E.L. *Statistics in Hygienic Research [Statistika v gigienicheskikh issledovaniyakh]*. Moscow; 1986. (in Russian)
18. Toxicology. Bentazone. In: *FAO/WHO. Pesticide residues in food – 1991*. Geneva; 1991: 25–53.
19. EC. Review report for the active substance bentazone. Directorate E. Unit E1. Bentazone. 7585/VI/97-final. European Commission; 2000.
20. *The Pesticide Manual*. Alton, Hampshire: British Crop Production Council; 2015.