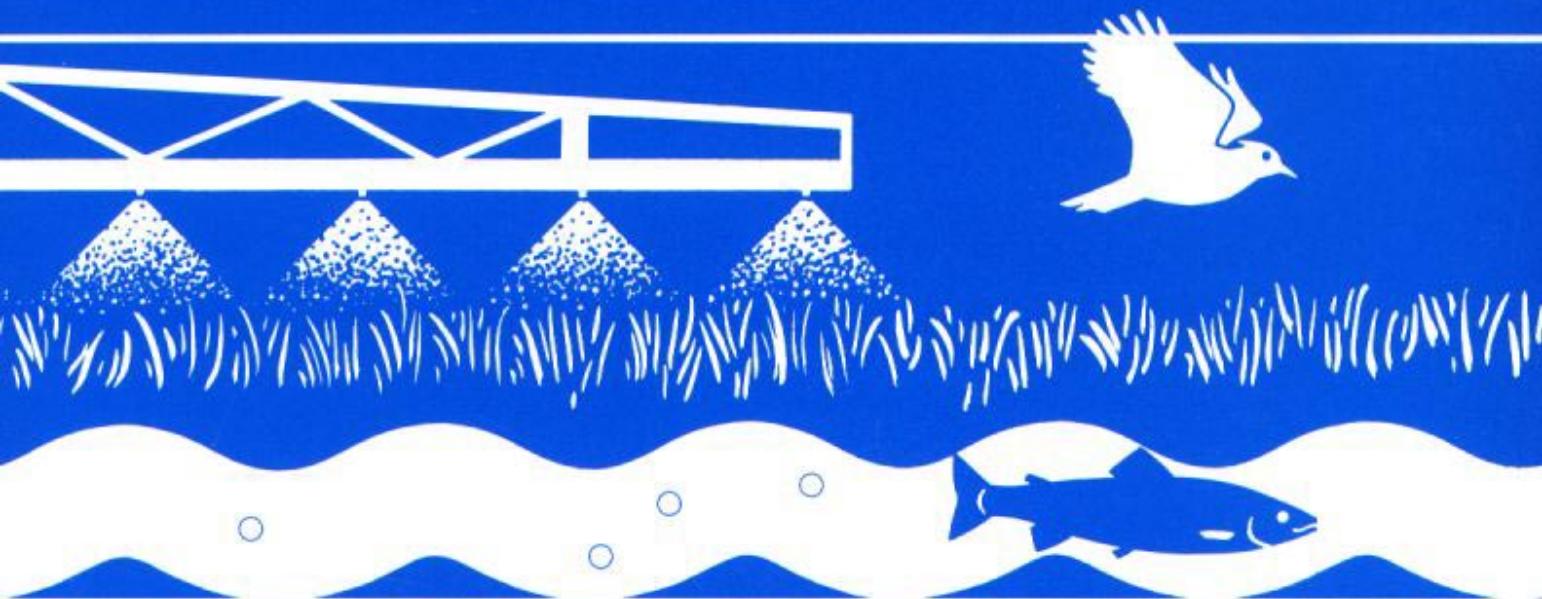


Bekæmpelses- middelforskning fra Miljøstyrelsen

Nr. 25 1997

Sædkvalitet og kromosomskader hos pesticideksponerede væksthusgartnere



Bekæmpelses- middelforskning fra Miljøstyrelsen

Nr. 25 1997

Sædkvalitet og kromosomskader hos pesticideksponerede væksthusgartnere

Annette Abell, Jens Peter Bonde og Erik Ernst
Århus Kommunehospital

Flemming Lander
Arbejdstilsynet

Lisbeth Ehlert Knudsen
Arbejdsmiljøinstituttet

Hannu Norppa
Institutet för Arbetshygien (Finland)

Miljøstyrelsen vil, når lejlighed gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

Forord 5

Sammendrag 7

English Summary 11

1 Baggrund 15

1.1 Pesticid eksponering i væksthuse 16
1.1.1 *Opsumming* 20

1.2 Pesticiders spermatoxositet 21
1.2.1 *Human* 21
1.2.2 *Dyreekspertimentelt* 22
1.2.3 *Sammenfatning* 23

1.3 Pesticider, kromosomskader og kræft 24

2 Formål og design 27

2.1 Formål 27

2.2 Design 27
2.2.1 *Tværsnitsstudiet* 27
2.2.2 *Det longitudinelle studie* 28

3 Studiepopulation 29

3.1 Etablering af undersøgelsesgruppen 29

3.2 Deltagelse 29

3.3 Selektion til undersøgelsen 30

3.4 Frafald 31

3.5 Beskrivelse af undersøgelsesgruppen 32
3.5.1 *Personrelaterede faktorer* 32
3.5.2 *Sædprøverelaterede faktorer* 34

4 Dataindsamling 35

5 Laboratorie analyser 37

5.1 Eksponeringsmål, plasma-cholinesterase 37
5.1.1 *P-cholinesteraseaktivitet* 37

5.2 Effektmål, sædstudiet, sædanalyser 38
5.2.1 *Volumen* 38
5.2.2 *Koncentration* 38

5.2.3	<i>Motilitet</i>	38
5.2.4	<i>Morfologi</i>	38
5.2.5	<i>Vitalstatus</i>	39
5.2.6	<i>Motilitet bestemt ved CASA</i>	39
5.3	Effektmål, sædstudiet, blodanalyser	39
5.3.1	<i>Kønshormon analyser</i>	39
5.4	Kromosomskade studiet	40
6	Beskrivelse af gartnerier	41
7	Eksponeringsbeskrivelse	47
7.1	Gartnerispecifikke	47
7.2	Personlig eksponering	49
7.2.1	<i>Livslang eksponering</i>	49
7.2.2	<i>Timer med plantekontakt</i>	49
7.2.3	<i>Arbejdsfunktioner</i>	49
7.2.4	<i>Personlig hygiejne</i>	49
7.2.5	<i>Plasma-cholinesterase aktivitet</i>	50
7.2.6	<i>Sprøjtning</i>	50
7.3	Arbejdsfunktion vurderet ved transferfaktor	50
8	Dataanalyse	55
8.1	Eksponeringmål, plasma-cholinesterase	55
8.2	Sædkvalitet	55
8.2.1	<i>Tværsnitsstudiet</i>	55
8.2.2	<i>Forløbsstudiet</i>	55
8.2.3	<i>Transformation</i>	55
8.2.4	<i>Confoundere</i>	55
8.2.5	<i>Koncentration i forhold til udvalgte confoundere</i>	58
8.2.6	<i>Statistisk analyse</i>	58
8.3	Kromosomskader	59
8.3.1	Effektmål	59
8.3.2	Analysestrategi	59
8.3.3	Kromosom afvigelser i relation til udvalgte confoundere	60
9	Resultater	61
9.1	Plasma-cholinesterase aktivitet	61
9.2	Sædkvalitet, tværsnits studie	62
9.2.1	<i>Sædkvalitet</i>	62
9.2.2	<i>Gartner og økologer</i>	63
9.2.3	<i>Livsekspionering</i>	64
9.2.4	<i>Gartner indeks</i>	67
9.2.5	<i>Personlige eksponeringmål</i>	68
9.2.6	<i>Arbejdsfunktioner klassificeret ved transferfaktor</i>	72

9.2.7	<i>Sprøjtere</i>	73
9.2.8	<i>Kønshormoner</i>	75
9.3	Sædkvalitet, longitudinelle studie	76
9.3.1	<i>Effektmål i de fire prøver</i>	76
9.3.2	<i>Fald i koncentration og eksponering</i>	77
9.3.4	<i>Ændring i vitalstatus</i>	82
9.3.5	<i>Ændring i morfologi</i>	82
9.3.6	<i>Ændring i motilitet</i>	83
9.4	Kromosomskader	83
10	Diskussion	91
10.1	Plasma-cholinesterase	91
10.2	Sædkvalitet	91
10.2.1	<i>Konsistens i relation til eksponering</i>	92
10.2.2	<i>Konsistens longitudinelle studie</i>	94
10.2.3	<i>Selektion</i>	95
10.2.4	<i>Den eksterne kontrolgruppe - økologerne</i>	96
10.2.5	<i>Confoundere</i>	96
10.2.6	<i>Sammenligning med andre undersøgelser</i>	97
10.3	Kromosomskader	98
11	Konklusion	103
	Referencer	105
	Bilag 1	111
	Bilag 2	113
	Bilag 3	117

Forord

Der har gennem en årrække været opmærksomhed om væksthusgartnerenes arbejdsmiljø. Interessen har knyttet sig til helbredseffekter som risiko for kromosomskader og kræft. Enkelte arbejdsmiljøpåvirkninger er i Danmark fundet relateret til nedsat sædkvalitet. Da en række pesticider er spermatotokiske, fandt vi det relevant at undersøge sædkvalitet hos pesticidekspónerede. Vi besluttede derfor i 1992 at gennemføre en undersøgelse af både kromosomskader og sædkvalitet hos væksthusgartnere.

Undersøgelsen blev finansieret af Miljøstyrelsen, og er foregået i perioden 1/7 1993 til 30/6 1996.

Projektgruppen bestod af:

Læge Flemming Lander, Arbejdstilsynet, Odense Kreds, ansvarlig for kromosomskadestudiet.

Læge Jens Peter Bonde, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus Kommunehospital, ansvarlig for sædstudiet.

Læge Annette Abell, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus Kommunehospital, projektkoordinator.

Læge Erik Ernst, Gynækologisk-obstetrisk afdeling, Århus Universitets-hospital, ansvarlig for sædanalyser.

Cand. Scient. Hannu Norppa, Arbejdsmiljøinstituttet, Helsinki, Finland, ansvarlig for kromosomskadeanalyser.

Cand. Scient. Lisbeth E. Knudsen, Arbejdsmiljøinstituttet, København, kromosomskade studiet.

Laboratoriearbejde er udført af:

Sygeplejerske Charlotte West, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus.

Laborant Herdis Brandstrup Andersen, Steno Centret, Aarhus Universitet.

Laborant Kirsten Lunding, Steno Centret, Aarhus Universitet

Laborant Jens Johnsen, Ålborg Sygehus.

Laborant Hillka Järventus, Arbejdsmiljøinstituttet, Helsingfors.

Indtastning er foretaget af cand. mag. Michael Christensen, og professor Michael Wæth, Institut for Biostatistik, Aarhus Universitet, har været statistisk konsulent.

Undersøgelsen blev gennemført som et samarbejdsprojekt med agronom E. Kirknel og agronom A. Nøhr Rasmussen, Statens Planteavlsforsøg i Flakkebjerg og Lyngby. De har stået for pesticidmålinger i udvalgte gartnerier.

Projektet er blevet fulgt af en styregruppe bestående af Thomas Back Lauritsen, Miljøstyrelsen (1/7 1993 til 31/8 1995), Lærke Ambo Nielsen, Miljøstyrelsen (1/9 1995 til 30/6 1996), Peter Bligård, BSR 10 (1/7 1993 til 29/2 1996), Flemming Haagen Madsen, BSR 10 (1/3 1996 til 30/6 1996), Jesper Lund Larsen BSR 10, Axel Stenvad Gartneribrugets Arbejdsgiverforening, E. Kirknel, A. Nøhr Rasmussen, Flemming Lander, Jens Peter Bonde og Annette Abell.

Projektet har undervejs mødt stor velvilje hos mange implicerede. I projektets opstart har vi haft glæde af hjælp fra Dansk Erhvervsgartner Forening til at afholde informationsmøder. Gartneribrugets Arbejdsgiverforening og Gartnerenes Fagforening, Århus og Odense har været behjælpelige med at udvælge gartnerier og Landsforening Økologisk Jordbrug gav tilladelse til dataindsamling på deres seminar. I forsøg på at rekruttere gartnerelever har også gartnerskolerne i Odense, Århus, Ålborg, Kolding og Holstebro været til hjælp.

Både de 30 deltagende gartnerier og alle deltagere har vist stor samarbejdsvilje, været meget fleksible og givet gode betingelser for dataindsamlingen. Desuden har både gartnerier og deltagere brugt mange ressourcer på diverse registreringer i forbindelse med projektet.

Tak til alle, der har bidraget til projektets gennemførelse.

Forfatterne

Sammendrag

Formål

Undersøgelsens formål var at vurdere, om pesticideksponering ved arbejde i danske væksthuse med prydplanteproduktion medfører kromosomafvigelser i T-lymfocytter eller påvirkning af sædkvalitet.

Baggrund

Der arbejder omkring 4500 mennesker i væksthuse med prydplanteproduktion i Danmark. De kan være utsat for pesticider ved håndtering af sprøjtede planter, ved at færdes i væksthusene (re-entry) og ved sprøjtning. De faktiske eksponeringsniveauer ved re-entry aktiviteter er dårligt belyste, men særlig hollandske undersøgelser tyder på, at der kan være en betydelig eksponering. En række faktorer er af særlig betydning for eksponeringen. Den dermale eksponering er væsentligere end den pulmonale, og håndeksponering er den væsentligste dermale eksponering. DFR (dislodgeable foliar residue) er afgørende for håndeksponering og afhænger af pesticid, formulering, nedbrydningforhold, sprøjtemetode, hyppighed af sprøjtninger og tid siden sidste sprøjtning. Håndeksponeringen afhænger desuden af kontakt med behandlede kulturer, håndvask og brug af handsker. En svaghed ved eksponeringsbestemmelsene er, at det er eksterne eksponeringsmål. Den interne eksponering af kroppens organer er stort set ikke kendt.

Enkelte pesticider er fundet human spermatotokiske, men ingen af disse er aktuelt i brug i danske væksthuse. En række af de midler der aktuelt bruges er spermatotokiske i dyreforsøg.

Strukturelle kromosomafvigelser synes at være associeret til senere risiko for udvikling af kræftsygdomme. Højeksponering for blandinger af pesticider indebærer øget risiko for kromosomskader og der er observeret øget kræftrisiko i pesticidudsatte erhvervsgrupper.

Undersøgelsesgruppen

I undersøgelsen deltog 122 beskæftigede i 30 gartnerier med produktion af prydplanter. 30 deltagere i Landsforening Økologisk Jordbrug var eksterne kontrolgruppe. Gartnerne afleverede 4 sædprøver, én hvert kvartal i 1994, og 3 blodprøver. De 2 blodprøver til bestemmelse af kromosomskader blev afleveret i marts og oktober 1994. Økologerne har afleveret 2 sædprøver, den første i februar 1994 på et seminar, den anden afhentet i hjemmet i 3. kvartal 1994. Økologerne har fået taget en blodprøve til bestemmelse af kromosomskader i februar 1994.

Undersøgelsen omfatter en tværsnitsundersøgelse og en longitudinell undersøgelse over sommeren, hvor pesticidforbruget er højest.

Gartnernes eksponering er beskrevet på flere forskellige niveauer ved en række mål for eksponering.

1. Gartneri indeks, baseret på gartneriforbrug af pesticider.
2. Personlige, historiske eksponeringsmål.

3. Personlige, aktuelle eksponeringsmål, herunder antal timer med planle kontakt, arbejdsfunktioner og personlig hygiejne.
4. Indeks for individuel dermal eksponering for pesticider udarbejdet på baggrund af arbejdsfunktioner, målinger i gartnerierne, gartneriets pesticidforbrug og kultur.
5. Udlægning af pesticider.

Metode

Sædanalyserne er foretaget i mobilt laboratorium på arbejdspladsen. Effektmålene omfatter koncentration, volumen, totaltal, % med normal morfologi, % levende, motilitet og kønshormoner. Motiliteten er bestemt både konventionelt og med videooptagelse og senere computer assisteret sperm analyse (CASA) af sædprøve.

Kromosomanalyser af lymfocytter er foretaget på Arbejdsmiljøinstituttet i Finland. Effektmålene i denne del af undersøgelsen var afvigelser på kromatider og kromosomer af typerne gaps, breaks og exchange.

Resultater, sæd

I tværnitsundersøgelsen foretaget om vinteren var de forskellige mål for sædkvalitet, særligt spermatozokoncentration, højere blandt gartnerere og økologer end blandt en række andre faggrupper undersøgt i Danmark i de senere år. Væksthusgartnerne som helhed har derfor ikke nedsat sædkvalitet. Gartnernes spermatozokoncentration var ca. 20% lavere end økologernes og andelen af "døde" sædceller var højere (OR 1.7). Økologerne adskiller sig fra gartnerne på en række områder, så forskellen kan ikke tolkes som forårsaget af forskelle i pesticideksponering. Der er imidlertid i undersøgelsen en række andre holdepunkter for, at pesticideksponering kan spille en rolle. I gartnergruppen intet fandtes at gartnerne, der har arbejdet mere end 10 år i væksthus med prydplanteproduktion, har ca. 35% lavere spermatozokoncentration end de, der har arbejdet der i mindre end 5 år. Når gartnernes arbejdsfunktion klassificeres på baggrund af pesticidmålinger og hensyntagen til mængden af pesticid, der overføres til huden ved håndtering af planter (transferfaktor), fandtes ringere sædkvalitet med stigende eksponering. De lavest eksponerede havde ca. dobbelt så høj koncentration som de højeksponerede og flere normale sædceller (OR 1.5). Desuden blev fundet nedsat koncentration ved dårlig håndhygiejne, median 29 mill/ml. Der blev ikke fundet relation mellem sædkvalitet og gartneriets pesticidforbrug eller den enkelte deltagers sprøjteaktivitet. I analyserne er taget hensyn til en række potentielle confoundere, relateret til deltagernes biologi (alder og tidligere urogenital sygdom), livsstilsfaktorer (rygning og arbejdsstilling) og sædprøverelaterede forhold (spild ved opsamling, abstinensstid, feber 3 mdr. før prøveopsamling).

I det longitudinelle studie af sædkvalitet fandtes for både gartnerere og økologer et kraftigt fald i koncentration over sommeren. Der var i flere eksponeringskategorier en tendens til at de mest eksponerede faldt mest, men forskellene i fald var ikke signifikante. Der fandtes et signifikant fald i andel morfologisk normale sædceller over sommeren hos gartnerne i forhold til økologerne. Faldet kan være en konsekvens af øget pesticid-eksponeringen for gartnergruppen som helhed hen over

sommeren. Men nok som konsekvens af de upræcise eksponeringbestemmelser, kan ændringen i andel normale sædceller ikke med sikkerhed relateres til øget eksponering.

*Resultater
kromosomskader*

I kromosomskadestudiet fandtes et øget antal gaps hos gartnerne sammenlignet med økologer. Intet i gartnergruppen blev observeret en stigning i antal gaps over "sprøjtesæsonen", måske som udtryk for en negativ helbredseffekt af denne. Den observerede stigning i gaps blev primært observeret hos gartnerne, som havde den ringeste arbejdshygiejne målt ved manglende brug af handsker og i en vis udstrækning også hos gartnerne med mindre end 4 daglige håndvaske. Også arbejdsfunktion klassificeret på baggrund af transferfaktorer kan måske have betydning for det observerede øgede antal skader af typen gaps.

Samlet konklusion

Den samlede undersøgelses resultater må tolkes med forsigtighed på grund af de grove og udokumenterede eksponeringbestemmelser. Der er aldrig tidligere i hverken Danmark eller udlandet foretaget lignende undersøgelser af sædkvalitet. Derfor er der behov for med andre uafhængige undersøgelser at bekræfte undersøgelsens vigtigste iagttagelse, nemlig at både kromosomskader og sædkvalitet var relateret til aktuel pesticid-eksponering. Det er for tidligt at sige, om dette har betydning for gartnernes frugtbarhed (evne til at få børn), men en særskilt undersøgelse af dette gennemføres i øjeblikket. De gartnerne, der synes at være eksponerede, så påvirkning af sædkvalitet og øget antal kromosomskader kan konstateres, er personer med dårlig hygiejne, og personer der klipper eller nipper stiklinger eller prikker. Derimod findes ingen effekt af sprøjteaktivitet.

Under de nutidige arbejdsforhold i Danmark synes eksponering ved sprøjting at være af mindre betydning end eksponering ved re-entry aktiviteter. Undersøgelsens resultater tilskynder derfor til øget indsats mod eksponering af væksthusgartnere ved håndtering af sprøjtede planter.

English Summary

With this study we wanted to evaluate if occupational pesticide exposure in Danish greenhouses with potculture cause chromosome aberrations i T-lymphocytes or decrease in semen quality. The investigation was made among employees in Danish greenhouses with potculture production. Approximately 4500 persons are employed in this area, and they are potentially pesticide exposed performing re-entry activities or applications. The exposure levels related to re-entry activities is not known very well, but especially investigations from Holland do find high exposure levels. Some factors are important determinants to the exposure. The dermal exposure are more important than the pulmonale. And hand exposure is the most important dermal exposure. DFR (dislodgeable foliar residue) is important in hand exposure. It depends on pesticide, formulations, degradation, frequency of applications, methods, and time since last application. The hand exposure also is highly dependent on contact to the cultures, hand washing and use of gloves. Still most exposure measurements relate to external exposure. Only little is known about the internal exposure.

A few pesticides are known as human spermatotoxic but none of these are in use in Danish greenhouses. In animal testing several of the pesticides in common use are confirmed as spermatotoxic, mostly among the fungicides.

Cytogenetic biomonitoring with chromosome aberrations in lymphocytes can be used to identify mutagen and/or carcinogen exposures. An increased number of chromosome aberrations seems to be associated to later risk of developing cancer. Studies indicate that exposure to mixtures of pesticides increases the risk of chromosome aberrations. Increased risk of cancer in occupationally pesticide exposed groups has been found.

In this study 122 greenhouse workers aged 18-45 participated. They worked in 30 different greenhouses. The external control group was 30 persons participating in a seminar organized by an organic producer organisation (member of organic association, abbr. MOA). The greenhouse workers delivered 4 semen samples, one each quarter in 1994, and 3 blood samples. Two blood samples used for investigation of chromosome aberrations was taken in March and October 1994. The members of the organic association delivered 2 semen samples, one in February 1994 at the seminar, and one at home i 3. quarter in 1994. One blood sample for investigation of chromosome aberrations was taken at the seminar.

This study include a cross sectional study in 1. quarter of 1994 and a longitudinal study across the summer where the use of pesticides culminate.

The exposure of the greenhouse workers are defined in different ways.

1. Index for pesticide use in each greenhouse.

2. Personal historic exposure.
3. Personal actual exposure, described in terms of hour contact to plants, job task and personal hygiene.
4. Individual dermal exposure assessments, based on job task, measurements in some greenhouses, greenhouse use of pesticides and culture.
5. Application.

The semen analyses were performed in a mobile laboratory at the site of the greenhouse. The effect measurements include density, volume, count, percent with normal morphology, percent live spermatozoes, motility and sexhormones. The motility was measured by conventional manual count and with video recording of semen samples and later computer assisted semen analyses.

In the chromosomeaberration study the blood samples was analyzed at the Institute of Occupational Health in Helsinki, Finland. The effect measurements were gaps, breaks and exchange.

In the cross sectional study of semen quality in winter the different effect measurements - especially the sperm density - were high among both greenhouse workers and MOA compared to other occupational groups studied in Denmark during recent years. Greenhouse workers as a group accordingly has not decreased semen quality. But the sperm density is about 20 % lower among greenhouse workers than among MOA, and OR for % dead spermatozoes is 1.7. The MOA differs from the greenhouse workers in many ways, and the difference in semen quality can not unequivocally be interpreted as a consequence of different exposure to pesticides. But in the study there are some support for assertions that pesticide exposure might be of importance. Among the greenhouse workers persons employed more than 10 years in greenhouse with potculture or cut flower production had 35 % lower sperm density compared to persons employed less than 5 years.

When the greenhouse workers job task was classified based on measurements made in some of the greenhouses and transferfactors decreased semen quality was associated to increased exposure. Those with the lowest exposure had twice as high sperm density as those with highest exposure, and more normal spermatozoes (OR 1.5). Also persons with poor hand hygiene had low sperm density, median 29. No association was found between semen quality and pesticide use in the greenhouse or applications. Different potential confounders was included in the models, age, previous urogenital diseases, waste in sampling the semen, time of continence, fever 3 months previous to semen sampling, smoking and working position.

In the longitudinal study of semen quality both greenhouse workers and MOA showed a marked decline in sperm density during the summer. In several exposure categories the tendency was that the most exposed had the biggest decline, but none of the differences were significant. There was a significant decline in number of spermatozoes with normal morphology among the gardeners compared to the MOA during the summer. The decline might be a consequence of increased pesticide exposure during the summer for the greenhouse workers as a whole. But as a consequence of

uncertain exposure measurements the differences could not be related to increased exposure among the greenhouse workers.

In the study of chromosome aberrations an increased number of gaps was found among the greenhouse workers compared to MOA. Among the greenhouse workers an increase in number of gaps during the "spraying season" was observed. The observed increase in the number of gaps was strongly related to persons not using gloves and with few daily handwashes. The exposure described by transferfactor index was weakly related to increased number of gaps.

The results in this study must be interpreted with care because of the weak and undocumented exposure measurements. There are no previous studies in Denmark or abroad comparable to the present study. Therefore there is a need for other independent studies to confirm the most important observation in this study, that both chromosome aberrations and semen quality was related to actual exposure. It is too early to tell if it has consequences for the greenhouse workers fertility or cancer diseases. A separate investigation of fertility among greenhouse workers this is made at the moment. The exposed greenhouse workers seems to be those with poor hygiene and persons performing certain job tasks. No association was found to application. Under present work conditions in greenhouses with potcultures the pesticide exposure related to application seems less important than exposure during re-entry activities. The results encourages increased action against pesticide exposure by handling pesticide treated cultures.

1 Baggrund

I Danmark arbejder ca. 6500 indenfor gartneri og planteskole og ca. 3000 indenfor skovbrug. Herudover er der ca. 67.000 landbrugsbedrifter og 13.000 medhjælpere i landbruget. Hvor stor en del af de beskæftigede indenfor disse grønne områder der selv sprøjter, vides ikke. Men antallet anslås til ca. 300 indenfor skovbrug, 1000 indenfor gartneri og ca. 30.000 indenfor landbruget. Hertil kommer ca. 1000, der udfører sprøjtning for maskinstationer. Indenfor maskinstation, gartneri og skovbrug kan sprøjtningen udgøre en væsentlig del af arbejdet, mens landmænd typisk kun sprøjter få dage/uger om året. For at sprøjte skal man i dag have sprøjtecertifikat, sprøjtek kompetance eller sprøjtebevis. Det har ca. 50.000. (1)

I 1950'erne registreredes akutte forgiftninger hos frugtplukkere, der ikke selv sprøjtede. Siden har man interesseret sig for pesticideksponering ved håndtering af behandlede kulturer og afgrøder, samt ved at færdes i områder, hvor der er udlagt pesticider. Disse eksponeringsveje går under fællesbetegnelsen re-entry.

I Danmark er risikoen for eksponering ved re-entry aktiviteter størst indenfor planteskole og gartneri. De 6500 der arbejder indenfor disse områder er potentelt pesticideksponerede ved almindelige arbejdsrutiner. Eksponeringen ved re-entry aktiviteter i væksthuse er større end udendørs, fordi arbejdet foregår i lukkede rum og kontakten til de behandlede kulturer er mere intens. Eksponeringen i væksthuse med prydplanteproduktion er større end ved grøntsagsproduktion, fordi pesticidforbruget her er størst.

Eksponeringen ved sprøjtning (når der i denne rapport skrives sprøjtning, dækker det alle typer udlægning) bestemmes alt overvejende af hyppighed, metode, beskyttelsesudstyr og personlig hygiejne. Der er i Danmark krav om brug af beskyttelsesudstyr ved udlægning af pesticider (afhængig af fareklasse og metode). Derimod har der ikke hidtil været så stærke traditioner for at beskytte sig mod eksponering ved re-entry aktiviteter.

Udgangspunktet for denne undersøgelse var, at der i Danmark er mange beskæftigede i væksthuse med prydplanteproduktion, og at eksponeringen ved re-entry aktiviteter her kan være betydelig.

Vi vurderer, at det er en af de erhvervsmæssigt mest pesticid eksponerede grupper i Danmark i dag.

(1) Kilde: Mogens Kjeldal, Danske Maskinstationer, Vejle.
Flemming Madsen, konsulent, Jordbrugets efteruddannelses udvalg, Risskov.
Bjarne Volmar, SID, Gartner afd. Århus.

I det følgende gennemgås nogle af de undersøgelser, der kan beskrive eksponeringen ved re-entry aktiviteter i væksthuse. I nogle undersøgelser sammenlignes denne eksponering med eksponeringen ved udlægning.

Bagefter gennemgås den viden vi har om pesticid eksponering og de helbredseffekter, vi har ønsket at vurdere i denne undersøgelse, geno- og spermatotokiske effekter.

1.1 Pesticideksponering i væksthuse

Væksthus, Holland

Siden begyndelsen af 1990'erne har TNO i Holland publiceret resultater af en række undersøgelser, der har haft til formål at beskrive pesticid eksponeringen blandt væksthusarbejdere (5,6,8,86). Man har ønsket at beskrive luftkoncentrationer efter tågesprøjtning, respirabel og dermal eksponering ved re-entry aktiviteter, samt i mindre grad at sammenligne denne eksponering med eksponering ved udlægning af bekæmpelsesmidler. Undersøgelserne er foretaget i væksthuse med produktion af roser og nelliker som snitblomster. De analyserede pesticider er abamectin, bupirimate, dodemorph, chlorothalonil, thiram, zineb, dichlorvos og thiophanate-methyl.

Luftmålinger

Tre timer efter tågesprøjtning fandt man, at luftkoncentrationen for dichlorvos var ca. 1000-1500 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, og for thiophanate-methyl ca. 100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. For begge stoffer faldt koncentrationen derefter ved udluftning. Det konkluderes, at hvis man efter tågesprøjtning venter 3 timer og derefter lufter ud i en time, vil pesticid niveauet være så lavt, at det ikke skulle indebære helbredsrisiko at arbejde der. For flygtige stoffer tilrådes dog en længere udluftning.

Respirabel

Den respirable eksponering ved håndtering af blomsterne efter uddrysnings af thiram og zineb og efter højtrykssprøjtning med chloro-thalonil (et lille pilotforsøg) blev undersøgt. Efter højtrykssprøjtning var eksponeringen under detektionsgrænsen. Efter uddrysnings fandt man koncentrationer i størrelsen 0.04-0.1 mg/m^3 . Ved begge disse udlægningsmetoder fandt man højere eksponering ved udlægning end ved re-entry aktiviteter, 0.04 mg/m^3 (sprøjtning) og 0.67 mg/m^3 (uddrysnings).

Dermal

Den dermale eksponering er estimeret ved handskemål. Der er brugt lange bomuldshandsker (areal af en side 740 cm^2 , og de beskrevne mål er hvad der er afsat på hele handsken). Handskemål overestimerer eksponeringen sammenlignet med hvad man f.eks. finder ved håndvask. Men i undersøgelserne har man ønsket at vurdere eksponeringen ud fra den værst tænkelige situation, hvorfor det ikke vurderes som et større problem. Den dermale eksponering ved håndtering af nelliker findes i størrelsen 10 mg/time (på hele handsken) og varierer kun lidt mellem de 4 pesticider, der er målt.

Ved håndtering af roser findes et eksponeringsniveau på ca. 2 mg/time (dodemorph og bupirimate) og for abamectin 13 $\mu\text{g}/\text{time}$. Forskellen til eksponeringsniveauet ved håndtering af nelliker forklares ved at der på grund af snittemetoden er mindre kontakt til planten, når man snitter roser (beskærersaks), end når man snitter nelliker (kniv).

DFR

Forskellene i dermal eksponeringen kan i høj grad kan forklares ved forskelle i DFR (dislodgeable foliar residue, $\mu\text{g}/\text{cm}^2$). Ved DFR forstås

	mængden af pesticid på planten, der kan fjernes (afvaskes ved beskrevne metoder). I dette studie afhænger DFR af hyppighed af sprøjtninger og det anvendte pesticid.
<i>TFR</i>	TFR (transferfaktor) er hældningskoefficienten på den regressionslinie, der kan beregnes for plot af håndeksponering mod DFR. Den er således et mål for sammenhæng mellem flytbar pesticidrest på planten og den dermale eksponering af hænder ved forskellige arbejdsfunktioner. Den måles i cm^2/time , og er et mål for hvor stort et areal af "pesticidbærende" plante/afgrøde man er i kontakt med ved en given arbejdsproces. TFR er udviklet for uden personmålinger - men med kendskab til DFR - at have et mål for eksponering ved forskellige arbejdsprocesser i en bestemt kultur. TFR afhænger bl.a. af pesticid, kultur, arbejdsproces og sprøjtemetode. I forsøgene fra TNO findes transferfaktorer i størrelsen 1200-4500 cm^2/time målt på pesticiderne abamectin, dodemorph og bupirimate ved håndtering af roser og 4500 cm^2/time for chlorothalonil, thiophanatemethyl, thiram og zineb under ét ved håndtering af nelliker. Forfatterne konkluderer, at der finder eksponering sted ved respiration, men den dermale eksponering er af langt størst betydning. Eksponeringen ved re-entry aktiviteter i væksthuse er betydelig og udgør et større problem end eksponering ved sprøjtning. Sprøjtninger foretages af få personer og i kort tid, hvorimod eksponeringen ved re-entry aktiviteter foregår over længere tid, er ret høj og inddrager mange.
<i>Konklusion</i>	
<i>Væksthus, Finland</i>	I en finsk undersøgelse fra 1988 (54) undersøgte man luftkoncentrationer efter rygning med pirimicarp, svovl og nicotine.
<i>Luftkoncentration</i>	Koncentrationen af pirimicarp var efter en halv time 1.2 mg/m^3 og faldt til under detektionsgrænsen på 3-4 timer. Svovl faldt til 0.7 mg/m^3 efter 4 timer, derefter langsomt og forsvandt først efter udluftning. Nicotine faldt efter 8 timer til 0.5 mg/m^3 , der er den finske grænseværdi, og først efter 2 timers udluftning var nicotinen umålelig.
<i>Dermal</i>	Efter håndtering af roser fandt man ved handskemål hhv. 1.1 mg/cm^2 og 0.48 mg/cm^2 . Der er ikke opgivet handskemål eller tid.
<i>Konklusion</i>	Konklusionen på denne undersøgelse er, at rygning skal foregå om aftenen. Om morgenens skal udluftes i 2 timer før der arbejdes i huset. Under arbejdet skal bruges handsker.
<i>Væksthus, Finland</i>	I en anden finsk undersøgelse fra 1993 (39) indgår 8 væksthuse med produktion af forskellige kulturer, sommerblomster, roser, liljer, og krysantemum. Det fremgår ikke, om der er tale om pottekulturer eller snitblomster. Der er målt på pesticidet mevinphos.
<i>Dermal</i>	Den dermale eksponering af hænderne blev bestemt ved skyldning/vask i etanol, begge hænder adskilt, 5 gange daglig. Derudover blev der målt på patch anbragt både udenfor og indenfor tøjet. Patchene var placeret på underarme, ryg og bryst. Ved håndvask fandt man ved håndtering af kulturer 17-22 timer efter sprøjtning et niveau for eksponering i størrelsen 0-15 $\mu\text{g}/\text{time}$. Nogle anvendte handsker, andre ikke. Personer, der brugte handsker, var mindre eksponerede end personer, der ikke brugte handsker. Ved patch målinger findes målbare koncentrationer i størrelsen 5 $\mu\text{g}/\text{time}/\text{m}^2$ efter 1-2 døgn.
<i>DFR</i>	I dette studie kan den dermale eksponering i høj grad forklares ved DFR, og at DFR er afhængig af sprøjtemetode.

<i>Luftkoncentration</i>	<p>Luftkoncentrationen 9-12 timer efter tågesprøjtning var i størrelsen 4-10 µg/m³ (den finske grænseværdi for mevinvos er 100 µg/m³). Den gennemsnitlige luftkoncentration i åndingszonen var 2 µg/m³ den 1. dag efter sprøjtning og 0.9 µg/m³ den 2. dag. Under sprøjtningen var den gennemsnitlige koncentration 4 µg/m³.</p> <p>Niveauet af dermal eksponering ved re-entry aktiviteter er i dette studie lavere end i de hollandske. Det kan være en konsekvens af de forskellige opsamlingsmetoder, og endvidere nedbrydes mevinvos hurtigt på planterne i modsætning til nogle af de pesticider, der er målt af TNO.</p>
<i>Konklusion</i>	<p>Konklusionen er, at den dermale eksponering er den mest betydningsfulde, både ved sprøjtning og re-entry aktiviteter. Den almindelige praksis at sprøjte om aftenen finder de forsvarlig, hvis der luftes godt ud om morgenens, og der arbejdes med lange ærmer/bukser og handsker de første to dage.</p>
<i>Væksthus, Canada</i>	<p>I en canadisk undersøgelse (1) er brugt VITAE (video imaging technique for assessing exposure).</p> <p>Fluorescerende sporstof sprøjtes ud sammen med pirimicarp, herefter følges nedbrydningen af de 2 stoffer på planterne og efter 36-48 timer håndteres planterne. De første timer findes nogenlunde lige store mængder sporstof og pirimicarp på planterne. Der er en tendens til at pirimicarp nedbrydes hurtigere på planterne end sporstof.</p>
<i>Dermal</i>	<p>Af det sporstof, der afsættes på kroppen, afsættes det meste på hænderne (42%). Den mængde sporstof der måles på hænderne er efter 1 times håndtering af planterne fra 28-183 µg, gennemsnit 88 µg.</p>
<i>Urinmetabolitter</i>	<p>Ud fra en antagelse af, at ca. 5% af den dermale eksponering for pirimicarp vil optages, forventede man at finde metabolitter i urinen. Der blev målt 4 døgns døgnuriner på 4 personer, men ikke fundet pirimicarp metabolitter.</p>
<i>Konklusion</i>	<p>Canadierne konkluderer, at de lave doser der findes på hænderne og det negative urinfund tyder på, at det re-entry interval man har sat til 36-48 timer giver høj beskyttelse mod eksponering. Da det meste sporstof afsættes på hænderne, giver det god mening at have en god håndhygiejne, alternativt brug af handsker, hvis det ikke er for ubehageligt.</p>
<i>Planteskole, USA</i>	<p>Den største undersøgelse til beskrivelse af eksponering ved re-entry aktiviteter (49) er gennemført i udendørs i nåletræsplanteskoler i USA. Formålet var at belyse pesticideksponeringen primært ved re-entry aktiviteter, men også for sprøjtere. Studiet forløb over et år. Der blev analyseret DFR (6238 analyser), patch (6702 analyser), håndskylning (6235) og døgnurin (3134). Kun lidt over 8% af DFR analyserne var over detektionsgrænsen. I overensstemmelse hermed fandtes der ikke høje eksponeringer ved re-entry aktiviteter. Patch blev placeret forskellige steder på kroppen, både indenfor tøjet og udenpå. Ved analyse af patch findes ca. 2% over detektionsgrænsen, og af disse var over 66% fra sprøjtere. Der blev foretaget urinanalyser på de 8 pesticider, hvor man har viden om metabolisering og forventer udskillelse af metabolitter i urin. Ud af 3134 analyser findes 42 over detektionsgrænsen, og af disse stammer de 28 fra sprøjtere (skønt sprøjterne kun udgør 5 ud af de 73 deltagere). Det konkluderes, at eksponeringen ved re-entry</p>

aktiviteter var lav. Da der var sprøjtere, der ikke har positive urinprøver konkluderes, at det var muligt at sprøjte uden eksponering.

Frugtplakkere

Efter man var blevet opmærksom på problematikken omkring pesticid eksponering ved re-entry aktiviteter blandt frugtplakkere, blev man klar over at DFR er af stor betydning for eksponeringen (30). Der er gennemført en lang række studier blandt frugtplakkere for at beskrive eksponeringen og udarbejde sikre re-entry intervaller. Der var imidlertid ret store problemer med at fastsætte sikre re-entry intervaller, fordi eksponeringen tilsyneladende svingede meget. I forsøg på at forudsige eksponeringen, interesserede man sig for forholdet mellem dermal eksponering og DFR. Man udarbejdede transferfaktorer for re-entry aktiviteter i forskellige afgrøder. Hvis transferfaktoren var kendt, kunne man ved målinger af DFR slutte sig til den dermale eksponering (18,53,66,98).

*Væksthus, Danmark
Cholinesterase*

Der foreligger ingen undersøgelser af pesticideksponering i danske væksthuse. I en dansk undersøgelse har man brugt plasma-cholinesterase som indikator for belastning af cholinesterasehæmmende pesticider (47). 204 ikke sprøjtede gartner og 360 folkeskolelærere indgik i undersøgelsen. Deltagernes plasma-cholinesterase blev sammenlignet vinter og sommer. Hos gartnerne fandtes et signifikant fald i plasma-cholinesterase i sommerperioden. Dette fandtes ikke hos kontrolgruppen. Konklusionen på den danske undersøgelse er i overensstemmelse med de udenlandske, at eksponeringen overvejende er dermal og måske oral. En lignende undersøgelse blev gennemført blandt gartner der sprøjtede. Man ønskede at vurdere hvilke faktorer, der havde betydning for eksponeringen ved sprøjtning. Det at bære heldragt, var det eneste beskyttelsesmiddel man fandt kunne mindske påvirkning af plasma-cholinesterase (44).

Dermal/intern

Den dermale håndeksponering, bestemmes ved mål på handsker eller hænder. Handskemål vil som tendens overestimere eksponeringen, håndvask måske underestimere (18,24). Patch bruges også, men typisk til at bestemme den dermale eksponering andre steder på kroppen. Det største problem ved alle metoder er, at eksterne eksponeringsmål og relation til intern eksponering, er dårligt kendt. Mange faktorer har betydning for hudabsorbsjonen (27).

Væksthus, Holland

Der er ved TNO i Holland foretaget et studie i væksthuse, der undersøger sammenhæng mellem dermal og intern eksponering ved re-entry aktiviteter (7). Der blev målt på propoxur. Den dermale eksponering blev bestemt ud fra transferfaktor, arbejdstid og målinger af DFR. Transferfaktoren blev ikke bestemt i studiet, men taget fra et andet TNO studie med samme arbejdsfunktioner. De nævner kort, at transferfaktoren er afhængig af mange faktorer, men vurderer, at den kan bruges som en repræsentativ gennemsnitsværdi. Den interne eksponering blev bestemt ved målinger af metabolitten 2-isopropoxyphenol. 83% af propoxur omdannes til denne metabolit. De fandt relation til intern eksponering mellem både dermal og pulmonal eksponering. Men den dermale eksponering var vigtigst (mindst 80%). De finder, at den gennemsnitlige interne eksponering for propoxur er ca. 253 µg/dag (7.5-899 µg/dag). De tog dog som udgangspunkt, at den orale eksponering var 0. De øvrige studier, der har undersøgt dermal og intern eksponering

ved re-entry aktiviteter, har kun fundet få positive fund ved de interne målinger (1,49).

Frugtavlere, Holland

Et andet nyere studie fra TNO (14) har undersøgt sammenhængen mellem eksterne og interne eksponering ved sprøjtning. Det er foretaget på 14 frugtavlere, der sprøjtede. De målte på captan metabolitten THPF i urin og fandt ingen relation til den respirable eksponering, men korrelation til dermal eksponering af nakke og ankler bestemt ved patch. De fandt ingen korrelation til total dermal eksponering, og foreslår, at man interesserer sig mere for eksponeringen de steder hvor huden er mest permeabel. De nævner, at i forbindelse med reproduktionsstudier er det måske relevant at vurdere eksponeringen af scrotum, hvor huden er meget permeabel. De fandt THPI niveauer på gennemsnitligt 11,5 µg på 24 timer og 18,4 µg på 48 timer, men eftersom kinetikken ved udskillelsen ikke er kendt, kan det ikke bruges til at sige noget om den absolute eksponering.

Sprøjtere

1.1.1 Opsummering

Personer der blander, sprøjter og rengør sprøjteudstyr har en potentiel risiko for eksponering for pesticider. Med brug af korrekte teknikker, beskyttelsesudstyr og god personlig hygiejne kan eksponering i stor udstrækning undgås.

Re-entry interval

Airconcentrationen efter sprøjtning er beskrevet for nogle sprøjtemetoder og midler, men ikke alle. I de undersøgelser der er gennemgået, sættes re-entry intervallet mellem 1/2 til 3 dage. De korte intervaller suppleret af grundig udluftning 1-2 timer før der arbejdes i væksthuset. Nogle tilråder fortsat udluftning ved arbejde med flygtige stoffer. Indenfor det første døgn er der fundet sekundær stigning i pesticidkoncentration i luften ved aktiviteter i væksthuset.

Dermal eksponering

Der er enighed om, at den dermale eksponering ved re-entry aktiviteter sammenlignet med den pulmonale, er den mest betydningsfulde. Men viden om i hvor høj grad eksterne, dermale eksponeringmål afspejler interne eksponering, er meget sparsom.

Vi ved at følgende faktorer har betydning for den eksterne dermale eksponering ved re-entry aktiviteter.

- DFR, den flytbare pesticid rest på kulturerne. Den afhænger bl.a. af pesticidtyper, sprøjtehyppighed, sprøjtemetode, og tid sidste sprøjtning.
- Intensiteten af kontakt med behandlede kulturer.
- Brug af handsker og hyppighed af håndvask.

1.2 Pesticiders spermatotoksitet

1.2.1 Human

Spermatogenesen

Spermatogenesen, udviklingen fra den første deling af stamcelle til spermatozo tager hos mænd ca. 72 dage. Fysiske og kemiske påvirkninger kan forstyrre på alle trin i denne proces. Påvirkning andre steder i kroppen, f.eks. hypothalamus, hypofyse, kan også have betydning for spremiogenesen. En række påvirkninger i arbejdsmiljøet har kendt effekt på spremiogenesen (4). En skadelig påvirkning kan registreres på forskellig måde blandt andet ved ændring i antal, udseende, bevægelighed og levedygtighed af spermatozoer. For nogle miljøpåvirkninger er virkningsmekanismene kendt. Dermed ved man i højere grad hvilken effekt man kan forvente, og hvor lang tid efter eksponering den kan ventes af indtræffe. En påvirkning sent i spremiogenesen kan vise sig efter få uger, og vil typisk være en forbigående effekt. Påvirkning på stamcelleniveau vil først ses efter 2-3 måneder, og kan medføre blivende skade. Påvirkning af spermatogenesens næringsceller, Sertolicellerne, kan påvirke alle trin af spermatogenesen, men kan også medføre blivende skade.

Fem pesticider har i undersøgelser vist spermatotoksiske effekter hos mennesker. Det er 1,2 dibromo-3-chloropropane (DBCP), ethylene dibromid (EDB), chlordancone, carbaryl og 2,4 dichlorphenoxyxsyre (2,4 D).

DBCP

DBCP er det mest velundersøgte (23,26,53,56,67,68,79,85,92,93). Der er beskrevet spermatotoksk virkning ved eksponering både ved produktion og ved sprøjtning. Virkningen er i hver tilfælde på stamcelle niveau, men måske påvirkes også andre stadier af spremiogenesen. En række eksponerede har permanent azoospermia, men hos nogle forbedres sædkvaliteten ved eksponeringsophør.

Chlordancone

For Chlordancone er der hos personer med forgiftning fundet mindre end 25 mill. motile spermatozoer i 19 ud af 20 sædprøver, hvor koncentration af chlordancone i blod var over 1000 ng/ml. I prøver, hvor koncentration af chlordancone var mindre end 1000 ng/ml, sås mindre end 25 mill hos 7 ud af 21 (15).

EDB

Arbejdere, der gennem flere år havde været utsat for ethylene dibromid (EDB) ved rygning af papaya, blev sammenlignet med arbejdere på en sukkerfabrik. Der blev fundet nedsat antal sædceller pr. ejakulat, øget andel med unormal morfologi og øget andel døde og ubevægelige sædceller hos de EDB eksponerede (70).

Carbaryl

En gruppe arbejdere på en virksomhed, der fremstillede carbaryl, blev først undersøgt af Whorton med en historisk kontrolgruppe. Der blev ikke fundet tegn til påvirkning af sædkvalitet i relation til eksponering. Gruppen blev senere re-analyseret med brug af en ny kontrolgruppe af nyligt ansatte. I den undersøgelse blev der fundet øget andel med unormal morfologi blandt de eksponerede, men ikke dosisresponse sammenhæng (95).

2,4 D. En nyere undersøgelse sammenligner landmænd, der sprøjter og er eksponerede for 2,4 dichlorphenoxy-syre, (2,4 D) med en ueksponeret gruppe. Eksponeringen er dokumenteret ved urin målinger af 2,4 D. Der findes hos de eksponerede nedsat spermatozokoncentration og øget andel med unormal morfologi (51).

Danmark Ifølge Miljøstyrelsen har DBCP, EDB og Chlordecone ikke været brugt i Danmark i større udstrækning. Carbaryl er ikke længere godkendt. 2,4 D er et ukrudtsmiddel og bruges ikke indendørs i gartnerier.

1.2.2 Dyreeksperimentelt

Litteratursøgning En række af de midler, der bruges i danske gartnerier, er spermatotoksiske i dyreforsøg.

Der er lavet litteratursøgning på Medline, Toxline (1994 og 1995), Embase og Occupational Safety and Health (1995). Søgeprofil: Sperm eller testis eller testes eller male eller fertilit* og CAS nr. eller engelsk navn på de 60 pesticider der er i brug i de 30 gartnerier, der indgår i denne undersøgelse. Via de rekvirerede artikler er andre relevante referencer indhentet.

Af bilag 1 fremgår hvilke pesticider, der er fundet spermatotoksiske i dyreforsøg. Med mutagen menes mutagen ved én af de 3 "golden standards" til beskrivelse af mutation i det mandlige genom, dominant lethal, specific locus og heritable translokation test.

For en lang række pesticider findes der ikke relevante undersøgelser. Og kun for få er virkningsmekanismene klarlagt.

Benomyl og carbendazim Benomyl og carbendazim er velundersøgte, og virkningsmekanismene i stor udstrækning beskrevet. Stofferne binder sig til tubulin og hindrer tubulin polymerisation. Tubulin har betydning for mange cellulære funktioner, blandt andet celledeling og intracellulær transport. Den tidligste effekt der ses ved eksponering for benomyl og carbendazim er præmatur frigivelse af kimceller. Det forårsager lukning af efferente ductuli, med ophobning i lumen og udvidelse af ductuli til følge. Senere opstår inflammatoriske reaktioner og nekrose, der fører til fibrose af vævet. Det øgede tryk medfører øget testisvægt og nedsat blodgennemstrømning, og senere atrofi af ductuli seminiferous (58).

De senere år er der gennemført studier hvis resultater tyder på, at det er påvirkning af tubulin i Sertolicelleme der medfører at disse ændrer facion og dermed forårsager den præmature frigivelse af kimceller (60).

Thiram Også thiram forårsager præmatur frigivelse af kimceller og tubulær degeneration, men virkningsmekanismerne er herudover ikke kendte.

Vinclozolin og iprodion For vinclozolin er virkningsmekanismerne velbeskrevne. Det er påvist, at 2 metabolitter af vinclozolin, [(3,5-dichlorophenyl)-carboxyl]-2-hydroxy-2-methylbuten syre og 3',5'-dichloro-2-hydroxy-2-methylbut-3-enanilide binder sig til den androgene receptor med stor affinitet. De har derfor antiandrogen virkning. Iprodion, der er et dicarboximid som vinclozolin, hæmmer testosteronsyntesen og har i mindre grad affinitet for androgenreceptorer (Miljøstyrelsens grundvurdering).

<i>Klorerede organoforbindelser</i>	For de klorerede organoforbindelser er en af virkningsmekanismene påvirkning af steroid syntesen.
<i>Organofosfater</i>	Dichlorvos er det eneste organofosfat, der er i brug i gartnerierne, der foreligger spermatotokiske oplysninger om. De refererede undersøgelser har ikke en kvalitet, der muliggør konklusion om eventuelle virkningsmekanismer.
<i>Resten</i>	For de øvrige pesticider beskrevet i Bilag 1 er det et fællestræk, at de er mutagene i det mandlige genom.
<i>LOEL og eksponering i væksthuse</i>	De niveauer, der er fundet for NOEL og LOEL, kan relateres til de eksponeringsniveauer, der ses ved re-entry aktiviteter i prydplantergartnerier. Det højeste mål, der er fundet for ekstern håndbelastning, er målt af TNO til ca. 10 mg/time, men med enkelte målinger op mod 100 mg/time. De eneste interne mål, der er over detektionsgrænsen, er ligeledes fra TNO på propoxur metabolitten IPP. Man mener, at 83% af propoxur udskilles som IPP og finder et gennemsnitligt niveau på 253 µg/dag.
<i>Worst case</i>	Med udgangspunkt i de højeste målte niveauer, når man op på en ekstern dagseksposering af hænder på 80 mg. Ved 100% absorption svarer det til ca. 1.3 mg/kg lgv/dag for en 60 kg. person. For DBCP er det kendt, at den humane spermiogenese er ca. 10 gange mere følsom end visse gnaveres. Hvis denne faktor medregnes, er der i væksthuse tale om et eksponeringsniveau, hvor human spermatotokisk påvirkning ikke er utænkelig.
<i>Interne mål</i>	Hvis man tager udgangspunkt i de interne pesticid mål af IPP, er niveauet et andet. 253 µg/dag svarer til ca. 4 µg/kg lgv/dag for en person, der vejer 60 kg. Hvis der indregnes en sikkerhedsfaktor på 10 for større human følsomhed, er der "plads" til en sikkerhedsfaktor i størrelsen 50-100 før laveste LOEL i dyreforsøgene nås. Men eksponeringen er et internt mål, og kan deraf ikke uden kendskab til bl.a. absorption sammenlignes med værdierne i dyreforsøgene. Disse vurderinger er foretaget ud fra daglig eksponering/udskillelse. Vi kan imidlertid ikke tage for givet, at der ikke sker akkumulering af nogle af stofferne. Specielt kan det være tilfældet med de klorerede organoforbindelser. Vi har ikke søgt efter undersøgelser, der beskriver human pesticid akkumulering, men er stødt på en enkelt undersøgelse, hvor man beskriver fund af lindan i humane testikler (84). Det fremgår ikke, hvilke personer der er undersøgt.

1.2.3 Sammenfatning

Af de pesticider, der er i brug i gartnerierne i denne undersøgelse, er det overvejende svampemidler og de klorerede organoforbindelser, der er fundet spermatotokiske i dyreforsøg. Der er store usikkerheder forbundet med at bestemme eksponeringen i væksthuse. Men ud fra den tilgængelige viden kan eksponeringen have en størrelse, så human spermatotokisk påvirkning ikke er utænkelig.

1.3 Pesticider, kromosomskader og kræft

Kræftproces kromosomskader

Miljøbetingede karzinogene (kræftfremkaldende) årsager kan bl.a. undersøges ved at observere kræfthyppigheden i eksponerede erhvervsgrupper som sammenlignes med hyppigheden i "normalbefolkningen". Det grundlæggende problem med denne undersøgelsesmetode er, at den ikke identificerer aktuelle årsagssammenhænge, men eksponeringer af historisk karakter. Det tager nemlig mellem 10-20 år eller længere tid fra man udsættes for de kræftfremkaldende stoffer til kræftsygdommen erkendes. For pesticider, hvor forbruget og forbrugsmønsteret til stadighed undergår store forandringer, indebærer undersøgelsesmetoden derfor særlige vanskeligheder med at forudsige kræftrisici ved aktuelle eksponeringer.

I processen og udviklingen af kræftsygdomme indgår kromosomal (DNA) mutationer. Det er dokumenteret, at velbeskrevne kræftfremkaldende eksponeringer f.eks. radioaktiv stråling og tobaksrøg, inducerer forskellige målbare ændringer på humane cellers kromosomer. Cytogenetiske undersøgelser af kromosomforandringer i humane celler udgør derfor en praktisk mulighed for at identificere og vurdere mutagene og/eller karzinogene påvirkninger længe før den egentlige kræftsygdom udvikles. Af denne grund er cytogenetisk biomonitorering blevet mere og mere benyttet som overvågning af genotoksk eksponering i bl.a. arbejdsmiljøet. Det centrale ved disse tests er, at de overvejende synes at afspejle aktuelle genotokiske eksponeringsforhold og at de på gruppeniveau prædikterer (sandsynlig forudsigelse) risiko for udvikling af kroniske lidelser på længere sigt (25,62,82).

Cytogenetiske skader

De i praksis anvendte testmetoder omfatter analyse af kromosomafvigelser, søsterkromatidudvekslinger (SCE) og mikrokerner i humane celler. Langt de fleste af disse undersøgelser udføres på bestemte blodceller (lymfocytter), der enkelt og let kan udtages ved en blodprøve. Lymfocytter benyttes bl.a. ud fra en antagelse om, at forandringer i disse celler også afspejler, at samme forandringer hypotetisk kan udvikles i andre af kroppens celler og organer, herunder målorganerne for respektive genotokiske eksponeringer.

Kromosomskader

I denne undersøgelse er pesticiders genotokiske effekter målt ved hyppigheden af strukturelle kromosomafvigelser i blodets lymfocytter. Disse effektmål er valgt fremfor søsterkromatidudvekslinger (SCE) og mikrokerner i lymfocytter, fordi kromosomafvigelser mest markant synes associeret til senere kræftudvikling. I en internordisk forløbsundersøgelse af godt 3000 personer, hvoraf nogle var udsat for mistænkte kræftfremkaldende stoffer i arbejdsmiljøet, blev observeret en fordoblet kræfthyppighed hos dem, der havde det højeste antal kromosomafvigelser, mens øget hyppighed af SCE ikke var associeret med større kræftrisiko (62).

Eksperimentelle undersøgelser

Eksperimentelle forsøg med cellekulturer fra pattedyr eller mennesker tilsat forskellige isolerede pesticider har vist, at en række organofosfater, karbamater, polyklorerede insekticider og fungicider kan inducere forskellige typer af cytogenetiske abnormiteter, herunder kromosomaf-

vigelser. Ofte har der været tale om dosisafhængige genotokiske effekter (32,36,88-90). I en eksperimentel undersøgelse, hvor 4 forskellige pesticider hver for sig blev tilsat humane lymfocytter i lave koncentrationer, måltes ingen øget forekomst af SCE. De samme koncentrationer af pesticider i en blanding inducerede derimod en signifikant stigning i hyppigheden af SCE (20). Denne eksperimentelle observation illustrerer blandingsekspioneringens genotokiske betydning i forhold til isolerede pesticidekspioneringer.

Sprøjting og kromosomskader

En række udenlandske tværnitsundersøgelser - overvejende fra tropiske og subtropiske lande - har tillige vist øget hyppighed af forskellige mutagene forandringer i blodets lymfocytter hos jordbrugsbeskæftigede og pesticidekspionerede personer (10,17,19,22,41,65,71,77,96). I alle undersøgelser var der tale om blandingsekspioneringer - ofte 5 eller flere pesticider, ligesom de aktuelle eksponeringsniveauer i disse undersøgelser skønnes at være højere end hvad man normalt observerer blandt pesticidudsatte her i landet. Dette skøn beror på, at de undersøgte målgrupper alle var sprøjtere, som håndterede pesticiderne uden brug af personlige væremidler. Anvendelse af personlige væremidler i forbindelse med udlægning af pesticider er nemlig afgørende for størrelsen af kropsbelastningen - ikke mindst ved udlægning af pesticider i væksthuse (44,45). Det er vores generelle indtryk, bl.a. fra Arbejdstilsynets "Sunde børn kampagne" 1994/95 i gartnerier samt observationer i nærværende undersøgelse, at den personlige arbejdshygien hos danske jordbrugere i forbindelse med sprøjtesituationen er forholdsvis høj sammenlignet med tilsvarende erhvervsgrupper i andre lande.

Udlægning af pesticider i væksthuse indebærer i almindelighed større eksponering for sprøjteoperatørene end tilsvarende frilandssprøjting (44). Risikoen for genotokiske skader er derfor i teorien størst hos væksthussprøjtere. Dette bekræftes af en undersøgelse fra Italien, hvor der blev observeret et signifikant højere antal mikrokerner i lymfocyterne hos væksthussprøjtere sammenlignet med frilandsprøjtere, som var eksponeret for de samme pesticider (3). I en undersøgelse af danske væksthussprøjtere observeredes en signifikant øget hyppighed af SCE sammenlignet med en ueksponeret kontrolgruppe (48). Det samme observeredes blandt græske væksthusarbejdere (41). I den danske undersøgelse blev der tillige observeret en svag dosisafhængighed målt ved graden af personlig beskyttelse under udlægningen af pesticider (48).

Re-entry og kromosomskader

Der er os bekendt ingen publicerede undersøgelser af genotokiske risici hos væksthusarbejdere, som udelukkende eksponeres for pesticider ved håndtering af behandlede planter (re-entry). En nylig dansk undersøgelse har vist, at dette arbejde indebærer optagelse af målelige mængder kolinesterasehæmmende insekticider (og måske tillige andre pesticider) (46). Om dette eksponeringsniveau også medfører en øget risiko for kromosomskader respektivt karcinogene effekter er et åbent spørgsmål, som nærværende undersøgelse skal være med til at afklare.

IARC

Det Internationale Kræftforskningscenter i Lyon (The International Agency for Research on Cancer, IARC) finder, at der ud af mange

hundrede kommersielt tilgængelige pesticider kun er tilstrækkeligt videnskabeligt bevis for, at følgende midler kan være kræftrisikable for mennesker (IARC-gruppe 2B; muligvis kræftfremkaldende): Aramit, Chlordecone, DDT, Hexachlorocyclohexan incl. Lindan, Mirex, Toxaphene, Chlorophenoler, Hexachlorobenzen, Natrium ortho-phenylphenat, Amitrol, Chlorophenoxy herbicider, Nitrofen, Sulfallat, 1,2-Dibromo-3-chloropropan (DBCP). Yderligere finder IARC, at arsenforbindelser er sikkert kræftfremkaldende (IARC-gruppe 1; sikkert kræftfremkaldende). Kun få af de nævnte pesticider anvendes i Danmark. Ved gennemgang af tilgængelige internationale, epidemiologiske studier, finder IARC tillige, at der er tilstrækkelig videnskabelig evidens for at eksponering for ikke-arsenholdige insekticider kan være kræftfremkaldende (lungekræft) (36).

2 Formål og design

2.1 Formål

Formålet med undersøgelsen var:

1. At vurdere om pesticid eksponering ved arbejde i danske væksthus med prydplanteproduktion medfører kromosomafvigeler i T-lymfocyter eller påvirkning af sædkvalitet i form af nedsat spermatozokoncentration, nedsat andel normale spermatozoer, nedsat motilitet eller øget andel døde spermatozoer.
2. At vurdere effekt af såvel re-entry aktivitet som udlægning af pesticider.

2.2 Design

Studiet er bygget op som en tværsnitsundersøgelse og en longitudinell undersøgelse. Der indhentes løbende eksponeringsmål. Effektmålene indhentes i sædundersøgelsen hvert kvartal, og i kromosomsmed-undersøgelsen 2 gange, henholdsvis før og efter en periode med forventet højkspønering.

Som tendens kan beskrives en lavsæson i pesticidforbrug i november, december og januar og en højsæson i april, maj, juni, juli, august og september. Men ikke alle gartnerier følger dette mønster.

2.2.1 Tværsnitstudiet

Tværsnitsundersøgelsen er gennemført ved studiets start i 1. kvartal 1994. Fordelingen af sædkvalitets- og kromosomafvigelsersmål sammenlignes blandt gartnerere internt og gartnerere i forhold til en gruppe seminardeltagere i "Landsforeningen Økologisk Jordbrug".

I gartnergruppen sammenlignes effektmål i grupper defineret på basis af proximål for eksponering. Eksponeringen beskrives på forskellige niveauer.

1. Gartnerispecifikke eksponeringsmål, beregnes ud fra pesticidforbrug i det enkelte gartneri.
2. Personlige, historiske eksponeringsmål.
3. Personlige, aktuelle eksponeringsmål, herunder antal timer med plantekontakt, arbejdsfunktioner og personlig hygiejne.
4. Indeks for individuel dermal eksponering, udarbejdet på baggrund af arbejdsfunktioner, målinger i gartneriet, gartneriets pesticidforbrug og kultur.

I hver analyse sammenlignes effektmålene i de forskellige eksponeringsniveauer, dvs. der er tale om en skiftende komplementær kontrolgruppe.

2.2.2 Det longitudinelle studie

Det longitudinelle studie startedes med tværsnitsundersøgelsen. Der indsamledes sædprøver hvert kvartal og blodprøver i 1. og 3. kvartal. Der undersøgtes ændring i sædkvalitet fra 1. til 3. kvartal. Gartnerne sammenlignes med økologerne. I gartnergruppen sammenlignedes ændringer i eksponeringen med ændring i sædkvalitet. Det longitudinelle studie for kromosomafvigelser gennemførtes på samme måde, dog uden den eksterne kontrol af økologer.

3 Studiepopulation

3.1 Etablering af undersøgelsesgruppen

Gartnerere

I efteråret 1993 blev alle væksthusejere omkring Odense og Århus indbudt til møde med orientering om undersøgelsen. Indbydelserne blev sendt til registrerede medlemmer af Dansk Erhvervsgartner Forening i de pågældende områder. Der blev afholdt 2 møder. På møderne var der mulighed for at tilmelde sit gartneri til undersøgelsen. I alt deltog ca. 60 i møderne og 5 gartnerier blev tilmeldt. Derefter blev af Gartneribrugets Arbejdsgiverforening og Gartnerenes Fagforening i Odense og Århus udarbejdet liste med 38 gartnerier beliggende omkring Odense eller Århus med prydplanteproduktion og mere end 3 mænd beskæftiget. Disse gartnerier blev i løbet af efteråret 1993 kontaktet telefonisk. Hvis ledelsen gav tilladelse, blev der holdt et informationsmøde på gartneriet. Det samme gjaldt de 5 gartnerier, der var tilmeldt på informationsmøderne. Inklusionskriterier til undersøgelsen var mand, 18-45 år, normal pubertetsudvikling, ingen vasektomi eller kendt azoospermi. Ingen malign sygdom, indtagelse af salazopurin eller betablokkere. Ansatte incl. ledende medarbejdere og ejere, dog undtaget personer med udelukkende administrativt arbejde, blev betragtet som mulige deltagere. Efterhånden som personer blev inkluderet i undersøgelsen blev det klart, at undersøgelses-populationen kom til at indeholde for få personer uden pesticidudsættelse. Dette skyldtes bl.a., at ingen af de deltagende gartnerier - som først antaget - udelukkende brugte biologiske bekæmpelsesmidler.

Økologer

Der blev derfor indrulleret en ekstern kontrolgruppe. Denne gruppe bestod af deltagere i et weekend seminar holdt af Landsforeningen Økologisk Jordbrug. Gruppen blev valgt, fordi de forventedes at være en landbefolkning uden erhvervsmæssig eksponering for pesticider. Ved at de var samlet på ét sted, kunne omkostningerne ved indhentning af prøverne reduceres.

3.2 Deltagelse

Informationsmøder

Der blev holdt informationsmøde på 34 gartnerier, fra 30 af disse deltog mindst én person. På to gartnerier opfyldte ingen inklusionskriterierne. På to gartnerier med 3 og 5 mænd beskæftigede, ønskede ingen at deltage. Disse 8 er ikke spurt om de opfyldte inklusionskriterierne. Studiepopulationen defineres som de gartnerier, hvor mindst én person deltager, dvs. beskæftigede på de 30 gartnerier. Der var på disse gartnerier 203 mænd mellem 18-45 år. Af disse var 12 vasektomerede og opfyldte således ikke inklusionskriterierne. 12 ikke-deltagere kunne ikke kontaktes og det er usikkert, om de opfyldte inklusionskriterierne (vasektomi). Hvis de regnes som mulige deltagere, var der i alt 191 mulige deltagere. 124 ønskede at deltage. To var ikke i stand til at lave den 1. sædprøve og udgik derfor. Deltagelses procenten er 64% (122/-191).

Gruppen af økologiske seminardeltagere blev rekrutteret på et landsmøde holdt af Landsforeningen Økologisk Jordbrug i weekenden d. 23.-24. februar 1994. Deltagerne havde ikke kendskab til undersøgelsen ved tilmelding til mødet (fraset bestyrelsen, der havde givet tilladelse), men få dage før landsmødet blev det offentligt kendt, at undersøgelsen ville komme til at foregå på seminarret.

På seminarret meldte 32 sig til sædundersøgelsen, 2 var ikke i stand til at lave en sædprøve. Deltagelsesprocent i spermundersøgelsen var 70%. Til undersøgelse for kromosomafvigelser meldte yderligere 2 over 45 år sig. Én deltager i spermundersøgelsen ville ikke afgive blodprøve hvorimod, én af de der ikke kunne aflevere sæd, gerne ville indgå i kromosomskadeundersøgelsen.

3.3 Selektion til undersøgelsen

Der er ikke forskel i alder på deltagere og ikke-deltagere.

Tabel 1. Aldersfordeling blandt deltagere og ikke-deltagere.

Age participants and non participants.

Alder/Age	Gartner/Ghw #		Økologer/MOA #		Alle/all	
	Delt. N	Ikke delt. %	Delt. N	Ikke delt. %	Delt. N	Ikke delt. %
18-19	5	50	5	50	0	0
20-24	37	76	12	24	0	0
25-29	39	71	16	29	1	100
30-34	24	63	14	37	13	93
35-39	11	58	8	42	8	62
40-45	6	100	0	0	5	38
I alt	122		55		30	9
Mean SD ##	28.3	5.9	28.3	6.9	36.6	4.2
					38.8	3.8
					30.6.4	29.8.7.5

In this and all following tables the abbreviation Ghw will be used for greenhouse worker. And MOA as abbreviation of Member of Organic Association.

Beregnet ud fra hele år, years without decimal.

Herudover deltog i kromosomskade studiet 2 over 45 år. Besides 2 age more than 45 participated in the cromosome study.

Vi har ikke mistanke til selektion i forhold til kromosomskade studiet. Men i nogle sædkvalitetsundersøgelser er der fundet en tendens til, at de, der har mistanke om at deres sædkvalitet er dårlig, hyppigere melder sig som deltagere end andre. Man kan i denne undersøgelse forestille sig, at der i gruppen af økologer gør sig den modsatte tendens gældende. Hvis man har mistanke til, at man vil "trække et gennemsnit ned",

Deltagelsesprocenter

kan man være mindre interesseret i at deltage, fordi man er interesseret i, at gruppen som helhed har god sædkvalitet.

Betydningen af denne tendens vil være størst, hvis deltagelsesprocenterne er lave. I denne undersøgelse er deltagelses-procenten i begge grupper ret høj.

Der er fra både deltagere og ikke-deltagere indhentet oplysninger om tidligere urogenital sygdom. Vi definerer her tidligere behandling for kryptorchisme eller mindre end 2 testikler i scrotum som alvorlig urogenital sygdom. I gruppen med alvorlig urogenital sygdom ses der en tendens til at gartnere melder sig til undersøgelsen og økologer ikke melder sig. Hverken blandt gartnere eller økologer er der dog signifikant forskel på grupperne. Hvis man til gruppen af alvorlig genitalsyge lægger personer, der er opereret for lyskebrok eller andre operationer på pung eller penis, er forskellen i gartnergruppen signifikant. Dvs. der ser ud til at være en tendens til, at personer der kan have mistanke om et deres sædkvalitet er dårlig, er overrepræsenteret i gruppen af deltagende gartnere i forhold til ikke-deltagende gartnere. For økologerne kan den modsatte tendens gælde, men her er tallene så små, at der ikke er tale om signifikante forskelle.

Tabel 2. Deltagelse i relation til genital sygdom

Participation in relation to previous genital disease

	Gartnere/Ghw			Økologer/MOA		
	Delt.	Ikke delt.	OR	Delt.	Ikke delt.	OR
	Part.	Non part.	95% SI	Part.	Non part.	95 % SI
	N %	N %		N %	N %	
Kryptorchisme eller <2 testik- ler i scrotum Chryptorchisme or <2 testicles in scrotum	9 7%	1 2%	4.3 (0.6-29.8)	1 3%	2 22%	0.12 (0.01-1.15)
Som ovenfor eller op.for brok As above or herniecomiced	24 20%	2 4%	6.5 ** (1.7-24.5)	3 10%	2 22%	0.39 (0.06-2.7)

#I begge grupper er der 2 personer der havde meldt sig til undersøgelsen, men ikke var i stand til at lave en sædprøve, de er ikke medtaget. Desuden mangler oplysninger fra 12 ikke-deltagende gartnere og 2 ikke-deltagende økologer.

#In both populations 2 persons assigned to the investigation, but were not able to make the semen sample they are not included. Beside informations is missing from 14 non participants, 12 greenhouse workers and 2 MOA.

3.4 Frafald

Gartnere

I løbet af undersøgelsesperioden sker der et frafald, se tabel 3. Frafaldet sker fordi deltagerne skifter arbejdsplads, skal på gartnerskole eller gartneriet lukker. Tre udgår af andre årsager end de her nævnte. Der er således forklaring på størstedelen af frafaldet, og vi har ikke grund til at tro, at der er selektion i forhold til resultatet af sædprøven. Gartnerne er

i forbindelse med analyse i det mobile laboratorium blevet tilbuddt at se videooptagelse af deres sædprøve. Herudover blev de ikke informeret om resultatet af sædprøverne, før alle 4 sædprøver var indhentet. Der udgår i undersøgelsesperioden 4 gartnerier, 1 fordi gartneriet lukker, 3 fordi alle deltagere har forladt gartneriet.

Økologer

I økologgruppen var 1 i udlandet ved indhentning af 2. sædprøve. 1 havde azoospermi, 3 ønskede ikke fortsat at deltage. Økologerne var, hvis de ønskede det, på seminaret blevet informeret om sædcellekoncentration i deres sædprøve. Koncentrationen hos de 3 der ikke afleverede 2. sædprøve, lå lavt i forhold til gruppen generelt. Den megen medieomtale af økologernes høje sædkvalitet kan have afholdt nogle af de, der havde lave koncentrationer fra at deltage med 2. sædprøve.

Tabel 3. Antal deltagere der har afleveret sæd- og blodprøver.

Number of participants in the diffrent samplings

	Sæd 1 1.kvartal	Sæd 2 2.kvartal	Sæd 3 3.kvartal	Sæd 4 4.kvartal	Blod 1 1.kvartal	Blod 2 1.kvartal	Blod 3 3. kvartal
Gartner Ghw	122	111	94	87	122	110	87
Økologer MOA	30		25		29	32	

3.5 Beskrivelse af undersøgelsesgruppen

3.5.1 Personrelaterede faktorer

Økologer

Seminaret, hvor økologerne blev rekrutteret, blev holdt af en økologisk producentorganisation. Vi forventede derfor, at deltagerne overvejende ville være producenter af økologiske fødevarer. På seminaret var der imidlertid også forbrugere. Af de 30, der deltog i sædundersøgelsen, var 16 økologiske bønder, 7 ansatte i en økologisk organisation. De resterende 7 tilhørte andre brancher, 2 traditionelle landmænd, 2 kokke, 2 arbejdsløse og 1 ingeniør. De 3, der ikke deltog i sædundersøgelsen, men i kromosomskade-undersøgelsen, var alle økologiske bønder.

Livsstil

Af tabel 4 fremgår forskellige baggrundoplysninger for gartnerne og økologer. Den væsentligste forskel er, at økologerne er ældre og har længere uddannelse end gartnerne. Med hensyn til livsstilsfaktorer adskiller grupperne sig ved at færre er rygere blandt økologerne, men der er ingen forskel i indtagelse af alkohol, koffein og medicin. Ud over hvad der ses af skemaet, er der en svag tendens til, at gartnerne er mere fysisk aktive i fritiden end økologerne. Vi har spurgt økologerne, i hvor høj grad de lever af økologiske fødevarer. Det har vi ikke spurgt gartnerne om, men der er givet stor forskel.

Tabel 4 Karakteristik af deltagere.
Characteristics of participants.

	Gartner Greenhouse worker	Økologer MOA
<i>Skolebaggrund, %</i>		
Forlod skolen før 9.klasse	3	0
9. klasse eksamen	33	3
10. klasse eksamen	48	17
Studentereksamens eller HF	4	60
Teknisk forberedelseseksamen	11	20
Andet	1	0
<i>Erhvervsuddannelse, %</i>		
Ingen erhvervsuddannelse	7	3
Specialarbejderuddannelse	3	0
Kort uddannelse max. 2 år	2	3
Lærlinge- eller EFG uddannelse	65	10
3-4 års uddannelse	16	27
Mindst 4 års uddannelse	3	30
Under uddannelse nu	7	0
andet	0	27
Alkohol forbrug, genstande pr. uge.	10.4	8.4
Koffeinindtag, mg.pr.uge	3392	3396
Kopper kaffe, dagl.	4.15	3.8
Ryger nu, %	37	10**(1)
Medicin (indenfor sidste 14 dage)%	10	17
<i>Urogenital sygdom %</i>		
1. <2 testikler i pung eller opereret for forkert lejring af testikel	7	3
2. som 1 eller operation på pung, penis eller for brok	20	10
3. som 2 eller tidl. gonoré, klamydia, bitestikelbetændelse, blærebetændelse, -fåresyge som voksen eller sygdom i skjoldbrugskirtel	20	30
Alder, år(beregnet fra fødselsdag), sædstudie	28.3	36.6**(2)
Alder, kromosomskade studie (N=116)	28	38
Røntgen indenfor de sidste år, 1.prøve	16	20
Røntgen siden sidste prøve (gartnere)	8	

** (1) P= 0.004 Chi-square test

** (2) P= 0.0001 Wilcoxon 2-sample

3.5.2 Sædprøve relaterede faktorer

Tabel 5 Karakteristik af sædprøver

Characteristics of semen samples

	Gartner/ghw	Økologer/MOA
<i>A bstinenstid (dage)</i>		
median (25 75 percentil)		
1. sædprøve	2 (0.8 4)	1.25 (0.8 2)
3. sædprøve (øko 2.)	2 (0.8 3)	2 (0.8 3)
<i>Feber (>38.5 sidste 3 mdr.) %</i>		
1. sædprøve	22 %	7 %
3. sædprøve (øko 2.)	8 %	8 %
<i>Sauna (indenfor de sidste 5 uger) %</i>		
1. sædprøve	3 %	30 %**
3. sædprøve (øko 2.)	4 %	16 %
<i>Karbad (indenfor de sidste 5 uger) %</i>		
1. sædprøve	19 %	13 %
3. sædprøve (øko 2.)	14 %	12 %
<i>Spild ved prøveopsamling %</i>		
1. sædprøve	21 %	27 %
3. sædprøve (øko 2.)	12 %	20 %
<i>Ventetid fra opsamling til analyse</i>		
minutter, median (25 75 percentil)		
1. sædprøve	50 (35 60)	30 (25 33)
3. sædprøve (øko 2.)	60 (40 82)	55 (40 82)

** p= 0.0001 (Fisher's exact test)

4 Dataindsamling

Prøveindsamling gartnere

Deltagere fra gartnerierne blev bedt om at aflevere 1 sædprøve hvert kvartal i 1994. I 1 gartneri blev den første sædprøve hentet i december 1993. Blodprøve til analyse af kønshormoner blev taget sammen med 1. sædprøve. 2. og 3. blodprøve til analyse af kromosomafvigelserne blev taget i marts og september. I alle 3 blodprøver blev også plasmacholinesterase analyseret.

Prøveindsamling økologer

Økologerne afleverede første sæd- og blodprøve på seminaret i februar 1994. Den anden sædprøve blev hentet i deltagernes hjem i september 1994. Der blev kun taget én blodprøve på økologerne.

Sædanalyse

Analyse af gartneres sædprøver blev foretaget ved arbejdspladsen i et mobilt laboratorium. Der blev ikke krævet nogen minimums abstinensperiode. Sædprøven blev ejakuleret i et plastikbæger. Deltagerne blev instrueret i, at prøven ikke måtte være mere end en time gammel når den blev afleveret ved det mobile laboratorium, og at den undervejs fra hjem til arbejdspladsen skulle opbevares i en lomme tæt ved kroppen. Deltagerne mødte forskudt på arbejde med et interval på en halv time, eller 2 i timen. Det gjorde det muligt løbende at analysere sædprøverne. Analyserne i bilen blev foretaget af en sygeplejerske oplært i at foretage sædanalyser. I bilen blev lavet konventionel sædanalyse inkluderende koncentration, motilitet og volumen bestemmelse. Der blev lavet udstrygninger til senere bestemmelse af vitalstatus og morfologi. Desuden blev foretaget videoregistrering af ufortyndede og fortyndede prøver til senere CASA analyse af motilitetsparametre.

For økologerne blev sædanalyserne foretaget på stedet, dels i det mobile laboratorium, dels i et midlertidigt indrettet laboratorium på kursusstedet.

Grundskema

Op til 1. sædprøve udfyldte hver deltager et grundskema med oplysninger om tidlige og aktuelle erhvervsmæssige pesticideksponering, hygiejne ved omgang med pesticider, tidlige sygdomme, specielt urogenitale og livsstilsfaktorer. Dette grundskema blev i forbindelse med aflevering af 1. sædprøve gennemgået med projektlæge. Dette dels for at sikre at inklusionskriterierne var opfyldt, dels sikre at skemaet var korrekt udfyldt og for at udfylde eventuelle tvivlsspørgsmål.

I forbindelse med hver sædprøve blev registreret dato, tidspunkt, feber, abstinensperiode, sauna og evt. spild samt den aktuelle eksponering. Ved blodprøverne blev på samme måde registreret nylig sygdom, feberepisoder, medicinforbrug og røntgenfotografering.

Sædprøve, følgeskema

Blodprøve, følgeskema

I gartnerierne blev der gennem det år undersøgelsen stod på udarbejdet - listen med registrering af alle de sprøjtninger, der blev foretaget (incl. vanding med pesticider o.a.), i alt 6977. For hver sprøjning blev registreret dato, middel, metode og behandlet areal. De gartnerierne der deltog i undersøgelsen og som selv blandede eller udlagde pesticider, førte på

samme måde lister over alle de sprøjtninger de stod for, i alt 3938. For hver af disse sprøjtninger blev registreret dato, middel, metode, timeforbrug, brug af beskyttelsesudstyr og hygiejne. Fra 1. sædprøve blev indhentet blev disse lister ført løbende. For perioden 3 måneder før den første sædprøve blev listerne lavet ud fra eksisterende registrering af forbruget hvor sådanne fandtes, ellers ud fra hukommelse og evt. lommebogsoptegnelser.

5 Laboratorie analyser

Blodprøver

Blodprøverne til bestemmelse af kønshormoner og plasma-cholinesteraseaktivitet blev taget i tørglas og opbevaret i køleskab under transporten til centrallaboratorium. I centrallaboratorium blev prøven næste morgen centrifugeret 10 min. ved 3000 RPM. Serum blev afpipetteret og frosset ned i kryorør (ved -70° C) i 1-ml portioner.

Blodprøver til kromosomskade-bestemmelse blev taget i lithium-hepariniserede glas. Prøverne blev opbevaret nogle timer i køleskab i det mobile laboratorium. Om eftermiddagen blev de pakket med køleelement og sendt nedkølet men, frostfrit med fly til Helsinki, Finland, hvor de næste morgen blev hentet i lufthavnen.

Laboranter og laboratorier

1., 2. og 3. sædprøve fra gartnerne blev næsten alle analyseret i det mobile laboratorium af projektsygeplejerske (lab 1). I forbindelse med sygdom er enkelte prøver fra Århus analyseret i stationært sædlaboratorium, Anatomisk Institut, neurobiologisk afd., af anden laborant (lab 2). 4. sædprøve fra gartnerne blev analyseret af flere laboranter. Lab 1 analyserede 60 sædprøver og projektør (lab 3) 17 sædprøver i det mobile laboratorium. Lab 2 analyserede 10 sædprøver i stationært laboratorium. Halvdelen af økologernes 1. prøve er analyseret af lab 1, halvdelen af lab 2. Ved anden økologprøve er 5 analyser foretaget af lab 3, 20 af lab 1.

Lab 1 og lab 3 blev oplært i sædanalyser i sædlaboratorium af lab 2. Der er ved sammenligning af koncentrationsmålene ikke fundet forskelle i analyseresultaterne mellem laboranterne. Men der er ikke overensstemmelse i den manuelt bestemte motilitet. Det er velkendt, at der er interpersonelle forskelle i manuelt bestemte motilitetsmål. Bl.a. derfor er CASA udviklet.

5.1 Eksponeringmål, plasma-cholinesteraseaktivitet

5.1.1 P-Cholinesteraseaktivitet

Plasma-cholinesterase blev analyseret på centrallaboratoriet på Randers Centralsygehus. Det frosne plasma blev optøet 5 min. på vandbad ved 37°C, blandet grundigt og fortyndet 1+5 med 8,5 g/L NaCl umiddelbart før analysering. Der blev lavet to fortyndinger, som analyseredes uafhængigt af hinanden. Middelværdien benyttes som resultat. Analysen udføres på en Cobas Fara centrifugalanalysator. Analyseprincippet er en kinetisk måling. Til analysen er brugt granutest 3, Cholinesterase 12131, fra Merck.

5.2 Effektmål, sædstudiet, sædanalyser

Tabel 6 Effektmål, der indgår i sædstudiet

Effect measurements in the semen study

Sædkvalitet	
Koncentration	mill/ml
Volumen	ml
Totaltal	mill
Motilitet	% med god bevægelighed
CASA	VCL, $\mu\text{m/sek}$
Morfologi	% normale
Vitalstatus	% døde
Hormoner	
Testosteron	nmol/l
Follikelstimulerende hormon (FSH)	IU/l
Luteriniserende hormon (LH)	IU/l
Seksualhormonbindende globulin (SHBG)	nmol/l

Når sædprøverne var afleveret til laboratorium blev de analyseret, når liquefaction var indtrådt. Prøverne blev tilstræbt analyseret indenfor 60 minutter.

Der blev foretaget konventionel sædanalyse efter WHO's retningslinier fra 1992, dog blev anvendt Makler kammer til koncentrationsbestemt motilitetsanalyse (91).

Følgende analyser blev gennemført.

5.2.1 Volumen

Volumen af ejakulatet (ml) blev målt i glas med 0.1 ml mærkning.

5.2.2 Koncentration

Koncentration blev talt efter fortynding 1+1 med Na-hydrogencarbonat opløsning, tilsat formalin. Der blev talt i Makler kammer (volumen 4.5 μl). Tællingen blev udført ved brug af fase-kontrast teknik med 200 gange forstørrelse.

5.2.3 Motilitet

Motiliteten blev bestemt i Makler kammer placeret på opvarmet mikroskop-plade. Mikroskop feltet blev skannet systematisk og motiliteten af mindst 100 celler blev klassificeret. Der blev brugt 200 gange forstørrelse.

5.2.4 Morfologi

Sæd morfologi blev klassificeret i henhold til WHO 1992 kriterier.

Smear til farvning blev fremstillet ved at lave udstrygningspræparat af 10

μ l sæd. Glasset lufttørrede og blev i sædlaboratorium fikseret i en blanding af ethanol og ether. Efter fiksering blev smears farvet i en modificeret Papanicolaou's farve.

5.2.5 Vitalstatus

Vital farvning blev foretaget med Eosin-Nigosin farveteknik. 50 μ l sæd blev blandet med 25 μ l eosin. Efter blanding blev tilsat 100 μ l nigosin og efter blandet. 4,5 μ l blev placeret på udstrygningsglas og strøget ud som ovenfor beskrevet. Smear blev lufttørret og 100 spermatozoer blev talt under lysmikroskop og differentiering mellem døde og levende celler blev foretaget.

5.2.6 Motilitet, bestemt ved CASA

Ud over konventionel sædanalyse blev optaget videobånd til senere computer assisteret sædanalyse (CASA). Der blev optaget 6 gange 30 sek. i forskellige felter, og 30 sek. udenfor felter. Optagelserne blev foretaget på koncentreret sæd og efter 1+1 fortynding med Mar-test buffer.

Den computer assisterede analyse blev foretaget med Hobson Sperm Tracker. CASA systemet analyserede motilitets karakteristika fra video-båndene. Hobson systemet var sat til at analysere spor i 25 sek. Ud af flere mulige motilitetsmål er i dette studie valgt at analysere Velocity Curved Line (VCL).

5.3 Effektmål, sædstudiet, blodanalyser

5.3.1 Kønshormonanalyser

Kønshormonanalyserne inkluderede FSH, LH, testosteron og sexual-hormon binding globulin (SHBG). Analyser blev foretaget på Medi-Lab, København. Følgende metoder blev anvendt:

S-FSH blev analyseret ved brug af Microparticulär Enzymimmunoassay teknik (Abbott 1Mx) kalibreret mod WHO 2nd IS 78/549. Koeficienten på interassay variation (IVC) var 6%.

S-LH blev også udført ved brug af Microparticulär Enzymeimmunoassay teknik kalibreret mod WHO 1nd IS 68/40. IVC 8%.

S-testosteron blev analyseret ved brug af Radioimmunoassay (RIA) teknik efter at prøverne var koncentrerede ved brug af kromatografi. IVC 8%.

S-SHBG blev analyseret ved Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA). IVC 9,4 %.

5.4 Effektmål, kromosomskade studium

Kromosomafvigeler måles på hvide blodceller - T-lymfocytter - efter stimulation og celledeling. Kromosomafvigeler måles efter 48 timers dyrkning af cellerne i et medium, der er tilsat kemikaliet phytohæmaglutinin, som fremmer cellevækst af specielt T-lymfocytter. Nogle timer inden cellerne høstes tilsattes et andet kemikalium, colcemid, som fastholder cellerne i delingsfasen (metafasen). I metafasen er kromosomerne foldet i en struktur, der gør det muligt at skelne de 2 gange 23 kromosompar. I metafasen kan det tillige ses, om der er skader på kromosomerne. For hver person blev der undersøgt 100 metafaser og antal skader er opgivet i procent heraf.

Bestemmelsen af kromosomafvigeler er udført i laboratorium på Det finske Arbejdsmiljøinstitut i Helsingfors, som har opbygget en rutine, der gør det muligt at gennemføre denne ellers meget tidskrævende analyse delvist automatiseret.

Kromosomskaderne opdeles i forskellige typer:

Kromatidskader forekommer kun på den ene kromosomarm.

Kromosomskader forekommer på begge kromosomarme.

Gaps er en type af skader, der ses som et manglende stykke af en iøvrigt intakt kromosomarm (kromatidgaps) eller manglende stykker af to iøvrigt intakte kromosomarme (kromosomgaps).

Breaks er egentlige brud på kromosomarmen eller begge arme, henholdsvis kromatid- og kromosombreaks.

Exchanges er udveksling af stykker af kromosomarmen(e).

6 Beskrivelse af gartnerier

Der deltog 30 gartnerier i undersøgelsen.

I tabel 6 er gartnerierne karakteriseret. Kulturene repræsenterer de væsentligste kulturer.

*Tabel 6 Deltagende gartnerier
Participating greenhouses*

Gartneri Greenhouse	Væsentligste kultur/er production	areal m ² size	% deltagelse participation
1	Rosa hybrid (Potroses)	38000	75
2	Mange forskellige, bl.a. <i>Cordiaeum variegatum</i> <i>Dreacaena</i> sp. <i>Polyscias balfouriana</i> <i>Cordyline</i>	7000	67
3	<i>Soleirolia solerolii</i>	5000	67
4	<i>Begonia elatior-hybrid</i>	9500	67
5	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> , <i>Hedera helix</i>	17000	38
6	<i>Bromeliaceae</i> , <i>Osteospermum</i>	18000	67
7	<i>Cyclamen persicum</i> <i>Tulipa 'Briliant Star'</i> <i>Narcissus pseudonarcissus</i> <i>Hebe andersonii</i> hybrid <i>Chamaecyparis law. 'elwodii'</i>	7000	100
8	<i>Kalanchoë blossfeldiana</i> <i>Chrysanthemum frutescens</i>	22000	100
9	Rosa hybrid (Potroses)	11000	60
10	<i>Exacum affine</i>	7500	67
11	<i>Columnea</i> hybrid <i>Aeschynanthus</i> hybrid	13000	100
12	<i>Hibiscus rosa-sinensis</i> <i>Cuphea ignea</i> <i>Euphorbia pulcherrima</i> <i>Citrus microcarpa</i>	22000	83
13	Rosa hybrid (Potroses)	13000	63
14	<i>Aechynanthus</i> hybrid <i>Passiflora</i> hybrid <i>Cyclamen persicum</i> <i>Dahlia</i> hybrid <i>Columnea</i> hybrid	22000	100
15	<i>Kalanchoë blossfeldina</i> <i>Ficus pumela</i>	12000	25

16	Hedera helix Impatiens Ny Guinea hybrid Euphorbia pulcherrima Campanula carpatica	50000	60
17	Kalanchoë blossfeldiana	35000	50
18	Begonia elatior hybrid	13800	67
19	Begonia elatior hybrid	13000	33
20	Rosa hybrid (Pot roses)	21000	56
21	Kalanchöe blossfeldiana	50500	37
22	Pelargonium zonale Dianthus chinensis Aster 'Novi belgii' Hoya	6400	57
23	Euphorbia pulcherrima Campanula isophylla Gloxinia Eustoma grandiflorum	43000	92
24	Dieffenbachia maculata Ctenanthe	8300	57
25	Gardenia	6000	100
26	Chrysanthemum frutescens	12000	67
27	Euphorbia pulcherrima Ranunculus hybrid Schizanthus Chrysanthemum frutescens Aster 'Novi belgii'	10000	100
28	Gerbera hybrid	15000	100
29	Chrysanthemum frutescens Aster 'Novi belgii' Senecio Primula malcoidea	16000	50
30	Ficus benjamina Chrysanthemum frutescens Euphorbia pulcherrima	7000	50

Antal mulige deltagere på hvert gartneri opgives ikke. Det kan sammen med oplysninger om deltagelsesprocent på de små gartnerier afsløre, at en beskæftiget ikke var mulig deltager af personlige grunde (oftest vasektomi). Vi vurderer, at oplysninger om deltagelsesprocent på det enkelte gartneri er af større værdi.

Af nedenstående tabel fremgår en opsummering af deltagelsesprocenterne på gartnerierne.

Tabel 7 Deltagelsesprocent i gartnerierne

Pct. participation i the greenhouses

-49%	4 gartnerier
50-75%	16 gartnerier
75-99%	3 gartnerier
100%	7 gartnerier

Af tabel 8 ses hvilke pesticider der var i brug i gartnerierne, hvor stort et samlet areal der blev behandlet med det pågældende pesticid i undersøgelsesperioden og antal gartnerier, der brugte det pågældende middel.

*Tabel 8 Insecticider i brug i de 30 gartnerier
Insecticides used in the 30 greenhouses*

Insekticid/insecticide	m ² behandlet, samlet nettoareal area treated	I brug i antal gartnerier number of greenhou- ses using
Pirimicarb	913819	26
Methomyl	690718	14
Deltamethrin	541945	14
Endosulfan	382405	12
Fenpropathrin	352901	7
Chlorpyrifos	320496	9
Amitraz	206500	4
Alfacypermethrin	206291	6
Dienochlor	203866	8
Dichlorvos	201800	9
Buprofezin	190369	10
Etrimfos	153119	8
Mevinphos	146607	11
Acephat	120531	5
Mercaptodimethur	93820	6
Permethrin	79869	8
Lamdaicyhalothrin	68144	1
Pyriproxyfen	66320	5
Lindan	50218	5
Phoxim	43841	4
Cyangas/calcyan	45800	5
Diazinon	33441	5
Colfentezin	27500	1
Aldicarb	7003	4
Azinphosmethyl	4703	3
Heptenophos	4600	2
Parathion	800	1
Cypermethrin	800	1
Dicofol	273	1

*Tabel 9 Fungicider i brug i de 30 gartnerier
Fungicides in use in the 30 greenhouses*

fungicid/fungicide	m ² behandlet, samlet nettoareal	I brug i antal gartnerier
Benomyl	220093	16
Thiram	176320	4
Iprodion	167402	16
Carbendazim	147678	8
Chlorothalonil	117949	13
Vinclozolin	101573	8
Fosetyl-Al	84416	8
Kobber/ OB 21	74712	3
Prochloraz	74275	7
Tolyfluanid	69619	2
Mancozeb	65429	6
Tolclofosmethyl	55252	9
Dodemorph	32645	3
Captan	28354	7
Furalaxyl	25673	10
Triforin	25590	4
Propamocarb	24615	7
Pyrazophos	15440	4
Fenarimol	2880	1

*Tabel 10 Vækstreguleringsmidler i brug i de 30 gartnerier
Growth regulators in use in the 30 greenhouses*

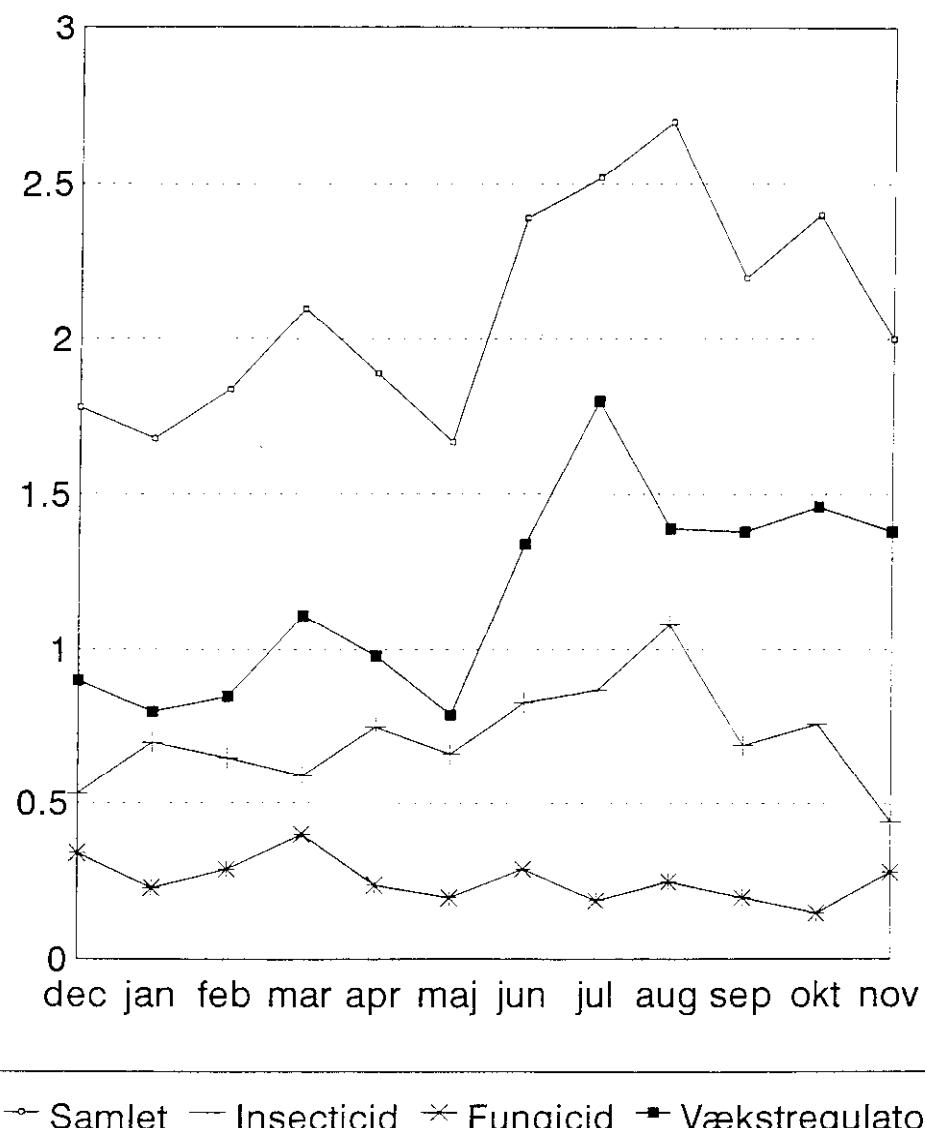
Middel/Growthregulator	m ² behandlet, samlet nettoareal	I brug i antal gartnerier
Chlormequatchlorid	3026088	23
Daminozid	2356229	17
Praclobutrazol	1611478	12
Chlormequatchlorid og cholinchlorid	206455	4
Dikegulac	189280	1
Natriumsølvthiosulfat	84416	6
Ancymidol	1109	2

Herudover blev brugt enkelte andre midler hovedsageligt desinfektionsmidler og ukrudtsmidler.

Fig 1: Gennemsnit af månedlige gartneriindeks.
Mean month greenhouse index.

Pesticid forbrug

fra dec. 1993 til nov. 1994



Af fig. 1 fremgår behandlingsintensiteten i indsamlingsperioden. Forbruget er lavest i vintermånederne. Det er dog kun forbruget af insektmidler og vækstreguleringsmidler, der stiger hen over sommeren. Forbruget af fungicider viser en svag stigning i forårmånederne, men ligger overvejende stabilt. Indeks er beregnet som et gennemsnit af de deltagende gartnerier. Sidst i oktober 1994 hentes 4. prøve i de første gartnerier, og de udgår herefter. I løbet af undersøgelsesperioden udgår 4 gartnerier. Desuden er oplysningerne for de første 3 måneder indhentet retrospektivt, dvs. først fra marts er registreringen lavet løbende for alle gartnerier.

7 Eksponerings beskrivelse

Eksponeringskategoriseringen er foretaget på flere niveauer.

1. Faggruppe: gartner/økolog.
2. Gartneri indeks, baseret på gartneri forbrug af pesticider.
3. Personlige, historiske eksponeringmål.
4. Personlige, aktuelle eksponeringmål.
5. Indeks for individuel dermal eksponering for pesticider udarbejdet på baggrund af arbejdsfunktioner, målinger foretaget af Statens Planteavlsforsøg,gartneriets pesticidforbrug og kultur.
6. Udlægning af pesticider.

Eksponeringen i gartnergruppen er beskrevet ved en række proximál for eksponering. Fig. 2 viser en oversigt over eksponeringsmålene for gartnerne. I det følgende gennemgås, hvorledes de er udarbejdet.

7.1 Gartnerispecifikke pesticidforbrug

For en 13 ugers periode før indhentning af hver sæd- eller blodprøve er beregnet det samlede areal, gartneriet har behandlet med pesticider. De behandlede arealer er omregnet til nettoarealer (husareal ganget med 0.8). Summen af det behandlede nettoareal er divideret med gartneriets areal, derved fås et mål for hvor mange gange hele gartneriet er behandlet i løbet af perioden. Der er udregnet følgende indeks:

Tværsnit

- Indeks for samlet forbrug af pesticider
- Indeks for forbrug af insekticider
- Indeks for forbrug af fungicider
- Indeks for forbrug af vækstreguleringsmidler
- Indeks for forbrug af midler med mistænkt spermatoxisisk effekt

Indeks er delt i 2-3 niveauer. Inddelingen er lavet så grupperne indeholder nogenlunde lige mange deltagere.

Longitudinelle

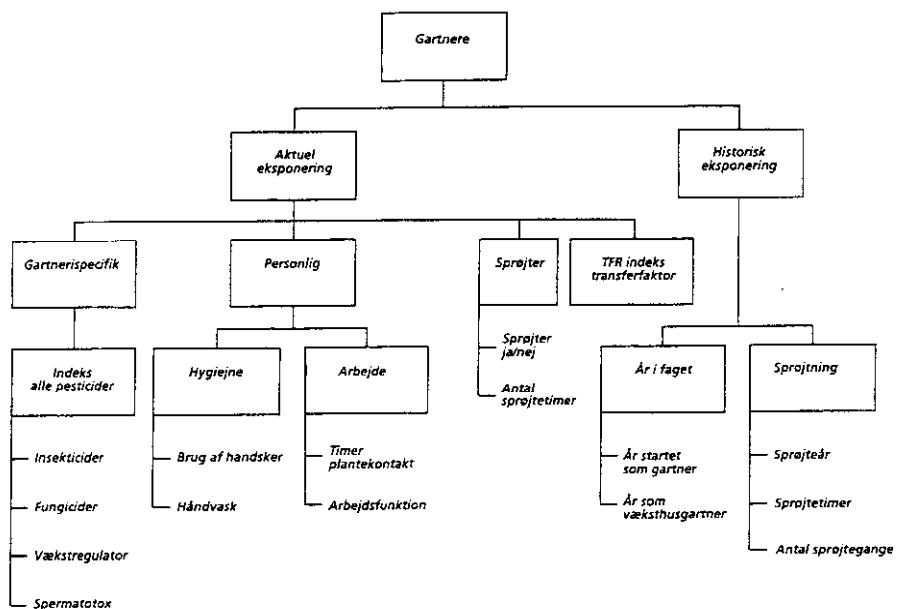
Til brug for det longitudinelle studie er beregnet forskel i indeks mellem 1. og 3. sædprøve.

- Forskelse i indeks for samlet forbrug af pesticider
- Forskelse i indeks for forbrug af insekticider
- Forskelse i indeks for forbrug af fungicider
- Forskelse i indeks for forbrug af vækstreguleringsmidler
- Forskelse i indeks for forbrug af midler med mistænkt spermatoxisisk effekt (mistænkt spermatoxiske midler, se bilag 1.)

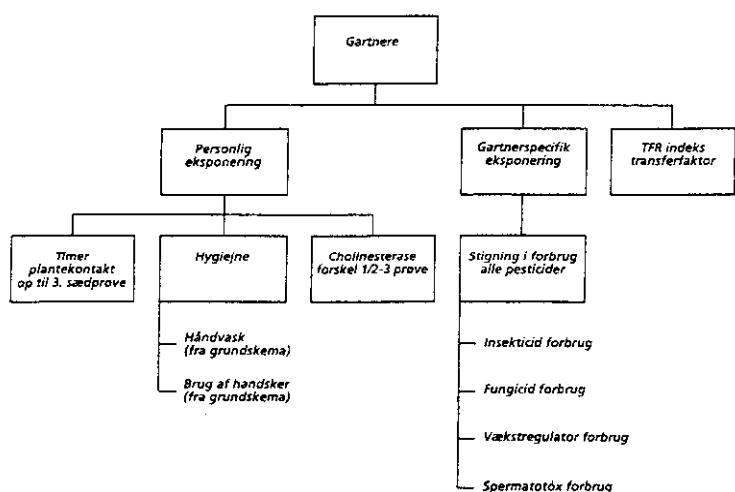
Herefter er gartnerierne delt op efter stigende/faldende pesticidforbrug fra 1. til 3. prøve. (både samlet pesticidforbrug og for undergrupper).

*Fig 2. Eksponeringmål for gartnerere
Exposure categories for gardeners*

Eksponeringmål for gartnerere Tværsnitsstudie



Eksponeringmål for gartnerere Longitudinelle



7.2 Personlig eksponering

7.2.1 Livslang eksponering

Vurderingen af den samlede livs-eksponering bygger på oplysninger indhentet i grundspørgeskema.

Der er indhentet oplysning om:

- a. Årstal for start som gartner.
- b. Antal år arbejdet som væksthusgartner med prydplanteproduktion.
- c. Antal år, gange og timer i arbejdslivet, hvor der er udlagt pesticider.

7.2.2 Antal timer med plantekontakt

Det gennemsnitlige, daglige antal timer med plantekontakt er indhentet i spørgeskema i forbindelse med hver sædprøve.

7.2.3 Arbejdsfunktioner

Der foreligger 3 kilder med registrering af arbejdsfunktioner.

Til analyse af arbejdsfunktion i tværsnitsundersøgelsen er brugt oplysninger fra grundskema (indhentet samtidig med 1. sædprøve).

I grundskemaet er spurt: Hvad er dit arbejde i gartneriet (skriv det væsentligste i dit arbejde, f.eks. prikling, stikling, pakning).

På baggrund af den først nævnte arbejdsfunktion er deltagerne klassificeret i 3 eksponering niveauer:

1. Ikke/lavt eksponeret: overvågning, passe pottemaskine, ledelse, kørsel, reparation af huse, vande, sælge, flytte borde, gøre borde klar, forsøg, såning, plantning, stille på afstand, udsætning, sammenrykke.
2. Middel: alt muligt, pakke, potte, stille på afstand, udbringe bekæmpelsesmidler, sortere.
3. Højt: stikke, klippe, knibe.

2. og 3. kilde logbog over arbejde

De 2 andre skemaer med oplysning om arbejdsfunktion er indsamlet sammen med 3. sædprøve og 3. blodprøve. Samtidig med disse prøver er afleveret fortrykt skema, hvor timetallet med forskellige arbejdsfunktioner de foregående 1-2 uge(r) er udfyldt.

Disse mere præcise opgørelser over arbejdsfunktion er brugt ved udarbejdelsen af indekset, udarbejdet på baggrund af arbejdsfunktion og transfektører, se senere.

7.2.4 Personlig hygiejne

I grundskema er spurt om antal gange daglig håndvask og om brug af handsker ved det almindelige arbejde, ikke sprøjtning.

7.2.5 Plasma-cholinesteraseaktivitet

Plasma-cholinesteraseaktivitet er analyseret i alle 3 blodprøver. Forskel i plasma-cholinesteraseaktivitet var tænkt som indikator for forskel i intern eksponering for cholinesterase-hæmmende pesticider på forskellige tidspunkter.

7.2.6 Sprøjtning

Sprøjternes eksponering (kaldes sprøjtere, men alle udlægningsmetoder incl. vanding er inkluderet) bestemmes ud fra personlige logbøger. Logbøgerne er ført for hver sprøjtning. Der er oplysninger om 3938 sprøjtninger. For hver sprøjtning er registreret timeforbrug, om der er foretaget klargøring/rengøring af anvendt materiel, metode, brug af beskyttelsudstyr og personlig hygiejne i forbindelse med sprøjtningen. I analyse af tværsnitsdata for 1. sædprøve er informationerne fra alle sprøjtningerne - udført 13 uger før indhentning af 1. sædprøve - anvendt.

Inddelinger:

- 1: Sprøjter/ikke sprøjter (hvis man har sprøjtet i de 13 uger, er man sprøjter).
- 2: Antal sprøjtemimer, timetal summeret, opdelt i 3 niveauer.
- 3: Brug af væremidler og personlig hygiejne ved sprøjtning er vurderet. Sprøjterne er opdelt i de, der konsekvent bruger væremidler eller har god hygiejne (handske, heldragt, maske, tøjskift, bad og håndvask efter sprøjtning) og de, der ikke er konsekvente eller slet ikke bruger noget/er hygiejniske. Opdelingen er lavet for alle sprøjtninger samlet, og for hver af undergrupperne insekticider, fungicider, vækstregulatorer og mistænkt spermatotokiske. Desuden er mest anvendte sprøjtemetode fundet ud fra det antal gange, de forskellige metoder er anvendt.

7.3 Arbejdsfunktion vurderet ved transferfaktorer

Arbejdsfunktion

Deltagernes arbejdsfunktion er bestemt ud fra oplysninger, der er indhentet sammen med 3. sædprøve. Arbejdsfunktionen, som blev anvendt ved denne klassifikation er den, der var udført i flest timer (i løbet af en 14 dages periode).

TFR transferfaktor

Transferfaktor kan bruges til at estimere dermal eksponering (se indledning). Den beskriver forholdet mellem håndeksponering og DFR (dislogeabel foliar residue). Transferfaktoren afhænger af arbejdsfunktion, kultur (bl.a. fordi kulturens størrelse er afgørende for hvor meget man kommer i kontakt med bladene) og DFR. DFR er afhængig af sprøjtehyppighed, anvendte pesticider, formuleringer og mængde, nedbrydningforhold og tid siden sidste sprøjtning.

Målinger

Med støtte i de målinger, Statens Planteavlsforsøg har foretaget af transferfaktorer, er arbejdsfunktionerne klassificeret i 3 eksponeringsniveauer.

Klassifikation

Klassificeringen er foregået sammen med E. Kirknel og A. Nøhr Rasmussen fra Statens Planteavlfsforsøg.

- 1: ueksponeret og transferfaktor <1000
- 2: transferfaktor 1000-2000
- 3: transferfaktor 2000-

For de deltagere, hvor der ikke forelå målinger af eksponeringen ved den relevante arbejdsfunktionen fra et gartneri med samme kultur, er foretaget skøn. Der er justeret en klasse op, hvis gartneriet havde et stort pesticidforbrug eller store kulturer. På samme måde er justeret en klasse ned ved små kulturer eller lille pesticidforbrug (Tabel 12).

11 personer (12%) er klassificeret på baggrund af målinger af arbejdsfunktion i eget gartneri.

37 personer (39%) er klassificeret på baggrund af målinger i eget gartneri, med sammenlignelige arbejdsfunktioner, eller målinger i andet gartneri med samme kultur.

De 3 nystartede er sat i gruppe 0 (=1).

De resterende 42 (54%) er klassificeret ud fra målinger af samme arbejdsfunktion i andre gartnerier med andre kulturer.

*Tabel 11 Transferfaktorer målt af Planteværnscentret
Transferfactors measured by Planteværnscentret.*

Gartneri	Pesticid	Arbejds-funktion	Dermal eksponering µg/8 timer	Transferfaktor cm ² /time
1	paclobutrazol	pille knopper af, kvalitetsmærke	91 40	1295 502
1	paclobutrazol	flytte borde	68	
1	paclobutrazol	manuel og maski- nel pakning	30	248
1	pirimicarb	stiklinge trimning	74	1323
4	endosulfan	stiklingsrutine	960	2960
4	endosulfan	pakkere	800	2638
8	pirimicarb	tage stiklinger fra moderplante	0	
11	mercaptodi- metur	pakning, langrankede	58200	1556
11	mercaptodi- metur	pakning, kortrankede	28000	1168
2	methomyl	pakning og sam- menstilling	0	
2	methomyl	pakning og sammenstilling	0	
2	methomyl	pakning (3)	0	
2	methomyl	pakning (4)	0	

* Målingerne er gennemført af Statens Planteavlfsforsøg i Flakkebjerg og Lyngby, af E. Kirknel i samarbejde med A. Nøhr Rasmussen. Undersøgelserne beskrives nærmere i publikation fra Miljøstyrelsen (nr. endnu ukendt).

Resultaterne i hver kategori bygger på ganske få målinger, og må derfor betragtes som meget usikre estimerter.

Tabel 12 Fordeling af 93 undersøgelsesdeltagere på væsentligste arbejdsfunktion og klassificering af arbejdsfunktions eksponering niveau.

Distribution of 94 participants on most important jobtask and transferfactor.

Arbejdsfunktion	ikke eksponeret/lavt N=38	middel/medium N=42	højt/high N=13
Smed, vedligeholdelsesarbejder, elever nystartede	6		
Administrativt arbejde +/- andet	10		
Pasning overvågning,sjælden plante kontakt	6		
Passe pottemaskine	4		
Flytte borde	3		
Løbende rengøring,	1		
Så,prikle, plante, potte	1 (lille kultur, lille pesticidforbrug)	3	
Stille på afstand	1 (måling i gartneri)	3	
Pakke, slå papir om kasser	1		
Pasning overvågning med hyp- pig plantekontakt	3 (måling i gartneri)	4	
Tømme huse	1 (måling i gartneri)	1	
Pakke, tage planter fra borde	1 (lille kultur, lille pesticidforbrug)	29	
Rykke Potter sammen		2	
Klippe/nippe stiklinger, stikle			13

8 Dataanalyse

8.1 Eksponeringsdata, plasmacholinesterase

Forskel fra første til tredje og anden til tredje blodprøve er analyseret i henholdsvis sæd- og kromosomskade studiet. Data er normalfordelte uden transformation, og der er anvendt parret t-test.

8.2 Sædkvalitet

8.2.1 Tværnitsanalysen

Effekt mål analyseres i forhold til eksponerings klassifikationerne. Først gartnere/økolog, derefter gartnergruppen internt. Ingen sædkvalitetsmål er normalfordelt. Derfor vurderes først medianerne for de rå data. Derefter foretages påsættende transformation og lineær regressionsanalyse af koncentration, procent døde, procent med normal morfologi og hastighed VCL bedømt ved CASA. I modellen medtages fast en række relevante biologiske og livsstilsbetegnede potentielle confoundere.

8.2.2 Longitudinelle

I forløbsstudiet analyseres forskelle i koncentration, procent døde, procent med normal morfologi og hastighed bedømt ved CASA fra vinter- til sommerprøve. Forskellene analyseres for gartnere/økologer og for gartnergruppen internt. For gartnergruppen analyseres forskellene i forhold til gartneriets ændring i pesticidforbrug, de personlige eksponeringsmål og transferfaktorindekset.

Forskellene i de forskellige eksponeringsmål er alle beregnet på de transformerede værdier som vinterprøve minus sommerprøve.

8.2.3 Transformation

For at opnå betinget normalfordeling er anvendt 3.-rod transformation af koncentration. Procent døde og procent med normal morfologi opfylder normalitetskravet efter en logittransformation.

Ved analyse af motilitetsmålet VCL ved CASA, er 4 deltagere, hvor alle celler er ubevægelige, ekskluderet. Herefter er data normalfordelt. Med brug af disse transformationer er residualerne i de anvendte modeller normalfordelte.

8.2.4 Confoundere

Tabel 13 viser de confoundere, der er medtaget i regressionsanalysen i tværnits- og forløbsstudiet.

Tabel 13 Confoundere medtaget i regressionsanalyse tværs-nitsstudie
Confounding included in the regression analysis, cross-sectional study

Biologiske:	
Personrelaterede	
Alder	kontinuert i år
Alvorlig urogenital sygdom	+/- behandling for kryptorchisme eller mindre end 2 testikler i scrotum
Sædprøverelaterede	
Abstinenstid	kontinuert, ln(abstinenstid)
Spild	+/- ved sædprøveopsamling
Feber	+/- >38.5 3 mdr. før sædprøveopsamling
Tid fra opsamling af sæd prøve til analyse (kun medtaget ved motilitet og vitalstatus)	3 niveauer, <30, 30-<60, >= 60 minutter
Livsstilsbetingede:	
Tobak	+/- ryger ved indhentning af 1. sædprøve
Siddende arbejde	overvejende stående arbejde vekslende stående/siddende arbejde overvejende siddende arbejde

Tabel 14 Confoundere medtaget i regressionsanalysen, forløbsstudie
Confounders included in the regression analyses, longitudinal study.

Forskel i abstinenstid	abstinenstid ved 1. prøve - abstinenstid ved 3.prøve (abstinenstider over 7 dage sat til 8)
Forskel i spild	+/- forskel i spild ved 1. og 3. sædprøveopsamling
Feber ved 1. sædprøve	+/- >38.5 3 mdr. før 1. sædprøveopsamling*

Abstinenstid Abstinenstiden er den væsentligste potentielle confounder. Koncentrationen stiger i de første dages abstinens for derefter at flade ud. I en række undersøgelser beder man deltagerne om at tilstræbe en bestemt abstinenstid før aflevering af prøven. Det er svært at få dette krav opfyldt, og det vil som regel alligevel være nødvendigt med korrektion. Vi har derfor ikke ønsket at stille dette krav, da vi vurderer, at vi får mere valide oplysninger om abstinensperioden ved ikke at bede om en bestemt abstinensperiode. I den første sædprøve har økologerne kortere abstinenstid end gartnerne (Tabel 5). Dette er ikke tilfældet i 3. prøve

(økologernes 2.). Der er formodentlig tale om en weekendeffekt (økologernes 1. prøve er indhentet i en weekend, de øvrige på hverdage).

Alder

Alder regnes ikke for at have den store betydning i en population, der er så ung som denne (80). Der er ved analyse af dette materiale fundet en svag tendens til fald i koncentration med stigende alder. Da den gennemsnitlige alder er forskellig i de 2 grupper, er alder her taget med i analyserne som confounder.

Urogenitale sygdomme

Der er indhentet oplysninger om en række urogenitale sygdomme. Flere af disse er skævt fordelt i de 2 grupper, men har ikke betydning for sædkvaliteten. Kun de alvorligere lidelser, tidligere behandling for kryptorchisme eller mindre end 2 testikler i scrotum er her forbundet med nedsat sædkvalitet. Disse lidelser er skævt fordelt mellem gartner og økologer.

Feber

Feber (mere end 38,5 grader målt i endetarm) indenfor 3 måneder før prøveopsamling, er forbundet med lav koncentration ved 1. sædprøve, vinterprøven. Ved 3. sædprøve, økologernes 2. om sommeren, ses denne forskel ikke.

Spild

De, der rapporterer spild ved sædprøveopsamlingen, har lavere koncentration og volumen end personer uden spild. Det er umiddelbart forståeligt, at spild vil medføre lavere volumen. Den lavere koncentration kan muligvis forklares ved, at spildet oftest vil være det første mest cellerige sædvæske.

Rygere

Rygning påvirker sædkvaliteten (87). Også i denne undersøgelse har rygere dårligere sædkvalitet end ikke rygere. Det er en mulighed, at rygere er mere pesticid eksponerede end andre. Det er kendt fra andre eksponeringer på partikelform (f.eks. bly), at den perorale eksponering er betydelig. Det er ligeledes kendt, at rygere er specielt utsatte. De fører forurening fra hænderne til munden. Da rygning er en confounder, ønsker vi at inddrage den i modellen. Vi ønsker derimod ikke at kontrollere for en måske betydningsfuld eksponering. Vi har derfor i tværnsitsstudiet gennemført analyserne både med og uden tobaksrygning i modellen. I de analyser, hvor rygning er medtaget, har også arbejdsstilling været med.

Alkohol og koffein

Det er ikke beskrevet, at alkohol og koffein har effekt på sædkvalitet i de mængder, der indtages i denne population. Vi har ikke ved analyse af materialet fundet sammenhæng mellem effektmål og indtag af alkohol eller spiritus. I analyserne er forbrug af alkohol og koffein inddelt i 4 niveauer. Alkohol: -7, 7-13, 14-20, 21- genstande pr. uge og koffein - 2000, 2000-3999, 4000-5999, 6000- mg. pr. uge. Der er heller ikke forskelle i indtag mellem gartner og økologer. Alkohol og koffeinindtag er derfor ikke medtaget som potentielle confoundere i analyserne.

Sæson

Prøverne til tværnsitsstudiet er alle indhentet på samme årstid, ellers ville det være relevant at kontrollere for årstid, da der i andre europæiske lande er fundet lavere sædkvalitet i eftersommeren.

8.2.5 Koncentration i forhold til udvalgte confoundere

Tabel 15 Sædkarakteristika i forhold til alder

Semen karakteristica i relation to age
Median (25 75 percentil)

Alder Age	Koncentration Density mill/ml	Volumen ml. Volume ml.	Total tal Total count mill. #	Abstinenstid Time of continence
18-19	112 (182 28)	2.5 (1.2-5)	252 (70 504)	2 (2-5)
20-29	70 (128 38)	2 (1.3-3.5)	176 (92 248)	2 (0.8-3)
30-39	105 (173 40)	2.3 (3.5-1.5)	258 (130 459)	2 (0.8-4)
40-45	77 (116 22)	3.5 (2.7-4.2)	180 (91 377)	2 (2-5)

Personer med spild ekskluderet

Tabel 16 Koncentration, volumen og totaltal i relation til abstinenstid

Density, volume and count in relation to time of continence
Median (25 75 percentil)

Abstinenstid Time of continence	Koncentration Density mill/ml	Volumen ml. Volume ml.	Total tal Count mill. #
<2	62 (24 100)	1.6 (1.1-2.3)	118 (79 208)
2-3	99 (40 165)	2.4 (1.5-3.3)	228 (113 394)
4-5	119 (70 168)	4.25 (2.5-6)	438 (208 546)
6<	94 (54 199)	3.5 (1.7-5)	320 (162 892)

Personer med spild ekskluderet

8.2.6 Statistisk analyse

Alle analyser af sædmål er foretaget med SAS, Basics og Statistics. Der er anvendt chi-square test på 2*2 tabeller. Ved forventet værdi <5 celler er brugt Fishers eksakte test. Ved sammenligning af middelværdier på normalfordelte parametre er anvendt uparret t-test, (SAS, proc t-test). Ved sammenligning af normalværdier på ikke normalfordelte parametre er brugt Wilcoxon 2-sample test (SAS proc npar1way wilcoxon).

Normalitetstestning er foretaget ved (SAS, proc univariate) Kolmogonov test for normalitet. (Shapiro-Wilk for N<=50).

Den lineære regressionsanalyse er foretaget ved SAS, proc GLM. Der er i analyserne af koncentration, vitalstatus, morfologi og motilitet bestemt ved CASA inddraget en fast række af mulige biologiske confoundere. Koncentrations-analyserne er desuden gennemført med både de

biologiske confoundere og enkelte livsstilsbetegnede mulige confoundere i modellen. Som kontrol af de modeller, der er anvendt i den lineære regression, er residualerne vurderet. Residualerne er vurderet ved plot i forhold til forventet værdi og ved normalitetstest.

8.3 Kromosomskader

8.3.1 Effektmål

Effektmålene for kromosomafvigelser er opdelt i følgende skadetyper:

1. Total antal gaps (kromatid plus kromosom)
2. Kromatidbreaks og -exchange, gaps ikke medtaget
3. Kromosombreaks og -exchange, gaps ikke medtaget
4. Total antal kromatid- og kromosomskader, gaps ikke medtaget
5. Total antal kromatid- og kromosomskader, gaps medtaget

8.3.2 Analysesstrategi

Præsentationen af data er for hver af de 5 kromosomskadetyper angivet som en procentsvis middelværdi (mean (%)) med angivelse af 1 standarddeviation (SD). De angivne værdier udtrykker den procentvise, gennemsnitlige hyppighed af kromosomskader i de enkelte undersøgelsesgrupper og er for forståelsens skyld ikke et udtryk for den procentvise hyppighed af personer med skader. Præsentation af middelværdier forudsætter ideelt, at data er normalfordelt. Ingen af de målte effektmål fandtes imidlertid normalfordelte, hvilket bl.a. ses af værdiernes variationsbredde på 1. standardafvigelse (SD). Forfatterne finder alligevel, at denne måde at præsentere kromosomskadedata i forhold til andre måder (f.eks. angivelse af medianer), alt andet lige er den mest illustrative og informative måde at præsentere observerede forskelle mellem undersøgelsesgrupper. Dette skal endvidere ses i lyset af, at hovedparten af tilsvarende internationale videnskabelige undersøgelser også præsenterer data på denne måde. Dette indebærer fordele, fordi det til en vis grad bliver muligt at sammenligne de forskellige undersøgelsesresultater med hinanden. For at eliminere datas normalfordelingsproblem, er den generelle analysesstrategi baseret på dikotomisering af kromosomeffektmålene i følgende variable: Ingen kromosomafvigelser ("rask") respektivt mere end én kromosomafvigelse ("syg"). Der er anvendt chi-square test på 2*2 tabeller og Fishers eksakte test ved stratum mindre end 5 personer. Logistisk regression er anvendt i analyser mellem økologer og gartnere, hvor der er behov for at korrigere effektmålene for alder og tobaksrygning, - begge baggrundsvARIABLE der vides at kunne influere på antallet af kromosomafvigelser. I disse analyser er rygning og alder dikotomiseret i følgende variable: ryger/ikke ryger respektivt over og under 30 år.

Som signifikansniveau anvendes 5%. I enkelte beregninger præsenteres tillige odds ratio (OR) med angivelse af 95% sikkerhedsinterval (CI 95%).

Data er analyseret ved at benytte SPSS/PC statistikprogram.

8.3.3 Kromosomafvigelser i relation til rygning og alder

I tabel 17 og 18 ses hyppigheden af kromosomafvigelser i relation til tobaksrygning og alder. Der observeres ingen forskelle.

Tabel 17 Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) i relation til rygning.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in relation to current smoking status.

Type kromosomafvi-gelse	Rygere n=45 Mean % (SD)	Ikke-rygere n=97 Mean % (SD)	P-værdi
Gaps	0.49 (0.66)	0.51 (0.68)	0.89
Kromatid-type	0.82 (1.03)	0.95 (0.89)	0.09
Kromosom-type	0.49 (0.66)	0.40 (0.72)	0.19
Alle typer excl. gaps	1.31 (1.35)	1.35 (1.13)	0.18
Alle typer incl. gaps	1.80 (1.44)	1.86 (1.26)	0.06

Tabel 18. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) i relation til alder.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in relation to age.

Type kromosomaf-vigelse	-30 år n=75 Mean % (SD)	>30 år, n=97 Mean % (SD)	P-værdi
Gaps	0.60 (0.66)	0.39 (0.67)	0.01
Chromatid-type	0.84 (0.92)	0.99 (0.96)	0.42
Chromosom-type	0.44 (0.78)	0.42 (0.61)	0.41
Alle typer excl. gaps	1.28 (1.23)	1.40 (1.17)	0.15
Alle typer incl. gaps	1.88 (1.28)	1.79 (1.35)	0.79

9 Resultater

9.1 Plasma-cholinesterase aktivitet

Der var fald i plasmacholinesterase aktivitet fra 1. blodprøve til 3. blodprøve, men ikke fra 2. til 3. blodprøve. Plasmacholinesterase-aktiviteten falder ikke over sommeren, men fra januar/februar til marts.

Tabel 19.a Plasma-cholinesterase aktivitet i de 3 blodprøver, alle

Plasma-cholinesterase activity in the 3 blood samples, all

	1. prøve N=122	2. prøve N=110	3. prøve N=74
mean (SD)	8.56 (1.73)**	8.18 (1.75)	8.18 (1.74)

Tabel 19.b Plasma-cholinesterase aktivitet i de 3 blodprøver, kun hos de personer der har afleveret alle 3 prøver

Plasma-cholinesterase activity in the 3 blood samples, only persons who have delivered all samples

	1. prøve N=74	2. prøve N=74	3. prøve N=74
mean (SD)	8.51 (1.79)**	8.20 (1.84)	8.18 (1.75)

** 1-3 prøve P<0.0001, parret t-test

9.2 Sædkvalitet, tværsnitsstudie

9.2.1 Sædkvalitet

Rå værdier

På de følgende sider præsenteres sædkvalitetsmål analyseret i forhold til en række eksponerings-klassificeringer. For hvert eksponeringsindeks vises først medianer for diverse effektmål.

Korrigerede værdier

Dernæst vises resultaterne ved regressionsanalyser for koncentration, procent døde, procent normale og hastighed bestemt ved CASA, VCL.

Koncentration

For at kunne gennemføre regressionsanalyse på koncentrationerne er foretaget 3-rods transformation. Det gør det vanskeligt at beskrive data, så de kan relateres til de oprindelige tal. Vi har valgt at vise forskellen mellem forskellige eksponeringsgrupper ved fiktivt at sætte referencegruppen (oftest de mest eksponerede) til en koncentration på 80 mill/ml. Af tabellen kan så aflæses hvad koncentrationen ville være for de øvrige eksponeringgrupper, hvis de kun adskilte sig fra referencegruppen ved at tilhøre en anden eksponeringkategori. Sikkerhedsintervalerne angiver usikkerheden på bestemmelsen af denne forskel.

Vitalstatus og morfologi

Procent døde sædceller og procent med normal morfologi er i modellen logit-transformeret, derfor kan angives odds ratio i forhold til referencegruppen.

Motilitet

Hastigheden VCL bedømt ved CASA, var normalfordelt efter eksklusion af 4 personer med 100% ubevægelige sædceller. De opgivne tal er derfor forskel i hastighed i forhold til referencegruppen.

9.2.2 Gartnere og økologer

Tabel 20 Gartnere/økologer

Ghw/MOA

	Gartnere Greenhouseworker			Økolger/MOA	
	N	Median (0 25 75 100 percentiler)	N	Median (0 25 75 100 per- centiler)	
Koncentration Density mill/ml	122	83 (1.4 36 146 504)	30	100 (0 50 166 278)	
Volumen Volume	120	2.3 (0.1 1.45 3.4 8.7)	30	2.3 (0.7 1.2 3.5 8.3)	
Totalt mill. Count#	95	204 (1 92 330 1460)	22	227 (0 118 509 1370)	
% med god motilitet % with good motility	122	49 (0 37 57 72)	29	39 (20 28 54 66)	
% døde/dead	119	25 (7 18 36 76)	29	17 (4 13 22 43)	
% med/with normal morfologi	119	67 (26 59 73 87)	29	69 (20 59 74 84)	
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	116	64 (0 55 77 102)	28	74 (0 61 86 98)	

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	Gartner/ghw	Økolog/MOA (ref.)
Koncentration mill/ml mean, 95% CI	55 (32 88)	80
% døde OR (95% CI)	1.67 (1.17 2.87)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	0.95 (0.72 1.24)	1
Hastighed VCL m/sek. (95% CI)	-8.09(-15.59 -0.59)	0

Gartnerne har dårligere sædkvalitet end økologerne, men der er ikke stor forskel. Forskellen i koncentration er ikke signifikant efter kontrol for relevante confoundere ($p=0.12$). Men gartnerne har en signifikant højere procent døde sædceller og dårligere motilitet bedømt ved CASA, VCL. Der er ikke forskel i procent med normal morfologi. Gartnergruppen indeholder 6 personer der er ueksponerede (3 nystartede og 3 vedligeholdelses arbejdere). Hvis disse ekskluderes er forskellen til økologerne større. Forskellen i koncentration er efter confounderkontrol grænsesignifikant ($p=0.06$).

9.2.3 Livseksponeering

Tabel 21 Årstat startet som gartner

Årstat startet som gartner

	1990-1994 N=27	1980-1989 N=61	-1979 N=34
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100% percentil)
Koncentration Density mill/ml	110 (1.4 38 174 292)	70 (2 42 130 328)	81 (4 26 168 504)
Volumen ml	2.3 (0.6 1.1 3.3 6.3)	2.25 (0.1 1.45 3.35 8.7)	2.8 (0.9 1.5 3.7 7.5)
Totalt Count mill.	216 (0.8 121 360 1460)	165 (4.6 92 252 600)	237 (16 70 464 1102)
% med god motilitet % with good motility	47 (0 41 58 63)	51 (5 42 58 72)	46 (10 32 56 65)
% døde/dead	26 (7 14 33 48)	25 (7 20 36 76)	25 (13 19 38 66)
% med/with normal morfologi	65 (39 56 71 83)	65 (38 60 74 87)	71 (26 56 76 84)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	64 (0 59 82 97)	63 (0 53 77 102)	66 (0 56 76 90)

Forskelle efter confounderkontrol Differences after confoundercontrol

	1990-1994	1980-1989	-1979 (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	80(38 144)	83(49 130)	80
% døde OR (95% CI)	0.57(0.34 0.94)	0.65(0.44 0.95)	1
% med normal morfologi OR (95% CI)	0.78(0.52 1.16)	0.95(0.70 1.27)	1
Hastighed VCL µm/sek (95% CI)	4.2(-6.7 15.1)	1.35(-7.5 9.35)	0

Tabel 22 Antal år som væksthusgartner med prydplanteproduktion

Years in greenhouse with pot culture or cut flower

	-5 N=37	5-9 N=40	10- N=45
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	110 (1.4 42 176 292)	71 (2 52 126 504)	62 (4 26 140 328)
Volumen ml Volume ml	2 (0.6 1.1 2.8 6.3)	2 (0.1 1.4 3.5 7.1)	2.5 (0.9 1.5 3.6 8.7)
Totaltal Count mill.#	210 (0.8 121 348 1460)	192 (4.6 108 256 655)	167 (16 73 420 1102)
% med god motilitet % with good motility	50 (0 41 58 63)	50 (5 43 56 69)	47 (10 31 56 72)
% døde % dead	24 (7 15 32 50)	25 (7 21 33 76)	28 (8 19 28 66)
% med/with normal morfologi	64 (39 56 70 83)	67 (38 61 75 87)	71 (26 56 75 84)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	67 (0 59 82 97)	63 (0 54 76 92)	64 (0 53 75 102)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	-5	5-9	10- (ref)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	125(71 193)	102(65 152)	80
% døde OR (95% CI)	0.59 (0.39 0.91)	0.79 (0.55 1.11)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	0.73 (0.52 1.01)	0.94 (0.69 1.21)	1
Hastighed µm/sek. (95% CI)	8.5 (-0.47 17.4)	3.0 (-4.4 10.6)	0

Tabel 23 Antal gange med pesticidudlægning gennem arbejdslivet

Number of applications during work life

	-49 N=22	50-99 N=41	100- N=40
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	105 (8 46 182 280)	70 (2 38 134 504)	79 (4 34 116 298)
Volumen ml Volume ml	1.8 (0.1 1.3 3 6.3)	2.2 (0.3 1.3 3 6.3)	3 (0.5 2 4 7.5)
Totaltal Count mill.#	209 (5 121 348 595)	208 (44 92 305 1096)	208 (16 119 357 1103)
% med god motilitet % with good motility	50 (10 41 57 62)	50 (5 40 58 69)	48 (10 31 55 72)
% døde % dead	23 (7 16 33 66)	26 (13 21 32 68)	25 (9 19 42 76)
% med/with normal morfologi	66 (50 61 77 87)	65 (26 56 73 82)	67 (34 37 74 84)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	68 (49 59 82 93)	70 (0 58 81 92)	62 (0 51 69 102)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	-49	50-99	100- (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	106 (65 162)	78 (59 127)	80
% døde OR (95% CI)	0.78 (0.51 1.17)	0.96 (0.73 1.31)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.13 (0.84 1.15)	0.94 (0.73 1.21)	1
Hastighed, VCL (95% CI)	9.26 (0.56 18)	7.1 (0.3 13.9)	0

Ved analyse af et af målene for livsekspionering findes stigende eksponering relateret til fald i sædkvalitet. Det er antal år med arbejde i væksthus med prydplanteproduktion. De, der har været beskæftiget 10 år eller derover, har i forhold til de med mindre end 5 års beksæftigelse signifikant/grænsesignifikant dårligere sædkvalitet, bedømt ved flere sædkvalitetsmål, koncentration $p=0.08$, pct. døde $p=0.02$, motilitet bedømt ved CASA, VCL $p=0.06$. (De p værdier der angives her er fra analysen hvor tobak og arbejdsstilling ikke er med i modellen; der er ingen væsentlig forskel på, om de er med eller ej). Der er trend fra de højest til de lavest eksponerede i koncentrationsmålene. Tendensen ses ikke ved % med normal morfologi.

For at vurdere om fundet er et udtryk for massesignifikans, er analysen gentaget på 3. sædprøve. Med de store intra-individuelle svingninger der er i sædkvalitet, vil det tale imod et tilfældigt fund, at det reproduceres ved analyse af en ny sædprøve. Ved analyse af antal år som gartner i

væksthus med blomsterproduktion, findes i 3. sædprøve også fald ved længere tids eksponering. Der deltager færre med 3. prøve og forskellen i koncentration er ikke signifikant ($p=0.16$).

Faldet i koncentration kan groft beregnes til at være ca. 1% om året (beregnet i en model hvor koncentrationen er log transformered, den er ikke så pæn som 3-rods transformationen og lever ikke op til at recidualer skal være normalfordelte, men på et plot af recidualer ses ingen systematiske skævheder).

9.2.4 Gartnerindeks

Af tabel 24 ses resultatet af analyse med gartnerispecifikt indeks for samlet pesticidforbrug. Kun personer med kontakt til behandlede planter eller jord mindst 2 timer daglig er medtaget. Tre nyansatte er ikke medtaget.

Tabel 24 Gartnerindeks alle pesticider udlagt (13 uger)

Greenhouse index, all pesticides applied

Indeks N=101	-3 N=25		3-<6 N=40		6- N=36	
	Median (0 25 75 100 per- centil)		Median (0 25 75 100 percentil)		Median (0 25 75 100 percentil)	
Koncentration Density mill/ml	86 (22 46 116 182)		67 (1 32 51 290)		101 (2 30 200 504)	
Volumen ml Volume ml	2.5 (0.9 1.4 4 6.5)		2.3 (0.1 1.3 3.1 7.5)		2.2 (0.3 1.2 2.9 5)	
Totalt Count mill.#	204 (66 92 311 1096)		160 (1 85 272 595)		248 (34 130 438 1460)	
% med god motilitet % with good motility	51 (15 43 58 69)		47 (0 30 55 68)		47 (6 39 55 62)	
% døde % dead	24 (13 19 32 54)		32 (9 24 40 76)		24 (7 15 33 68)	
% med/with normal morfologi	68 (26 60 73 87)		67 (53 68 76 84)		68 (26 57 73 87)	
Hastighed (velocity) VCL µm/sek.	63 (38 53 75 93)		63 (0 52 75 87)		68 (0 58 79 90)	
Forskelle efter confounderkontrol Differences after confoundercontrol						
	-3	3-<6		6- (ref.)		
Koncentration mill/ml mean (95% CI)		60(33 98)		70(42 105)		80
% døde OR (95% CI)		1.04(0.73 1.48)		1.22 (0.88 1.70)		1
% normal morfologi OR (95% CI)		0.95 (0.71 1.27)		1.02 (0.79 1.31)		1
Hastighed µm/sek. (95% CI)		-4.67 (-11.6 2.3)		-4.9 (11.3 1.5)		0

Analyserne er også gennemført for de forskellige delgrupper af pesticider, insekticider, fungicider og vækstreguleringsmidler, og stoffer der er mistænkt spermatotokiske. Der findes ikke i disse analyser tegn til påvirkning af spermatogenesen ved stigende forbrug (Bilag 2). Analyserne er også gennemført med restriktion til personer med mindst 4 timers dagligt arbejde i gartneriet. Heller ikke med denne strengere restriktion findes tendens til påvirkning af spermatogenesen ved stigende gartneriforbrug. Dvs. hvis eksponeringen udelukkende beskrives på baggrund af gartneriets forbrug af pesticider, findes ingen relation til sædkvalitet.

9.2.5 Personlige eksponeringsmål

Tabel 25 Timer daglig kontakt med planter

Daily hours contact with culturs

N=119	<2 N=18	2-<4 N=17	4 N=84
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	80 (8 42 112 288)	62 (1 48 100 504)	91 (2 35 160 328)
Volumen ml Volume ml	2.9 (1 1.8 4.5 8.7)	2.4 (0.6 1.4 3.5 5.1)	2.3 (0.1 1.4 3.2 7.5)
Totaltal Count mill.#	180 (24 81 432 756)	162 (1 75 381 1102)	210 (5 108 311 1460)
% med god motilitet % with good motility	54 (17 42 62 72)	43 (0 32 51 62)	49 (5 37 56 69)
% døde % dead	20 (8 15 26 58)	33 (7 23 48 66)	26 (7 19 34 76)
% med/with normal morfologi	64 (39 59 71 81)	72 (48 56 77 84)	67 (26 59 73 87)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	65 (49 57 77 102)	64 (0 54 70 89)	64 (0 55 78 93)

Forskelle efter confounderkontrol

Differences after confoundercontrol

	-2	2-<4	4- (ref.)
Koncentration mill/ml mean, 95% CI	77 (49 123)	58(32 94)	80
% døde OR (95% CI)	0.63 (0.42 0.93)	1.25 (0.86 1.8)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.09 (0.82 1.46)	1.17 (0.87 1.57)	1
Hastighed VCL mean (95% CI)	7.01 (-1.32 15.3)	-0.12 (-7.9 7.6)	0

*Tabel 26 Arbejdsfunktion
Job task*

Eksponering Exposure	lav/low N=50	middel/medium N=58	højt/high N=9
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	80 (2 23 128 504)	97 (1 46 178 328)	58 (16 36 100 112)
Volumen ml Volume ml	2.5 (0.3 1.5 3.7 8.7)	2.2 (0.1 1.3 3.1 6.5)	2.5 (1.2 2 3.4 4.5)
Totaltal Count mill.#	175 (16 81 357 1103)	208 (1 108 310 1460)	148 (38 97 218 504)
% med god motilitet % with good motility	50 (10 41 57 72)	49 (0 37 57 69)	43 (4 37 54 63)
% døde % dead	24 (7 17 34 68)	26 (7 21 35 76)	25 (15 18 39 62)
% med/with normal morfologi	69 (34 60 75 84)	66 (26 56 72 87)	62 (46 56 75 80)
Hastighed/velocity VCL $\mu\text{m}/\text{sek.}$	64 (0 54 77 102)	65 (0 55 79 93)	59 (38 54 63 78)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	ikke/lidt	middel	høj (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	101(53 172)	132(79 204)	80
% døde OR (95% CI)	0.90 (0.52 1.57)	0.95 (0.54 1.58)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.24 (0.28 1.87)	1.07 (0.74 1.55)	1
Hastighed $\mu\text{m}/\text{sek.}$ (95% CI)	7.0 (-4.05 17)	10.0 (-0.52 20.5)	0

I det første spørgeskema har vi spurgt deltagerne, hvad der er deres væsentligste arbejdsfunktion. Denne analyse er lavet ud fra disse oplysninger. Der er en tendens til, at de med de mest eksponerede arbejdsfunktioner har en dårligere sædkvalitet. Men gruppen er meget lille (N=9), og der er ikke tale om signifikante forskelle. Som højt eksponeret arbejdsfunktion indgår klippe, nippe og stikke.

*Tabel 27 Brug af handsker
Use of gloves*

N=101	Altid/Always	Sommetider/ sometimes	Aldrig
	N=18	N=42	N=40
	Median (0 25 75 100 per- centil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	70 (2 62 134 248)	63 (4 28 104 298)	109 (1 34 187 504)
Volumen ml Volume	2.2 (0.3 1.3 3 4)	2.1 (0.1 1.2 3.2 7.5)	2.5 (0.6 1.5 3.4 6.5)
Totalt Count mill.#	165 (83 122 231 402)	160 (5 79 252 1102)	272 (1 144 459 1460)
% med god motilitet % with good motility	49 (10 42 59 66)	47 (4 37 54 62)	47 (0 32 47 69)
% døde % dead	30 (7 21 38 76)	24 (8 18 36 53)	28 (7 20 36 62)
% med normal morfologi % with normal morphology	61 (51 56 73 82)	69 (34 59 75 87)	64 (26 59 72 82)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	64 (0 53 75 90)	63 (0 56 77 93)	66 (0 52 80 92)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	altid	sommetider	aldrig (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	91(50 149)	63(39 96)	80
% døde OR (95% CI)	0.93(0.62 1.40)	0.89 (0.65 1.22)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	0.86 (0.61 1.20)	0.85 (0.66 1.10)	1
Hastighed µm/sek.	-0.17 (-9.7 9.3)	-1.7 (-8.2 4.8)	0

Tabel 28 Gange daglig håndvask
Times handwash each day

N=101	-2 N=8	3-5 N=70	6- N=22
	Median (0 25 75 100 per- centil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	29 (4 12 129 292)	95 (1 46 160 298)	66 (12 24 146 504)
Volumen ml Volume	1.8 (1 1.3 2.7 6.5)	2.4 (0.1 1.3 3.4 6.3)	2.5 (0.1 1.5 3.4 7.5)
Totaltal Count mill.#	150 (38 42 438 636)	215 (1 114 298 1460)	204 (66 92 459 655)
% med god motilitet % with good motility	36 (4 8 50 56)	48 (0 40 57 69)	48 (10 31 52 68)
% døde % dead	36 (18 21 49 50)	25 (7 18 36 76)	28 (9 22 45 54)
% med normal morfologi % with normal morfologi	57 (38 46 72 76)	69 (34 59 75 87)	64 (26 59 72 82)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	61 (0 48 81 89)	64 (0 53 75 93)	64 (38 58 78 89)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	-2	3-5	6- (ref.)
Koncentration mill/ml mean, 95% CI	51(16 110)	78(46 122)	80
% døde OR (95% CI)	1.22 (0.68 2.2)	0.99 (0.69 1.38)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	0.84 (0.51 1.63)	1.14 (0.86 1.53)	1
Hastighed (95% CI)	-4.1 (-17.4 9.35)	-5.0 (-12.1 2.1)	0

9.2.6 Arbejdsfunktioner klassificeret ved transferfaktorer

De forudgående eksponeringmål har alle kun taget højde for én faktor. Det følgende indeks, hvor der er foretaget klassificering af den enkelte deltagers arbejdsfunktion ud fra transferfaktorer, gartneriets kultur og pesticidforbrug, tager højde for flere faktorer samtidig. Vi vil derfor forvente, at det er et mere præcist mål for eksponering.

Tabel 29 Arbejdsfunktioner klassificeret på baggrund af transferfaktorer

Job task classified on transferfactors

Gruppe	ikke/lav N=38	middel/medium N=42	høj/high N=13
	Median (0 25 75 100 per- centil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	88 (2 34 200 504)	81 (8 54 144 328)	36 (4 26 80 170)
Volumen ml Volume ml	2 (0.1 1.3 3.3 8.7)	2.5 (1 1.7 3.4 7.5)	3 (1 2 4 6)
Totaltal Count mill.#	183 (5 80 412 1460)	231 (34 164 305 1096)	160 (16 87 170 595)
% med god motilitet % with good motility	50 (14 42 58 68)	48 (4 41 54 66)	35 (19 27 53 69)
% døde % dead	23 (7 14 32 76)	28 (7 23 38 66)	28 (15 22 34 62)
% med normal morfologi % with normal morfologi	71 (38 63 73 84)	65 (42 60 73 87)	61 (26 46 71 85)
Hastighed/velocity VCL $\mu\text{m}/\text{sek.}$	69 (0 55 81 97)	65 (0 59 75 93)	51 (34 47 67 92)

Forskelle efter confounderkontrol
Difference after confoundercontrol

	lav/lov	middel	høj (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	163 (101 245)	133 (81 205)	80
% døde OR (95% CI)	0.85 (0.52 1.39)	0.96 (0.58 1.56)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.51 (1.04 2.18)	1.25 (0.89 1.79)	1
Hastighed $\mu\text{m}/\text{sek.}$ (95% CI)	7.6 (-5.1 20.3)	8.0 (-3.2 20)	0

I de rå tal er der tendens til, at de højtekspónerede har dårligere sæd-kvalitet ved alle udfaldsparametrene. Efter confounderkontrol er forskellen i koncentration signifikant, og der er en trend med faldende koncentration ved stigende eksponering. Ligeledes har lavtekspónerede signifikant flere normale sædceller end højtekspónerede. Ved regressionsanalyse af 3. sædprøve med inddragelse af relevante confoundere, findes den samme tendens. Forskellen i koncentration i 3. prøve mellem højt og lavt eksponerede er signifikant ($p=0.007$) og der er også her

trend med faldende koncentration med stigende eksponering. Hvis den højest eksponerede gruppe sættes til median 50, vil middel og let eksponerede have en median på hhv. 85 og 105.

9.2.7 Sprøjtere

*Tabel 30 Sprøjtere
Applicators*

	Sprøjter/ Applicator N=75	Sprøjter ikke/ not applicator N=47
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	88 (2 42 160 504)	70 (1 28 138 328)
Volumen ml Volume ml	2.3 (0.3 1.4 3.5 7.5)	2.4 (0.1 1.5 3.3 8.7)
Totaltal Count mill.#	212 (24 108 357 1103)	189 (1 87 256 1460)
% med god motilitet % with good motility	49 (10 41 57 72)	49 (0 35 55 68)
% døde % dead	25 (7 18 34 76)	28 (7 18 40 58)
% med/with normal morfologi	64 (34 59 71 87)	69 (26 59 75 85)
Hastighed/velocity VCL µm/sek.	63 (0 53 75 97)	65 (0 56 77 102)

Forskel efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	Sprøjter/ applicator	sprøjter ikke not applicator (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	98(69 131)	80
% døde OR (95% CI)	1.01 (0.78 1.35)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.21 (0.99 1.5)	1
Hastighed VCL µm/sek.	1.32 (-4.5 7.2)	0

*Tabel 31 Sprøjtetimer
Hours applying*

Timer pr. uge.	<1 N=40	1-<2 N=18	2- N=17
	Median (0 25 75 100 per- centil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	83 (8 51 145 504)	67 (8 26 182 298)	88 (2 62 106 258)
Volumen ml Volume ml	2.8 (0.5 1.7 3.9 6.3)	2 (0.9 1 2.5 7.5)	1.7 (0.3 1 2.8 4.2)
Totalt Count mill.#	231 (24 119 438 1096)	162 (42 83 272 1103)	208 (44 99 239 272)
% med god motilitet % with good motility	49 (15 34 57 72)	51 (10 47 62 66)	46 (14 43 55 61)
% døde % dead	25 (7 18 35 76)	26 (8 18 38 62)	23 (14 19 30 68)
% med/with normal morfologi	69 (26 60 76 85)	68 (51 59 76 84)	68 (46 57 73 69)
VCL µm/sek.	64 (0 56 77 102)	70 (0 53 77 93)	65 (0 60 78 85)

Forskelle efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	-<1	1-<2	2- (ref.)
Koncentration mill/ml mean (95% CI)	66(36 109)	70(38 135)	80
% døde OR (95% CI)	1.06 (0.69 1.63)	1.02 (0.62 1.66)	1
% normal morfologi OR (95% CI)	1.04 (0.75 1.44)	1.20 (0.82 1.73)	1
Hastighed µm/sek.	-2.79 (-11.59 6)	-1.86 (-10.9 7.14)	0

Der findes ikke tegn til, at sædkvaliteten er påvirket hos de der sprøjter. Hverken ved sammenligning af sprøjtere/ikke sprøjtere, eller for sprøjtere i relation til det ugentlige antal sprøjtetimer.

Når sprøjterne opdeles i forhold til brug af væremidler, findes heller ikke forskel. Sprøjterne er delt op de, der konsekvent (dvs. altid) eller ikke konsekvent (dvs. sommetider/aldrig) bruger et givet væremiddel (handsker, heldragt, maske) eller går i bad, skifter tøj eller vasker hænder efter en sprøjtning. Der er ikke forskel hverken når sprøjtningerne tages under ét, eller opdeles i forhold til funktionsgrupperne af pesticider (insekticider, fungicider, vækstregulatorer) eller mistænkt spermatoxiske stoffer. Der findes heller ikke forskelle, når data analyseres i forhold til den mest brugte sprøjtemetode. Alle analyserne af sprøjtere i

relation til beskyttelsesudstyr og -metode er kun gennemført for koncentration.

Der findes et overraskende fund. De, der konsekvent går i bad og skifter tøj efter sprøjting, har en lav koncentration (median 33). Vi har forsøgt at vurdere, om det var personer, der under sprøjtingen blev specielt forurenede. Det har vi ikke kunne finde tegn til. De adskiller sig ikke fra de øvrige sprøjtere i deres konsekvens i brug af væremidler og bruger ikke en speciel sprøjtemetode. Vi vurderer derfor, at der er tale om et tilfældigt fund.

9.2.8 Kønshormoner

Tabel 32 Kønshormoner

Sexhormones

Hormon	Gartnere/greenhouse-worker N=122		Økologer/MOA N=29	
	mean	std.dev	Mean	std.dev
Testosteron nmol/l	25.42*	7.58	20.01	7.98
FSH IU/l	4.75	2.26	4.98	3.88
LH IU/l	4.25	1.68	3.96	1.97
SHBG nmol/l	22.42	7.84	24.17	7.44
Testosteronc/SHBG	Median (percentiler) 1.15** (0.5 0.9 1.5 2.8)		Median (percentiler) 0.85 (0.3 0.7 1.0 1.4)	

* p>|T|=0.02, i GLM efter kontrol for alder

** p<0.0001 Wilcoxon rang-sum test

Der er signifikant forskel på testosteron-niveauet hos gartnere og økologer. Testosteron falder med alderen, så en del af forklaringen er, at økologerne er ældre end gartnerne. Men forskellen er fortsat signifikant i regressionsanalyse med alder i modellen. Estimatet er så 4.25 med std. err. på 1.86. Indekset testosteron/SHBG, der er bedre udtryk for frit testosteron, er også signifikant forskelligt i de to grupper. Indekset er ikke normalfordelt, men ved nonparametrisk analyse med restriktion til de 30-40 årige, hvilket omfatter 21 økologer og 35 gartnere, er forskellen fortsat signifikant p<0.0016. Den mest sandsynlige forklaring på forskellen er, at blodprøverne ikke er taget på samme tidspunkt på dagen. Gartnernes er taget om morgen, hvor testosteronniveauet er højt i forhold til om eftermiddagen, hvor økologernes er taget.

Der er ikke forskelle i testosteron i gartnergruppen i relation til hverken antal år i væksthus, transferfaktorindeks eller antal gange daglig håndvask.

9.3 Sædkvalitet, longitudinelle studie

9.3.1 Effektmål i de 4 prøver

De følgende tabeller viser, hvorledes en række sædkvalitetsmål ændres fra vinter- til sommerprøven.

*Tabel 33 Koncentration i de 4 sædprøver mill/ml
Density in the 4 semen samples mill/ml*

(median 0 25 50 100 percentil)

	1.kvartal	2.kvartal	3.kvartal	4. kvartal
Gartner, alle	83 (1.4 36 146 504)	79 (2 32 132 442)	53 (1 18 115 380)	62 (1 30 110 430)
N=83 afleveret	74 alle prøver	80 (1.4 34 142 504)	54 (1 18 126 380)	62 (1 30 110 430)
Økolog, alle	100 (0 50 166 278)		82 (6 52 158 222)	
N=25 afleveret	106 begge prøver			
	(9 74 169 278)			

Øverste linje angiver værdier hvis alle der har afleveret den pågældende prøve er medtaget, nederste hvis kun medtages de, der har afleveret alle prøverne.

1.line is the values if all participants are included, next if only those who have participated with all semensamples.

*Tabel 34 Procent døde sædceller i de 4 sædprøver
Percentage dead spermatozoes in the 4 semensamples*

(median og 0 25 50 100 percentil)

	1.kvartal	2. kvartal	3.kvartal	4.kvartal
Gartner	25 (7 18 36 76)	15 (4 10 23 53)	21 (5 14 29 60)	18 (2 13 26 48)
Økolog	17 (4 13 22 43)		17 (3 14 24 51)	

Tabel 35 Procent med normal morfologi i de 4 prøver.
 Percentage with normal morphologi in the 4 sampels.

	1.kvartal	2.kvartal	3.kvartal	4.kvartal
Gartner	67 (26 59 73 87)	65 (25 58 72 89)	58 (12 51 67 93)	61 (27 55 72 87)
Økolog	69 (20 59 74 84)		73 (28 65 78 84)	

Tabel 36 Hastighed VCL, CASA i de 4 sædprøver
 Velocity i VCI, CASA in the 4 semen samples

	1.kvartal	2.kvartal	3.kvartal	4.kvartal
Gartner	63 (0 55 77 102)	74 (0 61 84 111)	76 (0 66 88 111)	76 (0 61 94 156)
Økolog	73 (0 61 86 98)		85 (44 75 90 109)	

9.3.2 Ændring i spermatozo-koncentration fra 1.-3. prøve i relation til eksponering

Både gartnere og økologer faldt kraftigt i sædcellekonzentration fra vinter til sommer. Faldet er nogenlunde lige stort blandt økologer og gartnere. I tidligere danske undersøgelser er ikke fundet så kraftig sæsonvariation.

Koncentrationsfald og eksponering

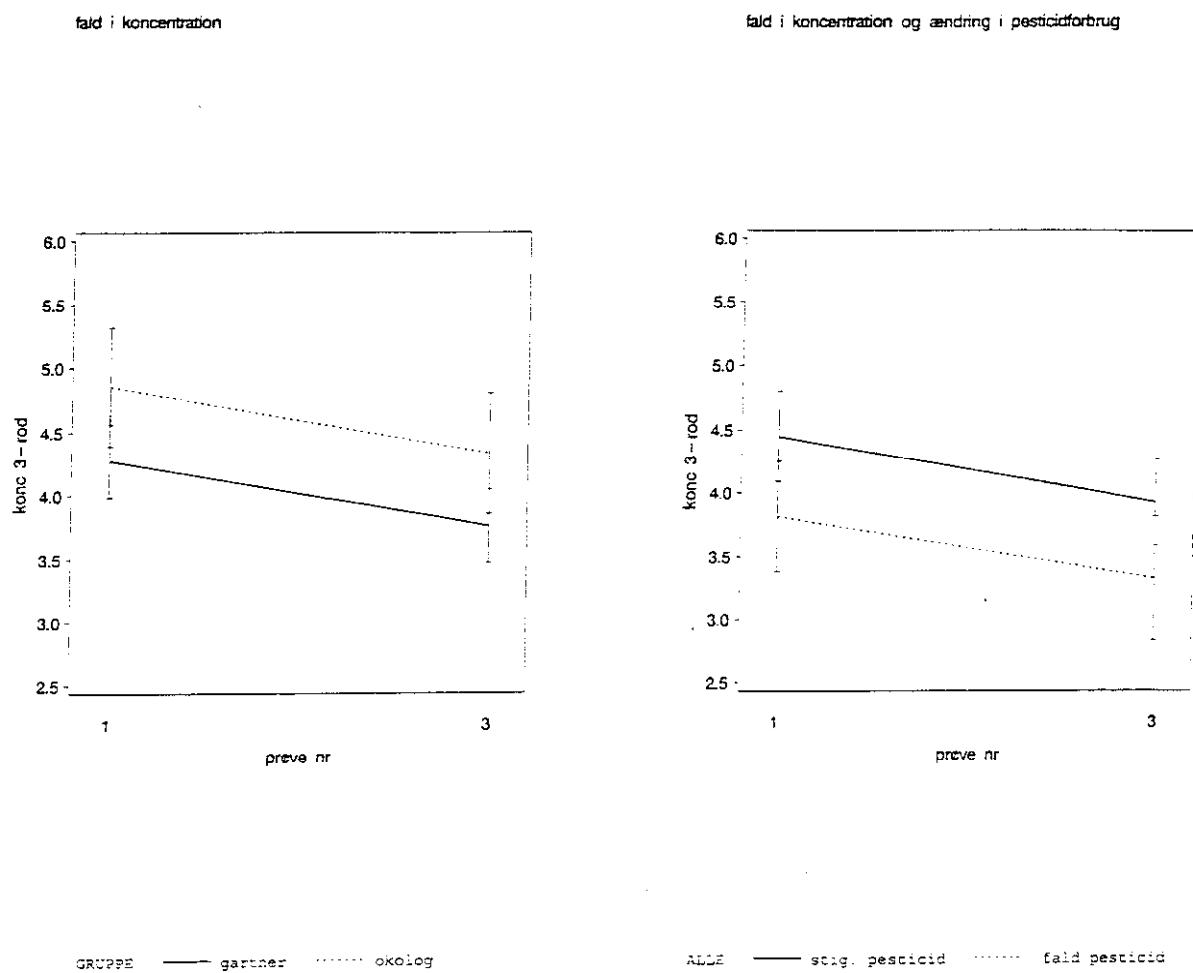
For at vurdere om faldet i gartnergruppen er relateret til stigende pesticid eksponering, er gartnerne delt op i de, der har et stigende forbrug af pesticider fra 1. til 3. sædprøve og de, der har et faldende forbrug. Denne opdeling er også gennemført på de enkelte funktionsgrupper af pesticider og de mistænkt spermatotoksiske stoffer. Desuden er faldet vurderet i forhold til personlig hygiejne, antal timer i kontakt med planter og transferfaktorindekset.

Af Figur 3 fremgår, hvordan sædkoncentrationen falder i løbet af perioden i de forskellige eksponeringsgrupper. I disse figurer indgår kun de, der har afleveret både vinter- og sommerprøven.

Af kurverne ses en svag tendens til, at de der har en stigende eksponering/er mest i kontakt med planterne, falder mest.

Figur 3 Fald i koncentration fra 1. til 3. prøve i relation til forskellige eksponeringskategorier.

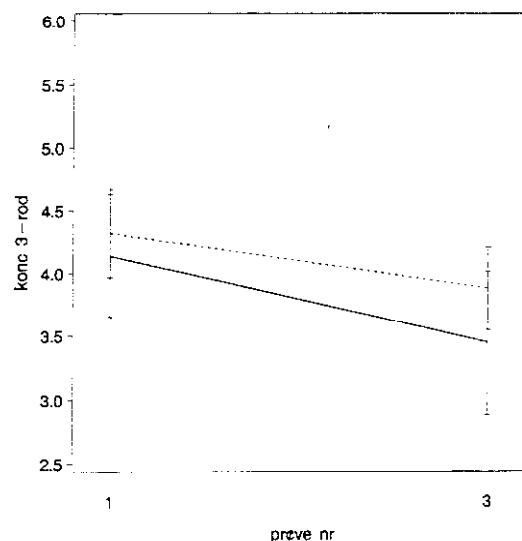
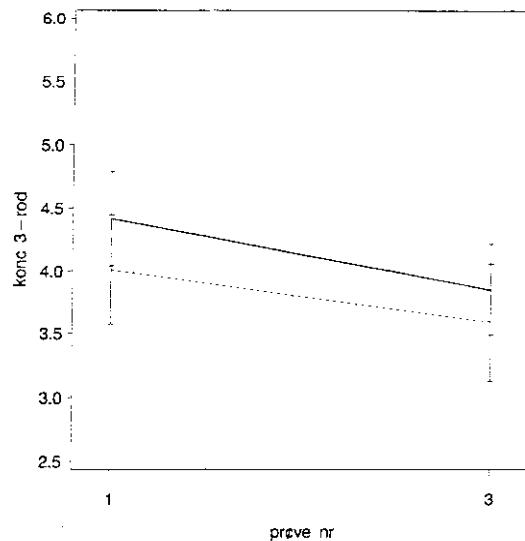
Decline in density from 1st to 3rd semen sample in relation to the different exposure categories.



Figur 3 fortsat

fald i koncentration og ændring i insekticidforbrug

fald i koncentration og ændring i fungicidforbrug

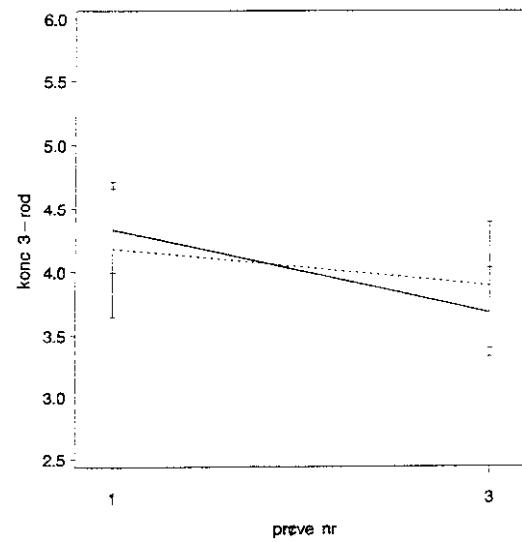
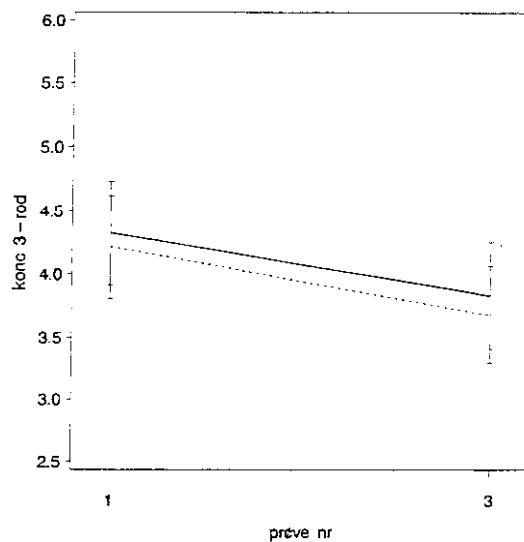


INSEKT — stig. insekticid fald insekticid

SVAMPE — stig. fungicid fald fungicid

fald i koncentration og ændring i spermatox forbrug

fald i koncentration og ændring regulator forbrug



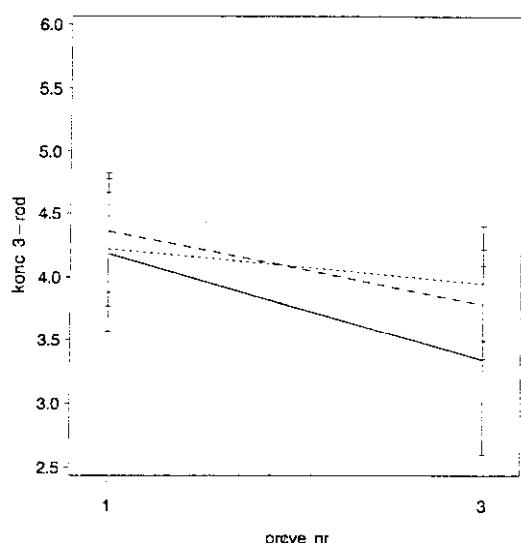
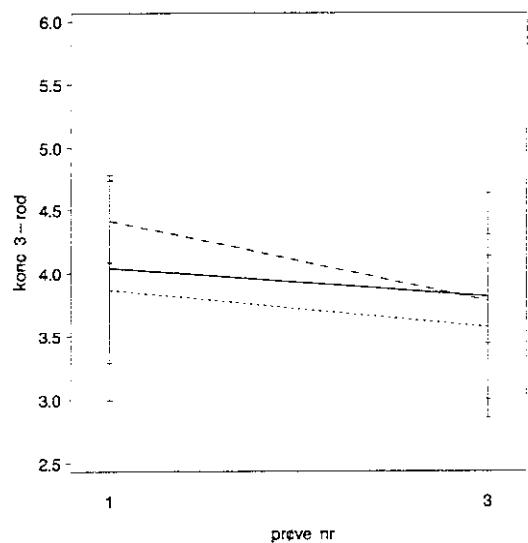
SPERMTOX — stig. spermatox fald spermatox

REGULAT — stig. regulator fald regulator

Figur 3 fortsat

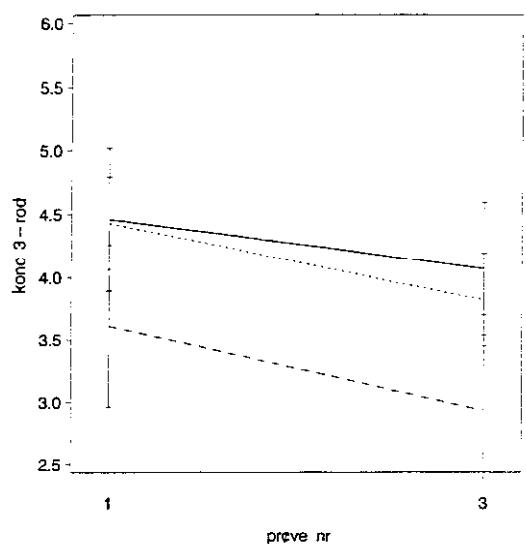
fald i koncentration og daglig plantekontakt

fald i koncentration og brug af handsker



TIMER ————— < 2 dagl. ······ 2-4 dagl. - - - - >= 4 dagl. HANDSKER ————— altid ······ sommetider - - - - aldri

fald i koncentration og arbejdsfunktion (TFR)



Korrigerede værdier

Ved regressionsanalyse er faldet i de forskellige eksponeringgrupper beregnet. I analysen er den afhængige variable forskellen i 3-rod af koncentrationerne fra vinter- til sommerprøven. Som potentielle confoundere er forskel i abstinenstid, forskel i spild og feber ved 1. prøve med i modellen. Der findes ikke signifikant forskel på faldet i koncentration i de forskellige eksponeringsgrupper.

I tabel 37 er faldet i de enkelte eksponeringgrupper beregnet ud fra estimaterne i regressionsanalysen. Vi har fundet, at faldene lettest kan sammenlignes ved at beskrive hvad grupperne ville være faldet til, hvis de havde haft en koncentration på 80 mill/ml i vinterprøven og iøvrigt ikke var forskellige. Sikkerhedsintervalerne angiver præcisionen på bestemmelsen af denne forskel. Værdierne i tabellen er opgivet som middelværdier, men da de er fremkommet efter en 3-rod transformation, er de sammenlignelige med medianer.

Tabel 37 Åndring af spermatozo koncentration fra 1. til 3. kvartal stratificeret på ændring af pesticidforbrug i gartneri, håndvask,timer med plantekontakt og transferfaktorindeks

Change in spermatozo density from 1st to 3rd quarter, stratified on changes in pesticide use in greenhouse, handwash, hour contact to cultures an transferfactor index.

	Gartner/ghw	økolog/MOA
mill/ml mean (95 CI)	51 (34 73)	45 (30 65)
Stigning i forbrug af insektmidler Increase in insecticide use	Fald i forbrug af insektmidler Decrease in insecticide use	
mill/ml mean (95 CI)	47 (27 73)	53 (31 83)
Stigning i forbrug af svampe-midler Increase in fungicide use	Fald i forbrug af svampe-midler Decrease in fungicide use	
mill/ml mean (95 CI)	45 (28 69)	56 (35 83)
Stigning i forbrug af vækstregulatorer Increase in use of growth regulators	Fald i forbrug af vækstregulatorer Decrease in use of growth regulators	
mill/ml mean (95 CI)	40 (24 62)	61 (39 89)
Stigning i forbrug af spermatox. midler Increase in use of spermatotoxic pesticides	Fald i forbrug af spermatox. midler Decrease in use of spermatotoxic pesticides	
mill/ml mean (95 CI)	49 (31 72)	47 (31 70)

	Bruger handsker, altid eller sommetider Use gloves, always or sometimes	Bruger aldrig handsker Never using gloves
mill/ml mean (95 CI)	52 (33 76)	44 (27 80)
	Vasker hænder mindre end 3 gange dagl. Handwash less than 3 times a day	Vasker hænder mindst 3 gange daglig Handwash at least 3 ti- mes a day
mill/ml mean (95 CI)	75 (33 142)	46 (17 97)
Timers daglig plante- kontakt Hour daily contact to cultures	- 2	2-3
mill/ml mean (95 CI)	57 (34 88)	62 (38 95)
Arbejdsfkt./TRF Job task classified on transferfactors	lav	middel
mill/ml mean (95 CI)	52 (28 90)	45 (23 76)
		høj
mill/ml mean (95 CI)	52 (30 84)	

Af ovenstående tabel kunne det se ud som om det er en fordel ikke at vaske hænder så tit. De, der sjældent vasker hænder, falder ikke meget i løbet af sommeren. Forklaringen er, at de har en meget lav udgangsværdi, median 29 mill/ml. De ligger fortsat lavt i eftersommeren, men forskellen fra vinter- til sommerprøven er ikke stor. Det er en svaghed ved denne præsentation af data, at den ikke bruger de oprindelige koncentrationer, men en fiktiv udgangsværdi på 80 mill/ml.

9.3.4 Ændring i vitalstatus

Procenten af døde celler fra vinter- til sommerprøven er faldet for gartnerne, uændret for økologerne. Der er ikke signifikant forskel på faldet i de 2 grupper. Der er heller ikke ved analyse med de beskrevne eksponeringsindeks blandt gartnerne signifikante forskelle på faldet i antal døde celler fra vinter- til sommerprøven.

9.3.5 Ændring i morfologi

Ved undersøgelse af morfologien falder procent normale celler fra vinter- til sommer-sædprøven hos gartnerne, men ikke hos økologerne, hvor der er en mindre stigning. Ved regressionanalyse med forskel i logit-transformation af procent normale ved 1. og 3. prøve som afhængig variabel, findes signifikant større fald blandt gartnerne end blandt økologerne, $p=0.0001$. OR rate for faldet er 1.63 (1.28 2.0). Dvs. 63% højere for gartnerne end økologer. Faldet hos gartnerne relateres ikke til de eksponeringsmål, der bruges i det longitudinelle studie.

9.3.6 Ændring i motilitet

Hastigheden VCL, bestemt ved casa stiger for både gartnere og økologer. Der er ikke forskel i stigningen i de 2 grupper. Heller ikke i dette effektmål er der relation til de eksponeringmål der bruges for gartnerne i det longitudinelle studie.

9.4 Kromosomskader

I Tabel 38 vises hyppigheden af kromosomafvigelser hos økologer og gartnerne umiddelbart før "sprøjtesæsonen" (1. prøve) samt hyppigheden af kromosomafvigelser hos gartnerne ved afslutningen af "sprøjtesæsonen" (2. prøve). Ialt 3 nyansatte gartnerielever er ekskluderet i disse analyser, fordi deres eksponering for pesticider i tiden op til blodprøvetagningen (kun 1. prøve) havde været meget beskeden. De anførte værdier udtrykker det gennemsnitlige, procentvise antal kromosomskader (antal skader pr. 100 metaphaser) der observeres i de enkelte grupper. Der ses en insignifikant øget hyppighed af alle typer kromosomafvigelser incl. gaps mellem økologernes, respektivt gartnernes 1. og 2. prøve. Det væsentlige bidrag til denne stigning skyldes udelukkende et øget antal kromosomskader af typen gaps, mens der ingen forskelle ses for skader af kromatid- respektivt kromosomtyper. Det procentuelle antal gaps findes signifikant større i gartnernes 2. prøve sammenlignet med økologer ($OR= 6.53$), mens forskellen tilsvarende er insignifikant for 1. prøves vedkommende. Forskellen i antallet af gaps mellem gartnernes 1. og 2. prøve fandtes signifikant (OR mere end dobbelt så høj).

Tabel 38. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) i relation til 1. og 2. måling hos gartnerne (excl. 3 nyansatte elever) og økologer.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in relation to greenhouse workers (1st and 2nd measurement) and members of the organic farmers association.

Type kromosomaf- vigelse	Økologer n=32 Mean% (SD)	Gartnerne	
		1.prøve n=107 Mean% (SD)	2.prøve n=89 Mean% (SD)
Gaps	0.28 (0.58) ¹	0.56 (0.69)	1.07 (0.91) ²
Kromatid-type	1.03 (0.90)	0.89 (0.95)	1.04 (0.99)
Kromosom-type	0.31 (0.47)	0.47 (0.76)	0.35 (0.62)
Alle typer excl. gaps	1.34 (0.97)	1.36 (1.27)	1.39 (1.24)
Alle typer incl. gaps	1.63 (1.21)	1.92 (1.35)	2.46 (1.55)

1) Mellem gartneres 2. prøve og økologer, P=0.0002; OR=6.53 (95% CI: 2.40-20.42) efter kontrol for rygning og alder.

2) Mellem gartneres 1. og 2. prøve, P=0.002; OR=2.56 (95% CI: 1.38-4.85).

I tabel 39 og 40 vises hyppigheden af kromosomafvigelser i 1. prøve hos gartnere, der de forudgående 3 måneder har/ikke har udlagt pesticider i væksthuse, respektivt har arbejdet i væksthusene og håndteret sprøjtede planter mindre/mere end 6 timer dagligt. Der ses ingen forskelle mellem de respektive grupper af væksthusgartnere.

Tabel 39. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) hos gartnere (N=110) i relation til +/- sprøjtning med pesticider de foregående 3 mdr. forud for 1. blodprøvetagning.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in relation to +/- pesticide spraying the preceeding 3 months before 1th blood measurement.

Type kromosomafvigelse	Ikke sprøjtet n=38 Mean% (SD)	Sprøjtet n=72 Mean% (SD)	P-værdi
Gaps	0.42 (0.55)	0.64 (0.74)	0.29
Kromatid-type	1.03 (1.00)	0.79 (0.92)	0.30
Kromosom-type	0.34 (0.63)	0.53 (0.80)	0.30
Alle typer excl. gaps	1.37 (1.17)	1.32 (1.31)	0.64
Alle typer incl. gaps	1.79 (1.30)	1.96 (1.37)	0.40

Tabel 40. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) hos gartnere (N=110) i relation til håndtering af pesticidbehandlede kulturer (- 6 timer resp. > 6 timer) de foregående 3 mdr. forud for 1. blodprøvetagning.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in relation to greenhouse workers handling of pesticide treated soil and flower cultures (- 6 h/day respectively > 6h/day) the preceeding 3 months before 1st blood measurement.

Type kromosomafvigelse	Håndtering - 6 timer/dag n=65 Mean% (SD)	Håndtering > 6 timer/dag n=45 Mean% (SD)	P-værdi
Gaps	0.49 (0.66)	0.67 (0.71)	0.11
Kromatid-type	0.85 (0.82)	0.91 (1.12)	0.36
Kromosom-type	0.60 (0.60)	0.23 (0.54)	0.05
Alle typer excl. gaps	1.45 (1.24)	1.18 (1.28)	0.13
Alle typer incl. gaps	1.94 (1.32)	1.84 (1.38)	0.43

Tabel 41 og 42 viser hyppigheden af kromosomafvigelser i 1. prøve respektivt 2. prøve hos gartnerne i relation til udregnede gartneri index. Heller ikke her fandtes forskelle i kromosomafvigelser i relation til estimeret eksponeringsgrad.

Tabel 41. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) hos gartnerne (N=110) i relation til det beregnede gartneri index for de foregående 3 mdr. før 1. blodprøvetagning.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in greenhouse workers in relation to greenhouse index for all applied pesticides the preceeding 3 months before 1st blood measurement.

Type kromosomafvi-gelse	Gartneriindex - 4 gange n=55 Mean% (SD)	Gartneriindex > 4 gange n=55 Mean% (SD)	P-værdi
Gaps	0.55 (0.69)	0.58 (0.69)	0.85
Kromatid-type	0.85 (0.99)	0.89 (0.92)	0.44
Kromosom-type	0.46 (0.72)	0.47 (0.79)	1.00
Alle typer excl. gaps	1.31 (1.25)	1.36 (1.28)	0.84
Alle typer incl. gaps	1.85 (1.28)	1.95 (1.41)	0.59

Tabel 42. Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) hos gartnerne (N=89) i relation til det beregnede gartneri index for de foregående 3 mdr. før 2. blodprøvetagning.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in greenhouse workers in relation to greenhouse index for all applied pesticides the preceeding 3s month before 2nd blood measurement.

Type kromosomafvi-gelse	Gartneriindex - 7 gange n=38 Mean% (SD)	Gartneriindex > 7 gange n=51 Mean% (SD)	P-værdi
Gaps	1.00 (0.84)	1.12 (0.97)	0.98
Kromatid-type	1.13 (0.93)	0.98 (1.03)	0.21
Kromosom-type	0.32 (0.53)	0.37 (0.69)	0.81
Alle typer excl. gaps	1.45 (1.11)	1.35 (1.34)	0.20
Alle typer incl. gaps	2.45 (1.31)	2.47 (1.71)	0.43

I tabel 43 sammenlignes hyppighederne af kromosomafvigelser i 1. og 2. prøve hos gartner, der bruger - respektivt ikke bruger - beskyttelseshandsker under arbejdet i væksthusene. Det ses, at antallet af gaps, men ikke kromatid/kromosombreaks eller - exchange stiger signifikant hen over "sprøjtesæsonen" hos gartner, der arbejder ubeskyttet (OR=7.31), mens der ingen forskelle findes hos gartner, som konsekvent eller sommetider bruger handsker under arbejdet (OR=1,17).

Tabel 43 Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) henholdsvis ved 1. prøve og 2. prøve hos de gartner, der altid/ sommetider respektivt aldrig bærer beskyttelseshandsker under kultivering af planter.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in 1st respectively 2nd measurement in greenhouse workers, who wear gloves respectively never wear gloves during handling of treated cultivations.

Type kromosomafvigelse	Bruger handsker		Bruger ikke handsker	
	1. prøve	2. prøve	1. prøve	2. prøve
	n=63 Mean% (SD)	n=48 Mean% (SD)	n=47 Mean% (SD)	n=41 Mean% (SD)
Gaps	0.71 (0.71)	1.00** (0.97)	0.36 (0.61)	1.15* (0.85)
Kromatid-type	0.78 (0.89)	0.98 (0.93)	1.00 (1.02)	1.12 (1.05)
Kromosom-type	0.40 (0.75)	0.35 (0.70)	0.55 (0.75)	0.34 (0.53)
Alle typer excl. gaps	1.17 (1.21)	1.33 (1.26)	1.55 (1.30)	1.46 (1.23)
Alle typer incl. gaps	1.89 (1.31)	2.33 (1.56)	1.91 (1.40)	2.61 (1.53)

* Mellem 1. og 2. prøve hos gartner, der ikke bruger handsker, P=0.00002; OR=7.31 (95%CI: 2.58-21.31).

** Mellem 1. og 2. prøve hos gartner, der bruger handsker, P=0.69; OR=1.17 (95%CI: 0.51-2.72).

Tilsvarende sammenlignes i tabel 44 hyppighederne af kromosomafvigelser hen over sprøjtesæsonen (1.- og 2. prøve) hos gartner, der vasker hænder mindre respektivt mere end 4 gange i løbet af en arbejdssdag. Der ses en signifikant stigning i antal gaps hos dem med den dårligste arbejdshygien, dvs. de der kun vasker hænder i arbejdstiden mindre end 4 gange dagligt (OR=2.67). Der observeres en næsten tilsvarende stigning i antal gaps hos de med mere end 4 gange håndvask pr. dag (OR=2.35), men forskellen er dog knap statistisk signifikant. De øvrige kromosomskader udviste intet "dosisisafhængigt" mønster.

Tabel 44 Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) henholdsvis ved 1. prøve og 2. prøve hos de gartnere, der vasker hænder mindre respektivt oftere end 4 gange i løbet af arbejdssagen.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in 1th respectively 2nd measurement in greenhouse workers, who wash hands less or more than 4 times during a working day.

Type kromosomafvigelse	Håndvask 4 eller færre gange dagl.		Håndvask oftere end 4 gange dagl.	
	1. prøve	2.prøve	1.prøve	2.prøve
	N=63	N=51	N=47	N=38
	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)
Gaps	0.48 (0.59)	1.04* (0.92)	0.68 (0.78)	1.11** (0.92)
Kromatid-type	0.87 (0.85)	0.96 (0.85)	0.87 (1.08)	1.16 (1.15)
Kromosom-type	0.44 (0.74)	0.39 (0.70)	0.49 (0.78)	0.29 (0.52)
Alle typer excl. gaps	1.32 (1.16)	1.35 (1.20)	1.36 (1.39)	1.45 (1.31)
Alle typer incl. gaps	1.79 (1.21)	2.39 (1.60)	2.04 (1.50)	2.55 (1.48)

* Mellem 1. og 2. prøve hos gartnere, der håndvasker 4 eller færre gange dagligt, P=0.01; OR=2.67; 95% CI : (1.16-6.19).

** Mellem 1. og 2. prøve hos gartnere, der håndvasker mere end 4 gange dagligt, P=0.06; OR=2.35; 95% CI : (0.87-6.45).

I tabel 45 er gartnerne kategoriseret i 3 eksponeringsgrupper efter skønnede/beregnehede transferfaktorer i de respektive gartnerier, som de enkelte deltagere i undersøgelsen kom fra. Resultatet viser en generel, men insignifikant stigning i antallet af gaps for 2. prøve i relation til stigende eksponeringskatagorier. Det ses tillige, at forskellene i gaps mellem 1. og 2. prøve i de enkelte eksponeringskategorier stiger med stigende estimeret eksponering. OR for de enkelte index var følgende: Index 1: 2.52 (0.81-7.96), Index 2: 2.29 (0.84-6.35), Index 3: 3.86 (0.45-39.76). Et sådant ensartet dosisefektmønster blev ikke observeret for de øvrige målte kromosomafvigelser.

Ved parrede analyser hos deltagere, hvor der foreligger målinger før og efter "sprøjtesæsson", ses en signifikant stigning for gaps i index 2 (middeleksponering) og index 3 (høj eksponering), mendens forskellen i index 1 ikke fandtes signifikant forskellig.

Tabel 45 Kromosomafvigelser i perifere lymfocytter (%) henholdsvis ved 1. prøve og 2. prøve hos de gartnere i relation til transferfaktorindex 1, 2 og 3, som kategoriserer gartnerne i henholdsvis lav, middel og højt eksponeret.

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) in 1st respectively 2nd measurement in greenhouse workers according to exposure index based on estimated transferfactors on each participating plants.

Type kromosomafvigelse	Index 1		Index 2		Index 3	
	1. prøve n=33	2. prøve n=31	1. prøve n=38	2. prøve n=40	1. prøve N=13	2. prøve n=11
	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)	Mean% (SD)
Gaps	0.55 (0.67)	0.94 (0.81)	0.55 (0.69)	1.05* (0.99)	0.54 (0.52)	1.45** (0.93)
Kromatidtyper	0.91 (0.91)	1.10 (1.19)	0.87 (0.93)	1.08 (0.94)	1.00 (1.29)	0.73 (0.65)
Kromosomtyper	0.48 (0.76)	0.23 (0.43)	0.47 (0.76)	0.48 (0.75)	0.38 (0.65)	0.09 (0.30)
Alle typer excl. gaps	1.39 (1.27)	1.32 (1.40)	1.34 (1.24)	1.55 (1.24)	1.38 (1.45)	0.82 (0.75)
Alle typer incl. gaps	1.94 (1.34)	2.26 (1.37)	1.89 (1.37)	2.60 (1.78)	1.92 (1.38)	2.27 (1.01)

* Wilcoxon parret test (N=29): Z=2.14; p=0.03

** Wilcoxon parret test (N=11): Z=2.17; p=0.03

I tabel 46 er gartnerne opdelt i to grupper: De, der startede i gartnerfaget før 1985 og de som startede efter. Der ses ingen signifikante forskelle i antallet af kromosomafvigelser, men der er dog en tendens til, at det samlede antal kromosomskader er højere jo længere man har været i gartnerfaget.

Tabel 46. Kromosomafvigelse i perifere lymfocytter (%) (1. blodprøve) relation til ancienitet (årstal for debut som gartner).

Chromosome aberrations in peripheral lymphocytes (%) according to the year of debut as gardener before 1st blood measurement.

Type kromosomaf-vigelse	Gartner før 1985 n=65 Mean% (SD)	Gartner efter 1985 n=45 Mean% (SD)	P-værdi
Gaps	0.55 (0.71)	0.58 (0.66)	0.66
Kromatid-type	0.91 (0.95)	0.82 (0.96)	0.60
Kromosom-type	0.57 (0.83)	0.31 (0.60)	0.13
Alle typer excl. gaps	1.48 (1.34)	1.13 (1.12)	0.27
Alle typer incl. gaps	2.03 (1.39)	1.71 (1.25)	0.43

10 Diskussion

10.1 Plasma-cholinesterase aktivitet

Der var fald i plasmacholinesterase aktivitet fra 1. blodprøve til 3. blodprøve, men ikke fra 2. til 3. blodprøve. Plasmacholinesterase aktiviteten falder ikke over sommeren, men fra januar/februar til marts.

1. blodprøve blev taget i januar/februar, hvor forbruget af insekticider var mindst. Allerede i de første forårsmåneder stiger forbruget. 3. blodprøve er taget først i oktober. Dette tidspunkt er valgt, som optimalt for kromosomskadestudiet. Men i september og oktober er forbruget af insekticider ikke på sit højeste. De plasma-cholinesterasehæmmere der bruges mest er carbamater, midler med en kort og forbigående virkning på plasmacholinesterase. Dvs. i forhold til at måle plasmacholinesterase aktivitet på det tidspunkt, hvor insekticidforbruget var størst er 3. blodprøve taget for sent.

At der findes en forskel i plasma-cholinesteraseaktivitet fra 1.-3. prøve, kan være tilfældigt. Men resultatet kan være udtryk for, at gartnere i dette studie en stor del af året, fraset vinternånedene, er internt eksponerede for plasma-cholinesterasehæmmere i en grad så påvirkning af plasma-cholinesteraseaktiviteten kan registreres med den anvendte test.

10.2 Sædkvalitets studie

Tværsnit. I sammenligning med andre faggrupper, der er undersøgt i Danmark de senere år, har både gartnere og økologer en relativt høj sædcellekonzentration (upubliceret meddeelse, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus). Væksthusgartnere som helhed har derfor ikke nedsat sædkvalitet. Økologernes sædcellekonzentration er dog højere end gartnernes og de har en mindre andel døde sædceller. Økologerne adskiller sig imidlertid fra gartnerne på en række områder, så forskellen kan ikke tolkes som forårsaget af forskelle i pesticideksponering.

Der er i undersøgelsen en række andre holdepunkter for, at pesticid eksponering kan spille en rolle.

Således er sædkvalitet relateret til antal år med arbejde i væksthus med prydplanteproduktion.

Når den enkelte deltagers arbejdsfunktion klassificeres på bag-grund af transferfaktorer, viden om gartneriets pesticidforbrug og kultur, har de lavest eksponerede sammenlignet med de højt eksponerede ca. dobbelt så høj sædcellekonzentration (medianer 88 og 36) og ca. 50 % højere andel normale sædceller (OR 1.5).

De arbejdsfunktioner, der er forbundet med nedsat sædkvalitet er klippe, nippe og stikke.

Det ser også ud til, at den personlige hygiejne har betydning. De, der vasker hænder 1-2 gange dagligt, har en lav koncentration (median 29). Gruppen er dog kun på 8, og der er derfor meget vide sikkerhedsgrænser.

Gartneriets pesticidforbrug og antal timer med plantekontakt og sprøjtning havde ikke relation til sædkvalitet.

Resultater, longitudinelle. I det longitudinelle studie findes for både gartnerere og økologer et kraftigt fald i spermatozokoncentration fra vinter til sommer. Faldet kan ikke relateres til eksponeringsfaktorer. Desuden havde gartnerne et fald i andelen af normale sædceller fra vinter til sensommer, der var 63% større end ændringen hos økologerne. Forskellen er signifikant, men kan ikke relateres til eksponeringsfaktorer.

Væsentlige overvejelser i dette studie knytter sig til problemer med dokumentation af eksponering og kontrolgruppen. Der er anvendt mange alternative mål for eksponering, og det giver risiko for at tilfældige fund fejlagtigt tolkes som betydningsfulde.

10.2.1 Konsistens, i relation til eksponering.

Mål for eksponering

Det er vanskeligt at måle den individuelle eksponering for pesticider over tid. Gartnerne eksponeres for mindst 60 forskellige pesticider, kommer fra 30 forskellige gartnerier med forskellig produktion og har forskellige arbejdsfunktioner. Samme arbejdsfunktion kan medføre forskellige eksponeringsniveauer afhængigt af gartneri og kultur. Og samme pesticidforbrug kan medføre forskellig eksponering afhængig af kultur, udbringningsmetode, arbejdsfunktion og personlig hygiejne. Den interne eksponering for pesticider ved arbejde i væksthuse er ikke kendt. Og der er ikke megen viden om de enkelte anvendte pesticiders spermatoxiske virkning hos mennesker. Undersøgelsen er derfor gennemført med en række proximál for eksponering. Da deltagerne potentielt eksponeres på mange måder, vil der ved alle metoderne være mulighed for misklassificering.

Gartneri-indeks

Analyserne i forhold til gartneriets forbrug af pesticider er gennemført på personer der har mere end 2 timers daglig kontakt med behandlede planter eller jord, for at undgå fortynding ved at inddrage personer, der næsten ikke er i kontakt med planterne. Men eksponering beskrevet ved gartneri indeks er ikke relateret til sædkvalitet.

Individuel klassificering

Det eksponeringsindeks der bygger på individuel klassificering af arbejdsfunktion, baseret på målte transferfaktorer og viden om gartneriets pesticidforbrug og kultur, tager højde for flere faktorer. Indekset er udarbejdet i samarbejde med eksperter i eksponeringforhold i danske gartnerier, som ikke har deltaget i dataanalysen. Ved udarbejdelsen af indekset er taget udgangspunkt i målinger foretaget i 5 af de deltagende

gartnerier, og 14 dages registrering af timeforbrug på forskellige arbejdsfunktioner. Vi betragter det som et væsentligt fund, at de højt eksponerede - vurderet ud fra denne klassificering - har nedsat sædkvalitet. Det er en svaghed, at vi ikke har mulighed for at dokumentere, at de personer vi vurderer som højt eksponerede rent faktisk er det. Det taler mod et tilfældigt fund, at fundene reproduceres ved analyse af 3. sædprøve. Ligeledes støtter det fundet, at der også i analysen af arbejdssfunktion alene er en tendens til at personer med arbejdsfunktionerne klippe og nippe stiklinger har nedsat sædkvalitet. I analysen af arbejdsfunktion alene er brugt de mere upræcise oplysninger om arbejdsfunktion indhentet ved undersøgelsens start. Gruppen der angiver at have disse arbejdsfunktioner er lille, og forskellen derfor ikke signifikant.

Det er dog tvivlsomt, om der er konsistens i forhold til det longitudinelle studie, hvor de højest eksponerede falder mest vurderet ud fra de rå værdier, men ikke i regressionsanalysen. Heller ikke andelen af normale sædceller falder mest hos de mest eksponerede.

Livseksponeering

Alle de aktuelle eksponeringindeks er baseret på oplysninger indhentet om eksponeringsforhold de foregående 3 måneder. Spermatogenesen tager ca. 72 dage, så det er en relevant periode at klassificere ud fra, i den udstrækning, at der er tale om forbigående effekter. I undersøgelsen findes imidlertid påvirkning af sædkvaliteten i relation til livseksponeering. Det kan være en følge af en tidligere alvorlig/-blivende skade, eller udtryk for en kumuleret virkning. Begge forhold medfører, at det er vanskeligere at detektere effekt af aktuel eksponering.

5 historiske eksponeringmål

Der har i alt indgået 5 mål for den historiske eksponering (kun de 3 er medtaget her). Derfor må der tolkes forsigtigt på positivt fund i ét. De 3 af målene knytter sig til tidligere sprøjtning, og vi ved, at oplysninger om hvor mange timer og gange man har sprøjtet gennem livet, nødvendigvis må være usikre. Det negative fund i relation til sprøjtning er i overensstemmelse med, at der ikke kan påvises effekt af aktuel sprøjtning. Dog kan man indvende, at brug af værnemidler tidligere har været væsentlig ringere end i dag, og sprøjtere tidligere har været eksponerede. Vi vurderer at eksponering ved re-entry aktiviteter i væksthuse er høj, sammenlignet med eksponering ved andet gartnerarbejde. Derfor er indeks med antal år i væksthus med prydplanteproduktion formentlig et bedre mål for den livslange pesticideeksponering, end antal år siden start som gartner. Indekset med årstal for start tager heller ikke hensyn til, at man kan have været ude af faget. Også her taler det mod et tilfældigt fund, at der findes samme tendens ved analyse af 3. prøve.

Kumuleret eksponering

Når tidligere eksponering har betydning kan det skyldes blivende skade, eller være en følge af kumuleret eksponering. Der er fundet pesticider (bl.a. lindan) i biopsier af humane testikler (84). Det fremgår ikke fra hvilke personer biopsierne var taget. Men fundet viser, at et pesticid, der er i brug i gartnerierne, også i mennesker når testisvævet. Det støtter overvejelser om, at kumuleret eksponering kan være af betydning.

Siddende arbejde

Vi har haft overvejelser om, om fundet med livseksposering kan forklares ud fra at de der har arbejdet længe i gartneri har mere stillesiddende arbejde. Fundet påvirkes ikke med kontrol for arbejdsstilling. Der er en gruppe af gartnerere med beskeden aktuel plantekontakt, der har dårlig sædkvalitet. Det kan være et tilfældigt fund, det kan være en konsekvens af stillesiddende arbejde og det kan være en følge af tidligere eksponering. Gruppen af personer med dårlig sædkvalitet og beskeden aktuel eksponering svækker muligheden for at relatere aktuel eksponering til dårlig sædkvalitet.

Håndvask

De få personer, der ikke vasker hænder ret tit, har lav koncentration. Forskellen er ikke signifikant, gruppen er meget lille. Fundet er dog i overensstemmelse med mange af eksponeringsundersøgelsene, der beskriver håndvask som væsentlig for at nedsætte den interne eksponering.

10.2.2 Konsistens, longitudinelle studie.

Ændring i pesticid forbrug

Udgangspunktet for det longitudinelle studie var, at der er et stigende forbrug af pesticider i sommersæsonen. Dette har vist sig at være rigtigt i forhold til det totale forbrug, men ikke i forhold til svampemidlerne. Dette forbrug ligger ret konstant. Da svampemidlerne udgør en stor del af de mistænkt spermatotokiske midler, er der ikke stor ændring i forbrug af disse midler fra vinter til sommer. I tværsnitsanalysen er ikke fundet sammenhæng mellem gartneriforbrug af pesticider og sædkvalitet. Derfor er det også tvivlsomt, om en stigning i gartneriernes forbrug af pesticider medfører så stor ekstra eksponering, at det alene vil slå igennem i analysen af sædkvalitet.

Stort fald

Det er yderligere en svaghed, at faldet i koncentration fra forår til efterår er meget stort i både gartnergruppen og økologgruppen. Dvs. en evt. forskel skal slå igennem ved siden af et stort fald af andre grunde. Faldet i løbet af sommeren er stort. Sommeren 1994 var meget varm, og måske er faldet af den grund større end andre år. Det er kendt, at der er sæsonvariation i nogle andre europæiske lande, men det er ikke helt fastslået, at det er en varmeeffekt (52). Dette studie tyder på, at varme er en sandsynlig forklaring: Personer, der op til første sædprøve har haft feber, har lavere koncentration end de, der ikke har haft feber (median 64 og 95), men i 3. prøve ses denne forskel ikke (median 57 og 56). Når feber ikke har betydning i 3. prøve kan det tænkes, at ekstern varmepåvirkning slører virkningen af temperaturforhøjelse.

Ændring i morfologi

Gartnerne havde et fald i andelen af normale sædceller fra vinter til sensommer, der var 63% større end ændringen hos økologerne. Faldet kan være en konsekvens af øget pesticideksponering for gartnergruppen som helhed hen over sommeren. Vi betragter det som et betydningsfuldt fund, på trods af at vi ikke i gartnergruppen kan relatere faldet til forskelle i eksponering. Vi ved, at eksponeringsbetemmelserne i studiet er svage, men pesticidforbruget er størst om sommeren, derfor også gartnerenes eksponering. En række forhold vi ikke har registreret, kan yderlig være med til at forøge eksponeringen om sommeren. Det er

varmt, og flere vil arbejde i T-shirts og shorts. Det øger arealet af bar hud og dermed mulighed for dermal eksponering.

10.2.3 Selektion

Gartneri

Vi vil forvente, at gartnerier hvor ledelsen vurderer, at de har et stort pesticidforbrug eller på anden måde har arbejdsmiljøproblemer, vil være tilbageholdende med at lade deres gartneri deltage i en undersøgelse som denne. Det betyder, at undersøgelsen måske ikke omfatter de gartnerier, hvor de beskæftigede er mest eksponerede. Det kan medføre en mindre eksponeringkontrast, men vil ikke medføre selektions-bias af de effektmål, vi undersøger. Det er sjældent, ledelsen har kendskab til medarbejdernes reproduktionsproblemer. Hvis de har, kan det både vække interesse for studiet og resultere i, at man ikke ønsker at gartneriet indgår. Langt de fleste af de adspurgte gartnerier deltog. Det er usandsynligt, at der i forhold til indrulleringen af gartnerier til undersøgelsen har fundet selektion sted i forhold til viden om medarbejdernes reproduktionsproblemer.

Urogenital sygdom

Blandt beskæftigede i gartnerierne er der en tendens til at gartnerere, der er opereret for urogenitale sygdomme eller kun har 1 testikel i scrotum, er hyppigere repræsenteret blandt deltagere end ikke deltagere. Det kan være udtryk for selektion til undersøgelsen af deltagere, der har mistanke om dårlig sædkvalitet.

I denne undersøgelse har vi mulighed for at undersøge en evt. selektion i forhold til dårlig sædkvalitet ved at sammenligne de gennemsnitlige koncentrationer i gartnerier med høj og lav deltagelsesprocent. Hvis der var tale om selektion til undersøgelsen, ville vi forvente at sædkvaliteten på gartnerier, der havde lav deltagelsesprocent, var lavere end gartnerier med høj deltagelsesprocent. Det er der ikke tegn til.

Økologeme

Den eksterne kontrolgruppe er deltagere i et seminar arrangeret af en økologisk producentorganisation. Økologerne kendte ikke undersøgelsen inden tilmelding til seminaret. Et par dage inden seminaret blev det offentligt kendt, at undersøgelsen ville finde sted. Hvis personer af den grund valgte at deltage i seminaret, ville det være som ikke tilmeldte. Der var ikke på seminaret større deltagelse end vanligt af personer, der ikke var tilmeldt på forhånd. Vi vurderer derfor, at der ikke har fundet selektion sted i forhold til at deltage i seminaret ud fra ønske om at deltage i undersøgelsen. Blandt deltagere i seminaret var der en tendens til at personer, der var opereret for urogenitale sygdomme, var overrepræsenterede blandt ikke deltagere i forhold til deltagere, hvilket er det modsatte af forholdene blandt gartnerne. Når man vurderer alle tidligere urogenitale lidelser under ét, har økologerne højere procenttal end gartnerne. Det skyldes overhyppighed af urogenitale infektioner. Det taler imod den omtalte selektion i økologgruppen, men vi har ikke oplysninger om infektioner fra ikke-deltagerne.

Betydningen af selektionen i forhold til viden om dårlig sædkvalitet vil være størst, hvis deltagelsesprocenterne er lave. I begge grupper er der i relation til sædstudier høje deltagelsesprocenter, 64% og 70%. Selektions-

tionen betyder derfor næppe meget, men den vil ved sammenligning med økologer trække i retning af at afvise nulhypotesen.

Raske økologer?

Rekrutteringen af økologerne fandt sted på et seminar. Dvs. man skulle være rask og have lyst og overskud til at bevæge sig hjemmefra for at være potentiel deltager. Økologerne har da også været mindre syge de sidste 3 måneder end gartnerne. Som gartner skulle man blot være beskæftiget på et af de gartnerier, der deltog i undersøgelsen, for at tilhøre studiepopulationen. Betydningen af denne selektion af raske til økologgruppen kan vi ikke vurdere. Men den er næppe betydningsfuld sammenlignet med de øvrige problemer der er ved at bruge økologerne som kontrolgruppe.

Selektivt frafald

Et selektivt frafald i relation til sædkvalitet vil påvirke det longitudinelle studie. Frafaldet hos gartnerne i løbet af undersøgelsesperioden er forårsaget af skift af arbejdsplads eller lukning af gartneri. Kun 3 udgår af andre årsager. Frafaldet synes ikke relateret til viden om sædkvalitet. Blandt økologerne er der tendens til, at de, der ikke deltager med 2. sædprøve, har lavere koncentrationer i 1. prøve end gennemsnittet. I analyserne af de longitudinelle data er kun medtaget de, der afleverer begge prøver. Der er tendens til at høje koncentrationer falder mest. Det tages der i nogen udstrækning højde for ved transformationen. Det selektive frafald blandt økologerne vil betyde, at økologgruppen kommer til at mangle nogle af de der har lave koncentrationer. Dvs. nogle af de, der vil falde mindst. Det vil - hvis det har en betydning - i det longitudinelle studie trække i retning af nulhypotesen.

10.2.4 Den eksterne kontrolgruppe - økologerne

Økologgruppen er ikke en ideel kontrolgruppe. De adskiller sig fra gartnerne på en lang række områder bl.a. uddannelse og livsstil.

Rekruttering, opsamlingsted, og tidspunkt, transport fra opsamling til laboratorie, laboratorier og laboranter har delvist været forskellige. Derfor må den fundne forskel mellem økologer og gartnerne tolkes forsigtigt. Specielt kan forskellen ikke tolkes som en konsekvens af forskel i pesticideeksponering.

10.2.5 Confoundere

Prøveopsamling er ikke foretaget på samme måde for gartnerne og økologer. Opsamling af prøver er for gartnerne foregået i hjemmet. Prøverne er transporteret til arbejdspladsen i en lomme tæt ved kroppen. Specielt for 1. prøve, der er indhentet om vinteren, kan det ikke udelukkes, at nogle af prøverne er blevet afkølet. Det vil kunne have betydning for andel døde og motilitet. Det samme gælder transporttiden der resulterer i, at gartnerprøverne som tendens er ældst. Tid fra opsamling til analyse indgår i modellen.

På grund af forskelle i score i manuelt bestemt bevægelighed, kan disse mål ikke bruges ved sammenligning af gartnerne og økologer (analyseret af 2 forskellige laboranter). Forskellen mellem laboranterne forklarer formentlig, at der ved sammenligning af motilitet ved manuelle meto-

der og ved CASA for gartnere og økologer findes modsat rettede tendenser, hvor der ved de øvrige eksponeringmål er bedre overensstemmelse mellem disse 2 måder at vurdere motiliteten på.

10.2.6 Sammenligning med andre undersøgelser

Der er ikke i Danmark gennemført andre undersøgelser af sædkvalitet hos pesticideksponerede. En række af de undersøgelser, der er udført i udlandet, er beskrevet i indledningen. Ingen af disse indgår de pesticider, der er i brug i væksthusene i denne undersøgelse. Ingen af undersøgelserne er gennemført blandt væksthusarbejdere. Det nyeste studie, hvor man har undersøgt landmænd der eksponeres for 2,4 D, har de ueksponerede en koncentration på 102 mill/ml og de eksponerede på 49 mill/ml. Dvs. der er forskelle i koncentration i samme størrelsesorden som der findes i dette studie. I undersøgelsens vinterprøve har både økologer og gartnere god sædkvalitet, sammenlignet med hvad der ellers er fundet ved arbejdspladsundersøgelser i Danmark. En del af forklaringen kan være, at der i denne undersøgelse er høje deltagelsesprocenter. Det mindsker betydningen af selektion til undersøgelsen af personer med mistanke om dårlig sædkvalitet. En anden forklaring kan være, at det er vinterprøver, og sæsonvariationen i Danmark måske er mere betydningsfuld, end man har kunnet finde i andre undersøgelser. En af forklaringerne på, at man ikke i andre danske undersøgelser har fundet så kraftig sæson effekt kan være, at der er en tendens til, at de der har høje koncentrationer falder mest. Hvis de øvrige undersøgelser er selekterede med for mange med dårlig sædkvalitet, vil de som tendes mangle nogle af de høje koncentrationer, som vi vil forvente falder mest.

Vi har kun viden til af forstå en del af de svingninger man ser i sædkoncentration i forskellige undersøgelser. Gartnere og økologer kan derfor på en række områder, vi ikke har kendskab til, adskille sig fra deltagere i andre undersøgelser.

I den genotokiske del af denne undersøgelse findes der tegn på genotokisk påvirkning relateret til arbejdsfunktion, klassificeret med støtte i transferfaktorer og hygiejne. Dvs. der ses effekter ved de samme eksponeringkategorier som i sædstudiet. Resultater i kromosomskadestudiet er dog fundet i de longitudinelle analyser. Men vi vil forvente, at personer, der har arbejdsfunktioner med megen plantekontakt og personer, der ikke vasker hænder, vil eksponeres mere i løbet af sommeren, hvor pesticidforbruget stiger. Derfor støtter fundet i kromosomskadestudiet resultaterne i sædstudiet, og taler imod, at er tale om tilfældige fund.

Den store sæsonvariation i sædkoncentration for både gartnere og økologer der er fundet i undersøgelsen er ikke tidligere beskrevet i Danmark. Men sæsonsvingninger er beskrevet i andre europæiske lande (52).

10.3 Diskussion, kromosomskader

Confounding

Det er veldokumenteret at alder, køn og livsstilsfaktorer, som rygning, kaffedrikning og alkoholindtagelse kan påvirke antallet af kromosomafvigeler (25,82). I denne undersøgelse adskiller gartnerne sig fra økologerne ved, at der var flere rygere og at gruppen som helhed var yngre (ca. 10 års forskel). Der var imidlertid kun få stonygere (mere end 15 cigaretter/dag), ligesom begge undersøgelsesgrupper var forholdsvis unge. Disse forhold kan være årsagen til, at der i de bivariate statistiske analyser ikke blev observeret ryge- eller aldersforskelle på antal målte kromosomskader. Da der kan forekomme interaktioner mellem en eller flere baggrundsvARIABLE, er både rygestatus og alder alligevel inddraget som korrigende faktorer i de statistiske analyser. For de øvrige registrerede baggrundsparametre - herunder køn (kun mandlige deltagere) og alkohol- og koffeinindtagelse - adskiller gartnerne sig ikke fra økologer, hvorfor disse faktorer ignoreres i analyserne.

Der kan dog næppe være tvivl om, at der findes ikke-registrerede forskelle i livsstil og levevilkår mellem gartnerne og økologer, som kan have indflydelse på antal observerede kromosomskader. F.eks. kan man forestille sig, at kostvaner - herunder mængden af indtaget usprøjtede frugter og grøntsager - varierer mellem de to undersøgelsesgrupper. Forskellige kostvaner kan have betydning for den samlede ikke-erhvervsmæssige pesticidbelastning, hvilket er vist i en tidligere dansk undersøgelse af 360 skolelærere (43). I denne undersøgelse blev der observeret en større biologisk belastning fra de kolinesterase-hæmmende insekticider hos personer, der overvejende spiste kommersielt dyrkede frugter og grøntsager, sammenlignet med de der overvejende spiste økologisk dyrkede varer. Om kostens formentlig meget beskedne restindhold af pesticider også har genotoxisk betydning, er dog et åbent spørgsmål. Dette kunne ikke med sikkerhed påvises i et eksperimentelt studie, hvor 15 almindeligt forekomne pesticider i italiensk kost i realistiske koncentrationer (1-20 mikrogram/ml) blev tilsat humane lymfocyter (21).

Til gengæld er der valgt at se bort fra mulig confounding i de longitudinelle analyser, hvor der hos gartnerne analyseres for en individuel kromosomskadeeffekt af "sprøjtesæsonen". Ved fortolkningen af disse resultater er det forudsat, at den individuelle livsstil og helbred iøvrigt har været væsentlig konstant fra 1. til 2. måling (godt $\frac{1}{2}$ år). Det standardiserede kliniske interview i forbindelse med 2. blodprøvetagning gav ikke anledning til forbehold i denne henseende. Det er endvidere forudsat, at der ikke forekommer spontane sæsonafhængige kromosomskader. Dette er os bekendt ikke tidligere beskrevet.

Centrale resultater

Undersøgelsens centrale resultater viser, at hyppighederne af det totale antal kromosomafvigeler (alle typer incl. gaps) er større hos gartnerne sammenlignet med kontrolgruppen af økologer. Forskellen er især udalt mellem økologer og gartnernes 2. måling, dvs. målingen ved afslutningen af den traditionelle "sprøjtesæson". Den observerede totale overhyppighed af kromosomskader hos gartnerne sammenlignet med økologer, skyldtes imidlertid udelukkende et signifikant øget antal

kromatid/kromosomgaps, mens der ingen forskelle fandtes for antallet af kromatid- og kromosombreaks respektivt - exchange. Endvidere observeredes en stigning i antal kromosomskader internt i gartnergruppen, målt fra tidpunktet umiddelbart før starten på "sprøjtesæsonen", som strækker sig fra marts til september og til afslutningen af sæsonen, men også her er det stigningen i antal gaps der signifikant dominerer resultatet.

Bidraget til den observerede stigning i antal kromosom/kromatidgaps hen over sprøjtesæsonen kom overvejende fra en undergruppe af gartnerne med mangelfuld, personlig arbejdshygien. I denne undersøgelse er dette især udtrykt ved manglende brug af beskyttelseshandsker under håndteringen af sprøjtede planter mv. og i mindre udstrækning relativt få (mindre end 4 gange) antal daglige, gennemførte håndvaske. Endvidere synes også de gartnerispecifikke transferfaktorer, som er et estimeret semikvantitativt udtryk for mængden af pesticider, der teoretisk kan afsættes på huden ved håndtering af de behandlede medier og planter, at spille en rolle for antallet af kromosom/kromatidgaps. Især i den højeste "eksponeringskategori" blev der observeret en relativ større, men insignifikant stigning i antal gaps over "sprøjtesæsonen" sammenlignet med de to laveste "eksponeringskategorier". Resultatet af transferfaktorens betydning skal dog tolkes med stor forsigtighed, da der i højeste eksponeringsgruppe var meget få personer.

Arbejdshygien

Variationer i personlig adfærd og arbejdshygien anses i almindelighed at være vigtige eksponeringsprædiktorer, som sammen med arbejdsstedets forureningsgrad bestemmer størrelsen af den individuelle, biologiske skadebelastning. Denne sammenhæng er også observeret for personer der håndterer pesticider (17,44,45,48). At det netop synes at være disse generelle, arbejdshygieniske parametre, der som hovedtendens i denne undersøgelse er associeret til en observeret overhyppighed af kromosomskader, kan måske tages som udtryk for, at de aktuelt benyttede pesticider udgør en målbar "dosisafhængig", genotoksisisk arbejdsmiljøbelastning.

Forebyggelse

Undersøgelsen peger dog ikke entydigt på, om handskebrug ved håndtering af sprøjtede planter er vigtigere end hyppig håndvask, selvom førstnævnte faldt mest signifikant ud i de statistiske tests. Der kan forekomme interaktioner mellem de benyttede eksponeringsvariable, hvor også den eksterne forurening udtrykt ved "transferfaktorer" kan spille en rolle. Det generelle, kortsigtede forebyggelsesperspektiv - når der arbejdes i sprøjtede væksthusarealer - må derfor primært være baseret på optimal personlig arbejdshygien. På længere sigt bør forebyggelsen tage sigte på at reducere eller eliminere eksponeringen f.eks. ved at fastlægge sikre normer for "re-entry" i væksthuse efter sprøjtning.

Øvrige resultater

I denne undersøgelse fandtes øvrige benyttede eksponeringsvariable, herunder akkumuleret livslang pesticideksponering eller om man var sprøjter eller ikke sprøjter, ikke at være associeret til risiko for kromosomskader. De nævnte eksponeringsvariable har ellers i flere undersøgelser vist positiv sammenhæng med en række genotoksiske udfald, herunder også kromosomafvigelser (10,17,65,74,76). Når sprøjtning

fandtes uden betydning i vores undersøgelse, skal det formentlig ses i lyset af, at næsten alle gartner var optimalt beskyttede i sprøjtesituationen. Når der ydermere ikke blev observeret kromosomskader i relation til antal år med pesticideksponering, er det formentlig udtryk for, at de målte cytotoxiske effekter har mere forbigående end kronisk karakter. Påvirkninger og skader som sker i efter-stamcelleniveau vil forsvinde, når cellen af naturlige grunde går til grunde som følge af aldring. T-lymfocytter, som kromosomskader er målt på i denne undersøgelse, lever kun fra få uger til højest et par år.

Undersøgelsen peger på, at skade af typen "gaps" er den mest følsomme parameter for aktuel eksponering for genotoxiske pesticider. Skader af typen "exchange" og "breaks" fulgte andre variationsmønstre og syntes tilsyneladende upåvirkelige overfor de i denne undersøgelse registrerede pesticider.

Kromosomafvigelser og kræftrisiko

Den kliniske betydning af et absolut eller relativt forhøjet, individuelt antal kromosomafvigelser er ukendt, men ettersom det drejer sig om kemisk inducerede kromosomændringer, menes fænomenet at være en uspecifik prædiktor for øget kræftrisiko (25). I den kræftfremkaldende sygdomsproces indgår nemlig ændringer af cellernes arvemasse, hvilket bl.a. fører til, at cellernes normale reguleringsmekanismer går til grunde, og der opstår ukontrollabel cellevækst. Et andet indicium på sammenhæng mellem kromosomskader og kræft er, at der i en række undersøgelser er observeret et øget antal kromosomskader hos personer og grupper, som eksponeres for kendte og dokumenterede, kræftfremkaldende stoffer som tobaksrøg, krom, vinylklorid, cytostatika og ethylenoxid.

Cytotoxiske målinger har dog endnu ikke nået et udviklingstrin, hvor undersøgelserne med tilstrækkelig sikkerhed kan forudsige risiko for kræftsygdom hos den enkelte person (ringe individuel prædiktiv værdi). Enkelte metoder, herunder bestemmelse af kromosomafvigelser i blodets lymfocytter, har dog vist høj prædiktiv værdi for senere kræftudvikling - men kun på gruppeniveau (62).

På denne baggrund må det konkluderes, at gartner med ringeste arbejdshygien på gruppeniveau udsættes for aktuelle påvirkninger, der er biokemisk aktive i en sådan grad, at det giver anledning til induktion af kromosomskader og måske til en øget kræftrisiko på længere sigt.

Pesticider og kræftrisiko

Resultaterne i vores undersøgelse kan være i overensstemmelse med en række epidemiologiske undersøgelser, som har vist øget forekomst af bestemte kræftsygdomme hos forskellige pesticideksponerede erhvervsgrupper herunder gartner, landmænd og frugtavlere (36). De vigtigste observerede pesticidrelaterede kræftsygdomme var lungekræft, forskellige typer af blodkræft (leukæmier), lymfekræft (lymfomer) og bløddelskræft (sarcomer). I en nylig undersøgelse af godt 4000 danske gartner fandtes en 5 gange overhæppighed af bløddelskræft og en knap tredobling af kronisk, lymfatisk leukæmi, mens der ikke blev observeret øget hyppighed af lungekræft (31).

Samlet konklusion

Samlet kan det konkluderes, at væksthusgartnernes "re-entry" og håndtering af behandlede planter indebærer eksponering for genotokiske pesticider. Endvidere peger undersøgelsen på nødvendigheden af en optimal, personlig arbejdshygiejne. Undersøgelsen understreger tillige behovet for pålidelige, epidemiologiske undersøgelsesmetoder, der kan forudsige om aktuelle eksponeringer på længere sigt indebærer en øget kræftrisiko. Cytogenetisk biomonitorering på surrogatvæv med bestemmelse af kromosomafvigelser i lymfocytter synes at kunne imødekomme et sådant behov.

11 Konklusion

Gartnere og økologer har, ved tværsnitsundersøgelse foretaget om vinteren, høje spermatozokoncentrationer, sammenlignet med andre erhvervsgrupper der har fået undersøgt sædkvalitet i Danmark. Gartnernes spermatozokoncentration var ca. 20% lavere end økologernes, og andelen af døde sædceller var højere (OR 1.7). Økologerne adskiller sig imidlertid fra gartnerne på en række områder, og den fundne forskel i sædkvalitet kan derfor ikke tolkes som en konsekvens af forskel i pesticideksponering. Selvom gartnergruppen som helhed har høje sædcelletal, er der en række forhold, der tyder på at pesticideksponering påvirker sædkvaliteten. De gartnerne, der har arbejdet mere end 10 år i væksthus, har ca. 35% lavere spermatozokoncentration sammenlignet med de, der har været der i mindre end 5 år. Også den aktuelle eksponering synes at have betydning. Når eksponeringen ved forskellige arbejdsfunktioner bestemmes med støtte i målinger udført i nogle af de deltagende gartnerier, har de lavt eksponerede sammenlignet med de højteksponerede ca. dobbelt så høj spermatozokoncentration og flere normale sædceller (OR 1.5). De arbejdsfunktioner der er højt eksponerende, er at klippe, nippe og stikle stiklinger. Otte gartnerne som mindre ofte vasker hænder (1-2 gange daglig) havde lav sædcellekonzentration (median 29), fundet er ikke signifikant. Der er ikke fundet relation mellem gartneriets pesticidforbrug eller personlig sprøjteaktivitet og sædkvalitet.

I det longitudinelle sædstudie fandtes hos både gartnerne og økologer et kraftigt fald i spermatozokoncentration fra 1. til 3. kvartal. Faldet er ikke relateret til eksponeringsfaktorer, men det er sandsynligt at i hvert tilfælde en del af faldet er forårsaget af varme. Desuden havde gartnerne et fald i andelen af normale sædceller fra vinter til sensommer, hvor der hos økologerne var en mindre stigning. Faldet kan være en konsekvens af øget pesticideksponering for gartnergruppen som helhed hen over sommeren. Som konsekvens af de upræcise eksponeringbestemmelser, kan ændringen i andel normale sædceller imidlertid ikke med sikkerhed relateres til øget eksponering.

I kromosomskadestudiet blev fundet et øget antal gaps hos gartnerne sammenlignet med økologer, ligesom der internt i gartnergruppen blev observeret en stigning i antal gaps fra 1. til 3. kvartal. Den observerede stigning af gaps stammede næsten udelukkende fra gartnerne med den ringeste arbejdshygien målt ved manglende brug af handsker og mindre end 4 daglige håndvaske. Også arbejdsfunktion, bestemt ud fra transferfaktorer, havde betydning for det observerede antal skader af typen gaps.

Referencer:

1. Archibald BA, Solomon KR, Stephenson GR. Estimating pirimicarb exposure to greenhouse workers using video imaging. *Arch Environ Contam Toxicol* 1994;27:126-129.
2. Bhunya SP, Pati PC. Effects of deltamethrin, a synthetic pyrethroid, on the induction of chromosome aberrations, micronuclei and sperm abnormalities in mice. *Mutagenesis* 1990;5:229-232.
3. Bolognesi C, Parrini M, Reggiardo G, Merlo F, Bonassi S. Biomonitoring of workers exposed to pesticides. *Int Arch Occup Environ Health* 1993;65:185-187.
4. Bonde JP, Giwercman A. Occupational hazards to male fecundity. *Reproc Med Rev* 1995;4:59-73.
5. Brouwer DH, Brouwer R, Mik DG, Maas LC, Van Hemmen JJ. Pesticides in the cultivation of carnations in greenhouses: Part 1 - Exposure and concomitant health risk. *Am Ind Hyg Assoc J* 1992;53:575-581.
6. Brouwer R, Brouwer DH, Tijssen SCHA, Van Hemmen JJ. Pesticides in the cultivation of carnations in greenhouses: Part 2 - Relationship between foliar residues and exposures. *Am Ind Hyg Assoc J* 1992;53:582-587.
7. Brouwer R, Maarleveld K, Ravensberg L, Meuling W, Kort W, Hemmen J. Skin contamination, airborne concentrations, and urinary metabolite excretion of propoxur during harvesting of flowers in greenhouses. *Am J Ind Med* 1993;24:593-603.
8. Brouwer R, Marquart H, Mik G, Van Hemmen JJ. Risk assessment of dermal exposure of greenhouse workers to pesticides after re-entry. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992;23:273-280.
9. Bunker ML, Williams DT. Caffeine content of common beverages. *Journal of The American Dieteric Association* 1979;74:28-32.
10. Carbonell E, Xamera N, Creus A, Marcos R. Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 1993;8:511-517.
11. Chowdhury AR, Gautam AK, Bhatnagar VK. Lindane induced changes in morphology and lipids profile of testes in rats. *Biomed Biochem Acta* 1990;49:1059-1065.
12. Chowdhury AR, Venkatakrishna-Bhatt H, Gautam AK. Testicular changes of rats under lindane treatment. *Bull Environm Contam Toxicol* 1987;38:154-156.
13. Chrowthury AR, Gautam AK. Steroidogenic impairment after lindane treatment in male rats. *Sangyo Ika Daigaku Zasshi* 1996;16:145-152.
14. Cock J, Heederik D, Hoek F, Boleij J, Kromhout H. Urinary excretion of tetrahydrophthalimide in fruit growers with dermal exposure to captan. *Am J Ind Med* 1995;28:245-256.
15. Cohn WJ, Boylan JJ, Blanke RV, Fariss MW, Howell JR, Guzelian PS. treatment of chlordecone (kepone) toxicity with cholestyramine. *N Engl J Med* 1978;298:243-248.
16. Collins TFX. Dominant lethal assay. I. Captan. *Fd Cosmet Toxicol* 1972;10:363-371.

17. Crossen PE, Morgan WF, Horan JJ. Cytogenetic studies of pesticide and herbicide sprayers. *N Zealand Med J* 1978;88:192-195.
18. Davis JE, Stevens ER, Staiff DC. Potential exposure of apple thinners to azinphosmethyl and comparison of two methods for assessment of hand exposure. *Bull Environm Contam Toxicol* 1983;31:631-638.
19. De Ferrari M, Artuso M, Bonassi S, Bonatti S, Cavalieri Z, Pescatore D, Marchini E, Pisano V, Abbondandolo A. Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: Chromosome aberration and sister-chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Research* 1991;260:105-113.
20. Dolara P, Salvadori M, Capobianco T, Torricelli F. Sisterchromatid exchange in human lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their mixture. *Mutation Research* 1992;283:113-118.
21. Dolara P, Torricelli F, Antonelli N. Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutation Research* 1994;325:47-51.
22. Dulout FN, Pastori MC, Olivero OA, Gonzalez C, Loria D, Matos E, et al. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutat Res* 1985;-143:237-244.
23. Egnatz DG, Ott G, Townsend JC, Olson RD, Johns DB. DBCP and testicular effects in chemical workers: An epidemiological survey in Midland, Michigan. *J Occup Med* 1980;22:72-7-732.
24. Fenske RA, Birnbaum SB, Methner MM, Soto R. Methods for assessing fieldworker hand exposure to pesticides during peach harvesting. *Bull Environm Contam Toxicol* 1989;43:805-8-13.
25. Forni A. Cytogenetic methods for assessing human exposure to genotoxic chemicals. In: Foa V, Emmet M, Maroni M, Colombi A, eds. *Occupational and environmental chemical hazards--chemical and biochemical indices for monitoring toxicity*. Chichester: Horwood Ellis, 1987:
26. Glass RI, Lyness RN, Mengle DC, Powell KE, Kahn E. Sperm count depression in pesticide applicators exposed to dibromochloropropane. *Am J Epidemiol* 1979;109:346-351.
27. Grandjean P., Skin penetration, Hazardous chemicals at work. London, New York, Philadelphia: Taylor and Francis, 1990:
28. Gray LE, Ostby JS, Kelce WR. Developmental effects of an environmental antiandrogen: the fungicide vinclozolin alters sex differentiation of the male rat. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;129:46-52.
29. Gupta PK, Chandra SV. Toxicity of endosulfan after repeated oral administration to rats. *Bull Environm Contam Toxicol* 1977;18:378-384.
30. Gynter FA, Westlake WE, Barkley JH. Establishing dislogeable pesticide residues on leaf surfaces. *Bull Environm Contam Toxicol* 1973;9 no.4:243-249.
31. Hansen ES, Hasle H, Lander FA. A cohort study on cancer incidence among Danish gardeners. *Am J Ind Med* 1992;21:651-660.

32. Hayes W.J, Laws E.R. *Handbook of pesticide toxicology*. San Diego: Academic Press Inc. 1991.
33. Hemavathi E, Rahiman MA. Toxicological effects of ziram, thiram and dithane M-45 assessed by sperm shape abnormalities in mice. *J Toxicol Environ Health* 1993;38:393-398.
34. Hemavathy KC, Krishnamurthy NB. Evaluation of lannate 20, a carbamate pesticide in the germ cells of male mice. *Environmental research* 1987;42:362-365.
35. Hess RA, Moore BJ, Forrer J, Linder RE, Abuel-Atta AA. The fungicide benomyl (methyl 1-(butylcarbanoyl)-2-benzimidazolecarbamate) causes testicular dysfunction by inducing the sloughing of germ cells and occlusion of efferent ductules. *Fundam Appl Toxicol* 1991;17:733--745.
36. IARC. International Agency for Research on Cancer (IARC). Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Occupational exposures in insecticide application and some pesticides. Vol. 53. Lyon, France: IARC, 1991.
37. Ivanova-Chemishanska L, Vergieva T, Antonov G. Study on the long-term effects of some pesticides. *J Hyg Epidemiol Microbiol Immunol* 1980;24:295-302.
38. Jablonicka A. Morphological changes of sperm in experimental mice after administration of phosmet and mancozeb. *Bratisl Lek Listy* 1988;89:611-614.
39. Kangas J, Laitinen S, Jauhainen A, Savolainen K. Exposure of sprayers and plant handlers to mevinphos in Finnish greenhouses. *Am Ind Hyg Assoc J* 1993;54:150-157.
40. Kelce WR, Monosson E, Gamcsik MP, Laws SC, Gray LE. Environmental hormone disruptors: Evidence that vinclozolin developmental toxicity is mediated by antiandrogenic metabolites. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;126:276-285.
41. Kourakis A, Mouratidou M, Kokkinos G, Barbouti A, Kotsis A, Mourelatos D, Dozi-Vassiliades J. Frequencies of chromosomal aberrations in pesticide sprayers working in plastic houses. *Mutation Research* 1992;279:145-148.
42. Krause W, Homola S. Alterations of the seminiferous epithelium and the leydig cells of the rat testis after the application of dichlorvos. *Bull Environm Contam Toxicol* 1974;11:429-433.
43. Lander F, Brock A, Pike E, Hinke K. Chronic subclinic dietary anti-cholinesterase agents uptake in the spraying season. *Food Chem Toxicol* 1992;30:37-40.
44. Lander F, Hinke K. Indoor application of anti-cholinesterase agents and the influence of personal protection on uptake. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992;22:163-166.
45. Lander F, Lings S. Plasma cholinesterase variation among greenhouse workers, fruitgrowers and slaughtermen. *Br J Ind Med* 1991;48:164-166.
46. Lander F, Pike E, Hinke K, Brock A, Nielsen JB. Anti-cholinesterase agents uptake during cultivation of greenhouse flowers. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992;22:159-162.
47. Lander F, Pike E, Hinke K, Brock A, Nielsen JB. Anti-cholinesterase agents uptake during cultivating of greenhouse flowers. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992;22:159-162.

48. Lander F, Rønne M. Frequency of sister chromatid exchange and hematological effects in pesticide-exposed greenhouse sprayers. *Scand J Work Environ Health* 1995;21:283-288.
49. Lavy TL, Mattice JD, Massey JH, Skulman BW. Measurements of year-long exposure to tree nursery workers using multiple pesticides. *Arch Environ Contam Toxicol* 1993;24:123-144.
50. Lee C, Russell J, Minor J. Oral toxicity of ferric dimethyl dithiocarbamate (ferbam) and tetramethylthiuram disulfide (thiram) in rodents. *J Toxicol Environ Health* 1978;4:93-106.
51. Lerda D, Rizzi R. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutation Research* 1991;262:47-50.
52. Levine LR. Seasonal variation in human semen quality. *Advances in experimental medicine* 1991;286:89-96.
53. Levine RJ, Blunden PB, DalCorso D, Starr TB, Ross CE. Superiority of reproductive histories to sperm counts in detecting infertility at a dibromochloropropane manufacturing plant. *J Occup Med* 1983;25:591-597.
54. Liesivuori J, Liukkonen S, Pirhonen P. Reentry intervals after pesticide application in greenhouses. *Scand J Work Environ Health* 1988;14:35-36.
55. Linder RE, Rehnberg GL. Evaluation of reproductive parameters in adult male wistar rats after subchronic exposure (gavage) to benomyl. *J Toxicol Environ Health* 1988;25:285-298.
56. Lipshultz LI, Ross CR, Whorton D, Milby T, Smith R, Joyner RE. Dibromochloropropane and its effects on testicular function in man. *The Journal of Urology* 1980;124:464-468.
57. Misha VK, Srivastava MK, Raizada RB. Testicular toxicity of thiram in rat: Morphological and biochemical evaluations. *Industrial Health* 1996;31:59-67.
58. Nakai M, Hess RA. Morphological changes in the rat sertoli cell induced by the microtubule poison carbendazim. *Tissue and Cell* 1994;26 (6):917-927.
59. Nakai M, Hess RA, Moore BJ, Gutroff RF, Strader LF, Linder RE. Acute and Long-term effects of a single dose of the fungicide Carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate) on the male reproductive system in the rat. *J Androl* 1992;13 no 6:507-518.
60. Nakai M, Hess RA, Netsu J, Nasu T. Deformation of the rat sertoli cell by oral administration of carbendazim (methyl 2-benzimidazole carbamate). *J Androl* 1995;16 no 5:410-416.
61. Niepolomski W, Szczurek Z, Knapik R, Kolodziejezyk A. Chronic toxicity of chlorocholine chloride (ccc) on the basis of morphological examinations. *Med Pracy* 1970;21:1-6.
62. Nordic Study Group. Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage (1994): Cancer Risk in Humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes. *Cancer Research* 1994;54:2919-2922.
63. Pandey N, Gundevia F, Prem AK, Ray PK. Studies on the genotoxicity of endosulfan, an organochlorine insecticide, in mammalian germ cells. *Mutation Research* 1990;242:1-7.
64. Pati PC, Bhunya SP. Cytogenic effects of venvlafexin in mammalian in vivo tests systems. *Mutat Res* 1989;222:149-154.

65. Páldy A, Puskás N, Vincze K, Hadházi M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutation Research* 1987;187:127-132.
66. Popendorf W, Leffingwell JT. Regulating OP pesticide residues for farmworker protection. *Residue reviews* 1982;82:125-199.
67. Potashnik G, Ben-Aderet N, Israeli R, Yanai-Inbar I, Sober I. Suppressive effect of 1,2-dibromo-3-chloropropane on human spermatogenesis. *Fertil Steril* 1978;30:444-447.
68. Potashnik G, Yanai-Inbar I. Dibromochloropropane (DBCP): An 8-year reevaluation of testicular function and reproductive performance. *Fertil Steril* 1987;47:317-323.
69. Prasad MH, Pushpavathi K, Rita P, Reddy PP. The effect of thiram on the germ cells of male mice. *Fd Chem Toxicol* 1987;25:709-711.
70. Ratcliffe JM, Schrader SM, Steenland K, Clapp DE, Turner T, Hornung RW. Semen quality in papaya workers with long term exposure to ethylene dibromide. *Br J Ind Med* 1987;44:317-326.
71. Rita P, Reddy PP, Reddy SV. Monitoring of workers occupational exposed to pesticides in grape gardens of Andhra Pradesh. *Environmental Research* 1987;44:1-5.
72. Rupa DS, Reddy PP, Reddi O. Clastogenic effects of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers. *Mutation Research* 1991;261:177-180.
73. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environmental research* 1989;49:1-6.
74. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. Analysis of sister chromatid exchange, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers. *Mutat Res* 1989;223:253-258.
75. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. Frequencies of chromosomal aberrations in smokers exposed to pesticides in cotton fields. *Mutation Research* 1989;222:37-41.
76. Rupa DS, Reddy PP, Sreemannarayana K, Reddi OS. Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators. *Environ Molecular Mutagenesis* 1991;18:-136-138.
77. Rupa DS, Rita P., Reddy PP, Reddi OS. Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Human Toxicol* 1988;7:333-336.
78. Salem MH, et al. Effect of organophosphorus (dimethoate) and pyrethroid (deltamethrin) pesticides on semen characteristics in rabbits. *J Environ Sci Health* 1988;B23(3):279-290.
79. Sandifer SH, Wilkins RT, Loadholt CB, Lane LG, Eldridge JC. Spermatogenesis in agricultural workers exposed to dibromochloropropane (DBCP). *Bull Environm Contam Toxicol* 1979;23:-703-710.
80. Schwartz D, Mayaux MJ, Spira A, Moscato ML, Jouannet P, Czyglik F, David G. Study of group of 484 fertile men. Part II: Relation between age (20-59) and semen characteristics. *Int J Androl* 1981;4:450-456.
81. Sinha N, Narayan R, Shanker R, Saxena D. Endosulfan-induced biomechanical changes in the testis of rats. *Vet Human Toxicol* 1995;37:547-549.

82. Sorsa M, Ojajarvi A, Salomaa S. Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals. *Teratogen Carcinog Mutagen* 1990;10:215-221.
83. Szepvölgyi J, Nagy K, Vukan KS, Regöly-Merie A, Soos K, Toth K, Pinter A, Antal K. Subacute toxicological examination of dithane M-45. *Fd Chem Toxic* 1989;27:531-538.
84. Szymczynski GA, Waliszewski SM. Chlorinated pesticide residues in testicular tissue samples, pesticides in human testicles. *Andrologia* 1983;15(6):696-698.
85. Takahashi W, Wong L, Rogers B, Hale RW. Depression of sperm counts among agricultural workers exposed to dibromochloropropane and ethylene dibromide. *Bull Environm Contam Toxicol* 1981;27:551-558.
86. Van Hemmen JJ, Brouwer R, Brouwer DH. Worker exposure to pesticides in greenhouses health risks during harvesting of flowers. *Med Fac Landbouw Gent* 1992;57:1269-1283.
87. Vine MV, Margolin BH, Morrison HI, Hulka BS. Cigarette smoking and sperm density:a meta-analysis. *Fertil Steril* 1994;61:35-43.
88. WHO. World Health Organization (WHO). Carbamate pesticides: A general introduction. Environmental Health Criteria no 64. Geneva: WHO, 1986.
89. WHO. World Health Organization (WHO). Organophosphorus insecticides: A general introduction. Environmental Health Criteria no 63. Geneva: WHO, 1986.
90. WHO. World Health Organization (WHO). Dithiocarbamate pesticides, ethylenethiourea, propylenethiourea: A general introduction. Environmental Health Criteria no. 78. Geneva: WHO, 1988.
91. WHO. Whorld Health Organization (, ed. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm - cervical mucos interaction. 3rd Ed. 1992:
92. Whorton D, Krauss R, Marshall S. Infertility in male pesticide workers. *Lancet* 1977;1259-1261.
93. Worthon D, Milby TH, Krauss RM, Stubbs HA. Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J Occup Med* 1979;21:161-166.
94. Wyrobek AJ, Bruce WR. Chemical induction of sperm abnormalities in mice. *Proc Nat Acad Sci* 1975;72:4425-4429.
95. Wyrobek AJ, Watchmaker G, Gordon L, Wong K, Moore D, Whorton D. Sperm shape abnormalities in carbaryl-exposed employees. *Environ Health Perspect* 1981;40:255-265.
96. Yoder J, Watson M, Benson WW. Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. *Mutat Res* 1973;21:335-340.
97. Zdzienicka M, Hryniwicz M, Pienkowska M. Thiram-induced sperm-head abnormalities in mice. *Mutation Research* 1982;102:261-264.
98. Zweig G, Gao R, Witt JM, Popendorf W, Bogen K. Dermal exposure to carbaryl by strawberry harvesters. *J Agric Food Chem* 1984;32:1232-1236.

Bilag 1.

Fungicider	Stofgruppe	Effekt	Mekanisme	LOEL mg/kg/1gv/d	NOEL mg/kg/1gv/d	Ref
Benomyl	Benzimidazole	Tubulær atrofi	Påvirkning af tubulin polymerisation, Sertoliceller ændrer facion, præmatur frigivelse af kimceller, ductuli efferentes lukkes, ophobning i lumen, nekrose af epithel celler, inflammation, hævelse, nedsat blodgennemstrømning og atrofi.	45 25 12,5	15	(35,37,55, 58,60)
Carbendazim		som benomyl	som benomyl	50		(59)
Vinclozolin	Dicarboximid	Feminisering af hanrotter ved eksponering intrauterint	2 metabolitter binder til androgen receptor, derfor anti-androgen virkning	100 (til moder)		(28,40)
Iprodion	Dicarboximid	Svagt antiandrogen				#
Thiram	Dithiocarbamate	Mutagen Tubulær degeneration	Ukendt, men enzym ændringer og præmatur frigivelse af kimceller Mutagen	30 (5 d) i.p. 25 (90 d)p.o.	10(90 d)p.o	(33,50,57, 69,97)
Captan	Tetrahydro-pthalimid	Mutagen		100 (4 u)p.o		(16)
Mancozeb	Ethylenbidi-thiocarbamate	Mutagen Øget testis vægt		100(5d)p.o. 253(12 u)p.o	50 (5d)p.o 113(12 u)	(38,83)##

(3,5-dichlorophenyl)-carboxyyl-2-hydroxy-2-methylbuten syre og 3',5'-dichloro-2-hydroxy-2-methylbut-3-enanilide

kun engelsk abstrakt

Vi har ikke fundet publicerede undersøgelser af ipordion i relation til spermatoxitet. En række af de undersøgelser, der er refereret i Miljøstyrelsens grundvurdering, tyder dog på at stoffet er antiandrogen, og påvirker testisvævet.

Insektilder klororganoforbindelser	Stofgruppe	Effekt	Mekanisme	LOEL mg/kg/d (dage)	NOEL mg/kg/d (dage)	Ref
Endosulfan	organochloride-cyclo-diene	Tubular degeneration Nedsat testikulær biosyntese, nedsat antal sædceller Mutagen		100(15d)p.o 2,5(70d)p.o 16,3(5d)i.p	5(15d)p.o 9,8(5d)i.p	(29,63,81)
Lindan		Tubulær degeneration Påvirket steroid syntese, og Leidig celle degeneration		8(10 d)i.p 4(45 d)i.p		(11-13)
Dichlorvos		Påvirkning af Leidig og Sertoli celler Mutagen		40 (1d)p.o 10 (5)		(42,94)
Carbamater						
Methomyl	Carbamate	Mutagen		4(5d)p.o		(34)
Pyrethroider						
Deltamethrin		Nedsat sædkoncentration (kanin) Mutagen		1/100 LD 50 10(1d) i.p.		(2,78),#
Fenvalerat		Mutagen		20 (5)		(64)
Vækstregulatorer		"Neurotic" forandringer		18		(61),##
Chlormequat-chlorid						

kun engelsk abstrakt, der er fundet neurologiske forandringer i testiklerne hos et dyr, på den baggrund konkluderes, at stoffet måske specielt er spermatoxisisk. CCC er ikke regnet som mistænkt spermatoxisisk i analysene.

bilag 2

Tabel 50 Gartneri indeks, insekticider
Greenhouse index, insecticides

Antal gange på 3 mdr. N=101	-1 N=43	1-<2 N=21	2- N=37
	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	86 (4 32 140 292)	116 (2 60 258 504)	66 (1 28 122 280)
Volumen ml Volume	2.5 (0.9 1.4 3.9 7.5)	2 (0.1 1.3 3 5)	2.2 (0.5 1.4 3.3 5)
Totaltal Count mill.#	165 (16 92 272 1096)	323 (5 226 522 1460)	162 (1 87 272 595)
% med god motilitet % with good motility	51 (15 42 58 69)	47 (6 43 55 62)	44 (0 30 53 68)
% døde % dead	24 (8 16 33 54)	27 (13 22 35 68)	31 (7 18 43 76)
morfologi	65 (34 56 72 85)	71 (53 68 76 84)	65 (26 57 74 78)
VCL µm/sek.	63 (34 53 77 93)	77 (0 69 85 90)	61 (0 54 70 87)

Forskel efter confounderkontrol
Differences after confoundercontrol

	-1	1-<2	2- reference
Koncentration, mill/ml mean, 95% CI	88(57 128)	126(78 190)	80
% døde, OR 95% CI	1(0.73 1.36)	1.36(0.92 1.86)	1
% normale, OR 95% CI	0.97(0.76 1.22)	1.32(0.99 1.78)	
Hastighed, 95% CI	5.05(-3.4 13.5)	12.9(2.3 23.5)	

*Tabel 51 Gartneri indeks, fungicider
Greenhouse index, fungicides*

Indeks	N=101	<1 N=62	1<= N=39
		Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	67 (1 32 130 280)	102 (2 38 212 1504)	
Volumen ml	2.4 (0.5 1.4 3.4 7.5)	2.3 (0.1 1.3 3.2 6.3)	
Totalt Count mill.#	161 (1 95 252 464)	272 (5 100 501 1460)	
% med god motilitet % with good motili- ty	47 (5 37 55 67)	49 (6 41 56 68)	
% døde % dead	30 (7 18 42 76)	24 (7 20 32 68)	
morfologi	65 (26 59 74 87)	68 (38 57 73 84)	
VCL µm/sek.	63 (0 52 75 92)	69 (0 57 82 93)	

Forskel i koncentration efter confounder kontrol
Difference in concentration after confounder control

	-1	1- (reference)
Koncentration mill/ml mean, 95% CI	54(34 81)	80
% døde, OR 95 CI	1.13(0.85 1.5)	1
% normale, OR 95% CI	0.93(0.73 1.36)	1
Hastighed, 95% CI	-7.03(-15.0 1.0)	0

*Tabel 53 Gartneri indeks, vækstreguleringsmidler
Greenhouse index, grothregulators*

Indeks	N=101	0 N=25	0<3 N=27	3- N=49
		Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration Density mill/ml	66 (8 38 130 290)	88 (22 32 122 280)	100 (1 32 200 504)	
Volumen ml	2.3 (0.1 1.7 2.3 6)	2 (0.5 1.2 3 6.5)	2.4 (0.3 1.5 3.5 7.5)	
Totaltal Count mill.#	197 (5 108 330 595)	163 (1 83 272 1096)	239 (16 108 370 1460)	
% med god motilitet % with good motility	48 (4 37 53 69)	47 (15 40 57 62)	48 (6 34 56 66)	
% døde % dead	32 (13 23 45 62)	25 (9 18 33 76)	26 (7 18 34 68)	
morfologi	70 (49 61 75 85)	65 (38 57 72 83)	67 (26 56 73 87)	
VCL µm/sek.	62 (35 54 75 92)	64 (0 52 75 93)	64 (0 56 78 90)	

Forskel i koncentration efter confounder kontrol
Difference in concentration after confounder control

	0	0-3	3-
mill/ml			
mean, 95% CI	67(37 105)	67(41 103)	80
% døde, OR(95% CI)	1.1(0.75 1.61)	0.99(0.72 1.37)	1
% normale, OR(95% CI)	1.19(0.88 1.58)	0.99(0.77 1.27)	1
Hastighed	1.14(-9.4 11.6)	-5.1(-14.2 3.9)	0

Tabel 54 Gartneri indeks, mistænkt spermatotokiske midler.
Greenhouse index, suspected spermatotoxic pesticides

	0-1 N=58	1< N=43
	Median (0 25 75 100 per- centil)	Median (0 25 75 100 percentil)
Koncentration	88	66
Density mill/ml	(4 32 142 328)	(1 34 170 504)
Volumen ml	2.4 (0.9 1.4 2.5 3)	2.4 (0.1 1.5 3.5 5.1)
Totaltal	160	190
Count mill.#	(16 92 272 1096)	(1 119 438 1460)
% med god motilitet	48	47
% with good motility	(4 43 58 69)	(0 37 55 68)
% døde	28	24
% dead	(8 20 36 54)	(7 19 38 76)
morfologi	67 (34 61 75 85)	68 (26 56 73 87)
VCL µm/sek.	65 (0 53 77 93)	62 (0 55 75 89)

Forskel efter confounder kontrol
Differences after confounder control

	3-
Koncentration mill/ml mean, 95% CI	78 (52 113) 80
% døde, OR(95% CI)	0.99 (0.74 1.32) 1
% normale, OR(95% CI)	0.99 (0.78 1.26) 1
Hastighed	5.12 (-2.78 13.2) 0

Undersøgelse af ikke tidligere pesticid-eksponerede

I protokollen for dette projekt indgik oprindeligt undersøgelse af 2 studiepopulationer. Den ene er beskrevet i rapporten.

Den anden bestod af personer, der startede indenfor gartnerfaget, men uden tidligere erhvervsmæssig pesticid-eksponering. Planen var at undersøge diverse effektmål før eksponering og efter et halvt og 1 års eksponering.

Inklusionskriteriene var som i det andet studie, blot blev minimums alderen sænket til 16 år, og der var krav om ingen erhvervsmæssig pesticid-erfaring indenfor de sidste 2 år. Vi forsøgte at rekruttere deltager fra gartnerskoler i Jylland og på Fyn, samt nystartede i de gartnerier, der indgik i undersøgelsen. Undersøgelsesgruppen bestod af personer der ville i væksthus, kontrolgruppen af elever, der planlagde uddannelse som anlægsgartnerere eller skovbrugere.

Fra efterår 1993 og i løbet af 1994 introducerede vi undersøgelsen for 9 hold gartnerelever på 5 forskellige skoler. 2 hold var på ca. 100, de øvrige på ca. 20. Rekrutteringen var meget ringe. Kun ganske få mænd fra hvert hold ville være væksthusgartnerere, og mange var tidligere pesticideksponerede og kunne derfor ikke indgå. Blandt de der deltog, var frafaldet stort. En del forlod uddannelsen, andre ønskede ikke fortsat at deltage.

Til kromosomskadestudiet blev også forsøgt rekrutteret piger, her var det et ekstra krav, at deltagerne var ikke-rygere. Også blandt pigerne var der få der opfyldte inklusionskriteriene, og rekrutteringen var ringe. I løbet af 1993-1995 lykkedes det i alt at rekruttere 10 mandlige gartnerelever. Af disse fik 4 praktikplads som væksthusgartnerere og fortsatte indenfor faget. Kun fra 2 lykkedes det at få nr. 2 sædprøve. Ingen af de øvrige lykkedes det at få 2. sædprøve fra. Som nystartede fra gartnerierne blev rekrutteret 8. Fra disse fik vi 2. sædprøve fra 5, og fra 2 fik vi 3 tredje prøve.

Til kromosomskade-studiet blev udover de mandlige gartnerelever rekrutteret i alt 9 kvinder.

Det var meget ressourcekrævende at rekruttere fra gartnerskolerne. Og i erkendelse af, at rekrutteringen var for ringe, blev den del af undersøgelsen opgivet i 1995. Det sidste år har vi fortsat forsøgt at rekruttere nystartede fra gartnerierne til sædundersøgelsen. Et af de store gartnerier med mange nystartede meldte fra. På trods af at næsten alle ansatte i gartneriet indgik i den anden undersøgelse, fandt de det for vanskeligt at bede nyansatte om at deltage i en undersøgelse som denne. Fra de øvrige gartnerier er det kun sjældent lykkedes at rekruttere. Vi må således konstatere, at det ikke lykkedes at få det antal deltagere, vi ønskede. Og vi er ikke, med de få personer der indgår, i stand til at konkludere på den del af undersøgelsen.

I tabel 55 ses koncentration og morfologi på de 7, som det lykkedes at få 2 prøver fra.

Tabel 55 Koncentration og morfologi før og efter eksponering
Density and morphology before and after exposure

N=7	1. prøve	2. prøve
Koncentration mill/ml	108 (38 40 128 130)	48 (15 18 172 230)
% normale	73 (60 61 77 78)	64 (55 57 73 83)

På de rå værdier er der stor forskel mellem 1. og 2. prøve, specielt på koncentrationen. Som konsekvens af, at gruppen er så lille, er ingen af forskellene dog signifikante i regressionsanalyse med kontrol for relevante confoundere. Men tendensen ser umiddelbart interessant ud. På trods af problemerne med at få deltagere, er der således fortsat grund til at forsøge at få rekrutteret til den del af undersøgelsen.

Registreringsblad

Udgiver: Miljø- og Energiministeriet, Miljostyrelsen
Strandgade 29, 1401 København K

Serietitel, nr.: Bekæmpelsesmiddelforskning fra Miljostyrelsen, 25

Udgivelsesår: 1997

Titel: Sædkvalitet og kromosomskader hos pesticidekspонerede væksthusgartnere

Undertitel:

Forfatter(e):

Abell, Annette; Lander, Flemming; Knudsen, Lisbeth Ehlert; Ernst, Erik;
Norppa, Hannu; Bonde, Jens Peter

Udførende institution(er):

Arbejdstilsynet; Aarhus Kommunehospital; Arbejdsmiljøinstituttet;
Institutet for Arbetshygiene (Finland)

Resumé:

Væksthusgartnere som helhed har ikke nedsat sædkvalitet; men gartnere, der har arbejdet i mange år i væksthuse med prydplanteproduktion har ringere sædkvalitet end gartnere, som har arbejdet der i færre år. Der skønnes at være reduceret sædkvalitet og forøget antal kromosomafvigelser ved stigende eksponering samt ved dårlig handhygiejne. Der er stor sæsonvariation i sædkvaliteten hos både økologiske og ikke økologiske gartnere. Eksponeringsmålene er dog upræcise.

Emneord:

gartneri; sædkvalitet; arbejdsmiljø; pesticider; væksthuse

ISBN: 87-7810-721-0

ISSN:

Pris (inkl. moms): kr. 165,-

Format: A4

Sidetal: 118

Md./år for redaktionens afslutning: januar 1997

Oplag: 500

Andre oplysninger:

Tryk: Notex - Tryk & Design a-s, Søborg

Kan købes hos: Miljøbutikken, tlf. 33379292 - telefax 33927690

Trykt på 100% genbrugspapir **Cyclus**

Bekämpelsesmiddelforskning fra Miljøstyrelsen (Pesticide Research)

- Nr. 1: Pesticiders indflydelse på gulspurvens levevilkår
- Nr. 2: Pesticiders utilsigtede effekter på meldug og bladlus
- Nr. 3: Bevægelsesaktivitet i effektvurdering af pesticider
- Nr. 4: Terrestriske belastningstal for pesticider
- Nr. 5: Earthworms as Ecotoxicological Test-Organisms
- Nr. 6: Sprøjtefri randzoner i sædkiftemarkør
- Nr. 7: Earthworms as Bioindicators of Sideeffects of Fungicides
- Nr. 8: Effects of Pesticides on Meso- and Microfauna in Soil
- Nr. 9: Pesticide Modelling and Models
- Nr. 10: Væksthusgartneres belastning med insekticider
- Nr. 11: Udvaskning af pesticider fra landbrugsjord
- Nr. 12: Agerlandets edderkopper
- Nr. 13: Frøpuljens størrelse og dynamik i moderne landbrug 1
- Nr. 14: Frøpuljens størrelse og dynamik i moderne landbrug 2
- Nr. 15: Yellowhammer Studies on Organic and Conventional Farms
- Nr. 16: Pesticider og agerjordens fauna af tovingede insekter
- Nr. 17: Distribution of Birds in Danish Farmland
- Nr. 18: Phenoxyssyrer : Vurdering af risiko for grundvand
- Nr. 19: Influence of Non-spraying on Parasitoids
- Nr. 20: Pesticidudvaskning fra landbrugsjord og fra nyplantet skov
- Nr. 21: Kortlægning af visse pesticider i grundvand
- Nr. 22: Comparison of Different Weed-rankings as Predictors of Yield Loss
- Nr. 23: Udvaskning af mechlorprop (K-salt) anvendt om efteråret
- Nr. 24: Udvaskning af mechlorprop (ethylhexylester) udsprøjtet om efteråret
- Nr. 25: Sædkvalitet og kromosomskader hos pesticideksponerede væksthusgartnere

Sædkvalitet og kromosomskader hos pesticideksponerede væksthusgartnere

Væksthusgartnere som helhed har ikke nedsat sædkvalitet; men gartnere, der har arbejdet i mange år i væksthuse med prydplanteproduktion, har ringere sædkvalitet end gartnere, som har arbejdet der i færre år. Der skønnes at være reduceret sædkvalitet og forøget antal kromosomafvigelser ved stigende eksponering samt ved dårlig håndhygiejne. Der er stor sæsonvariation i sædkvaliteten hos både økologiske og ikke økologiske gartnere. Eksponeringsmålene er dog upræcise.



Pris kr. 165,- (inkl. 25% moms)

ISBN nr. 87-7810-721-0

Miljø- og Energiministeriet **Miljøstyrelsen**
Strandgade 29 · 1401 København K · Telefon 32 66 01 00