

***Tidstrender för urinhalter av
bekämpningsmedelsrester hos unga män
– Resultat från fyra undersökningar
mellan 2000 - 2013.***

Rapport till Naturvårdsverket – 2016-11-11

Avtal 2215-15-005

NV diarienummer NV-00136-15

Erika Norén, Moosa Faniband, Daniel Oudin Åström, Margareta Littorin,
Margareta Maxe, Bo AG Jönsson, Christian H Lindh.
Avdelningen för Arbets- och miljömedicin, Lunds Universitet, 221 85
Lund

Abstract

The increased use of synthetic chemicals in society poses possible harmful risks for the environment and human health. There are difficulties in predicting and evaluating consequences and effects of long-time exposure of different chemicals. Biomonitoring is one way to observe the level of exposure in the human population.

Agricultural pesticides are a widely used group of chemicals to which we are mainly exposed by occupation or by diet. Long-term exposure to pesticides might have a negative impact on human health, especially in children and foetuses, due to genotoxic, neurotoxic and endocrine disrupting characteristics of many pesticides.

This study focuses on the exposure assessment of 14 different metabolites from about 20 pesticides in urinary samples. The pesticides and their biomarkers of exposure included in the analysis were the fungicides thiabendazole (OH-T), pyrimetanil (OH-P), tebuconazole (TEB-OH), mancozeb and several ethylenebisdithiocarbamates (ETU), propineb (PTU), the insecticides chlorpyrifos (TCP), some pyrethroid insecticides, which have the same corresponding biomarkers (3-PBA, DCCA), and some specific pyrethroid biomarkers (4F-3-PBA, CFCA), the herbicides 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid (MCPA) and the growth regulators chlormequat (CCC) and mepiquat (MQ). The samples were collected years 2000, 2004, 2009 and 2013 from young men in the enrolment for military service in the south of Sweden. The last year of measurement (2013) both young men and women in upper secondary school were included. All samples were analysed in 2016 with liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS). The emphasis of the statistical analysis was temporal trends between the years 2000 and 2013.

The highest concentrations were found for TCP and CCC in all samples from all four years. In general, the concentrations were below the levels seen in previous studies of other Swedish populations. The only increasing trend near significance was that for TCP, although the increasing gradient was fairly low ($\beta = 0,28$). The concentrations of CCC decreased over the years, but not statistically significantly so. The biomarkers 3-PBA, 2,4-D, DCCA and MQ were detected above the limit of detection (LOD), but in fairly low concentrations in the

majority of samples and without significant trends. The remaining residues were mainly below the LOD and could not be further statistically analysed.

Sammanfattning

Den ökade användningen av syntetiskt framställda bekämpningsmedel i samhället medför en risk för negativ påverkan på miljön och mänsklig hälsa. Dock är det svårt att utreda riskerna och förutse vilka konsekvenser som exponeringen kan medföra på lång sikt. Biologisk övervakning är ett sätt att följa och observera exponeringen av olika ämnen i befolkningen. Bekämpningsmedel som används inom jordbruk exponeras vi främst för yrkesmässigt eller via livsmedel. Vissa ämnen som ingår i dessa medel har visats ha genotoxiska, neurotoxiska eller hormonstörande egenskaper och exponering för dem kan på lång sikt medföra en negativ hälsopåverkan, särskilt om foster och barn exponeras.

I denna studie presenteras exponeringen för 14 olika exponeringsbiomarkörer från ca 20 bekämpningsmedel genom analys av urinprov från unga män i Skåne som samlats in vid mönstring, och sista året från både män och kvinnor i samma ålder i gymnasiet. Fokus ligger på tidstrender mellan år 2000 och 2013. De bekämpningsmedel och motsvarande biomarkörer som inkluderats är fungiciderna tiabendazol (OH-T), pyrimetanil (OH-P), tebukonazol (TEB-OH), mankozeb och ett antal etylenebisditiokarbamater (ETU), propineb (PTU), insekticiderna klorpyrifos (TCP), flera pyretroider med samma exponeringsbiomarkörer (3-PBA, 4F-3-PBA, DCCA, CFCA), herbiciderna 2,4-diklorfenoxiättiksyra (2,4-D) och 2-metyl-4-klorfenoxiättiksyra (MCPA) samt tillväxtregulatorerna klormekvat (CCC) och mepikvat (MQ). Urinproverna samlades in år 2000, 2004, 2009 och 2013 och analyserades år 2016 med vätskekromatografi-tandemmasspektrometri (LC/MS/MS).

Exponeringsbiomarkörerna som förekom i högst koncentrationer var TCP och CCC i alla prover från samtliga år. Dock var koncentrationerna generellt lägre än i tidigare studier av andra undersökta grupper i Sverige. Den enda trend som fanns var för TCP med en ökande lutning på 0,28 ng/ml av medelvärde mellan tidpunkterna och ett p-värde nära signifikans ($\sim 0,07$). Koncentrationen av CCC såg ut att minska över åren men ingen signifikant trend kunde observeras. Exponeringsbiomarkörerna 3-PBA, 2,4-D, DCCA, MQ och ETU hittades i halter över detektionsgränsen men i väldigt låga koncentrationer i majoriteten av proven samt utan signifikanta trender mellan åren. De flesta resterande bekämpningsmedelsrester låg under detektionsgränsen och kunde därför inte analyseras statistiskt.

Innehållsförteckning

Abstract	2
Sammanfattning	4
Innehållsförteckning	5
1 Inledning	6
1.1 Syfte	7
1.2 Studiens omfattning	7
1.3 Bakgrund	7
1.3.1 Insecticider	9
1.3.2 Herbicider	10
1.3.3 Fungicider	11
1.3.4 Tillväxtregulatorer	12
2 Metod	14
2.1 Material	14
2.2 Provupparbetning och analys	16
2.3 Bearbetning av mätvärden	17
2.4 Beräkning av ADD	17
2.5 Sammanställning och statistisk bearbetning	18
3 Resultat	19
3.1 Statistisk analys	19
3.2 Analys för tidstrender	20
3.3 Beräkning av uppskattat dagligt intag	23
4 Diskussion	24
4.1 Kommentar till analysresultaten	24
4.2 Tolkning av resultaten	25
4.3 Metod och provunderlag	27
5 Slutsatser	29
6 Tack	30
7 Referenser	31
BILAGA 1	42
BILAGA 2	43

1 Inledning

Den ökade användningen av syntetiskt framställda kemikalier för olika ändamål i samhället medför en spridning av nya ämnen till miljön (Walker et al., 2012). En betydande del av dessa kemikalier är bekämpningsmedel som används i stor skala vid produktion av livsmedel. Rester av bekämpningsmedel förekommer i både luft, vatten och mark och kan därmed påverka organismer och hela ekosystem (Walker, 2009). Allmänbefolkningen exponeras dagligen för pesticider, främst via intag av odlade livsmedel som spannmål, frukt och grönsaker (Wallström et al., 2000; Jonsson et al., 2007; Littorin et al., 2011; Jansson et al., 2011; Statens folkhälsoinstitut, 2011 & 2012; Littorin et al., 2013; Wannberg et al., 2013; Jansson et al., 2015b). Även yrkesrelaterad exponering förekommer genom applicering av pesticider inom jordbruk eller biocider inom exempelvis sanering av fastigheter.

Biologisk övervakning av halter av miljögifter i kroppsvätskor har använts som mått på befolkningens samlade exponering från olika upptagsvägar (Aylward & Hays, 2015). Exponeringsbiomarkör är det ämne som analyseras i biologiska prover, antingen metaboliten av ett bekämpningsmedel eller den ursprungliga substansen om den inte bryts ned ytterligare i kroppen. Studier av exponering för bekämpningsmedel och andra miljögifter har de senaste åren bedrivits på Arbets- och Miljömedicin (AMM) i Lund (Jönsson et al., 2010; Littorin et al., 2013). Studier på tidstrender av bekämpningsmedelsrester hos befolkningen ger en indikation på graden av exponering och hur den förändras över tid (Yusa et al., 2015). Biologisk övervakning av exponeringsnivåer i befolkningen kan användas för riskvärderingar samt för förslag till åtgärder för att minska exponeringen (Jakubowski & Trzcinka-Ochocka, 2005).

Flera av de pesticider som används idag har påvisats ha neurotoxiska och genotoxiska effekter samt hormon- och reproduktionsstörande egenskaper till följd av exponering under en längre tid (Maroni & Fait, 1993; Jamal, 1997; Betarbet et al., 2000; Bergman et al., 2012; Ki et al., 2013). Exponering för dessa ämnen kan medföra negativa effekter på human hälsa senare i livet (Maroni & Fait, 1993), framför allt om exponeringen sker under fosterstadiet eller hos barn (Bouchard et al., 2000; Lu et al., 2001 & 2006; Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011; Bergman et al., 2012). Generellt är det dock svårt att utreda ämnenas långsiktiga effekter på miljö och hälsa, framförallt vad gäller

orsakssamband mellan exponering och utfall i epidemiologiska studier (Ntzani et al., 2013).

1.1 Syfte

Som ett led i exponeringsövervakningen i Sverige undersöker denna studie befolkningens halter av bekämpningsmedel från olika källor över en längre tidsperiod. Urinhalter av 14 exponeringsbiomarkörer från ca 20 bekämpningsmedel undersöktes över tid i urvalsgruppen unga män mellan år 2000 och 2013. Studien sammanställer och analyserar halter av bekämpningsmedelsrester i urinprov insamlade vid fyra olika tillfällen som ett mått på exponeringen. Urinproven insamlades i samband med mönstring men år 2013 istället på gymnasieskolor, där både manliga och kvinnliga elever i samma ålder (17-19 år) inkluderades.

1.2 Studiens omfattning

Denna studie omfattar ca 20 bekämpningsmedel som fortfarande används i Sverige och/eller i andra länder. De pesticider som ingår i studien är herbiciderna 2,4-D och MCPA (fenoxysyror), insekticiderna klorpyrifos och flera pyretroider (till exempel permethrin, cypermethrin, deltamethrin, resmethrin, fenvalerat, fenitrothion, cyfenotrin, cyflutrin och bifentrin). Även fungiciderna tiabendazol, pyrimetanol, tebuconazol, mankozeb samt ett antal etylenbisditiokarbamater och propineb samt tillväxtregulatorerna klormekvat och mepikvat är inkluderade (Tabell 3). I dataunderlaget för studien ingår endast urinprov från unga män i Skåne, och sista året även för kvinnor. Exponeringen kan inte härledas till specifika livsmedel eller livsstil hos individerna då denna typ av kostdata inte finns dokumenterad.

1.3 Bakgrund

I begreppet bekämpningsmedel ingår både växtskyddsmedel och biocider. Växtskyddsmedel används inom produktion av livsmedel, biocider för andra

ändamål än växtskydd, till exempel för träimpregnering eller mot ohyra i byggnader. En del ämnen kan användas för båda ändamålen. Ämnen som visats ha alltför toxiska egenskaper är inte längre tillåtna inom livsmedelsproduktion (Walker et al., 2012). I USA, EU och i Sverige utreds kontinuerligt hur och i vilken utsträckning olika ämnen får användas. Gränsvärden och godkänt användande för de ämnen som inkluderas i denna studie redovisas i tabell 1. Då ett ämnes godkännande upphör innebär det ett försäljningsförbud men tillåten återförsäljning ett år och användning i två år efter att godkännandet upphört (Kemikalieinspektionen, 2016).

Tabell 1. Aktiva substanser och aktuella gränsvärden i EU samt godkännande i Sverige/EU.

Gränsvärden som anges: ADI = Acceptable daily intake och ARfD = Acute reference dose.

Informationen är hämtad från EU's pesticiddatabas (2016) samt Kemikalieinspektionens bekämpningsmedelsregister (2016).

Gränsvärden (mg/kg/bw)			Godkännande			
Ämne	ADI	ARfD	SE	Kommentar	EU	Kommentar
Tiabendazol	0,1	0,3	Nej	Godkännande upphört år 2002	Ja	Växtskydd och biocid
Pyrimetanil	0,17	-	Ja	Växtskydd	Ja	Växtskydd
Tebukonazol	0,03	0,03	Ja	Biocid	Ja	Växtskydd och biocid
Klorpyrifos	0,001	0,005	Nej	Biocid. Förbud 2008.	Ja	Växtskydd
Permetrin	-	-	Ja	Biocid	Ja	Biocid
Cypermethrin	0,05	0,2	Ja	Biocid	Ja	Växtskydd och biocid
Deltamethrin	0,01	0,01	Ja	Biocid och växtskydd spannmålslager	Ja	Växtskydd och biocid
Resmethrin	0,03	-	Nej	Godkännande upphört år 2008	Nej	Godkännande upphört år 2007
Fenvalerat	0,013	-	Nej	Godkännande upphört år 1990	Nej	Godkännande upphört år 2003
Fenitrothion	0,07	-	Nej	Godkännande upphört år 1995	Nej	Godkännande upphört år 2006
Cyfenotrin*	-	-	-	-	-	-
Cyflutrin	0,003	0,02	Nej	Godkännande upphört år 2012	Ja	Biocid
Bifentrin	0,015	0,03	Nej	Godkännande upphört år 1992	Ja	Växtskydd
2,4-D	0,05	0,75	Ja	Växtskydd (etylhexylester tillåten)	Ja	Växtskydd
MCPA	0,05	0,15	Ja	Växtskydd (tre derivat tillåtna)	Ja	Växtskydd
Klormekvat	0,04	0,09	Ja	Växtskydd	Ja	Växtskydd
Mepikvat	0,2	0,3	Ja	Växtskydd	Ja	Växtskydd
Mankozeb	0,05	0,6	Ja	Växtskydd	Ja	Växtskydd
Propineb	0,007	0,1	Nej	Godkännande upphört år 1990.	Ja	Växtskydd

*ej registrerad i EU's pesticiddatabas eller bekämpningsmedelsregistret

I Sverige kontrollmäts varje år rester av bekämpningsmedel i livsmedel inom det nationella kontrollprogram som bedrivs av Livsmedelsverket. En stor del av de bekämpningsmedelsrester som detekteras kan härledas till importerade livsmedel, som i större utsträckning innehåller halter av en eller flera pesticider (Jonsson et

al., 2007; Jansson et al., 2011; Widenfalk & Fohgelberg, 2012; Jansson et al., 2015b). Av de bekämpningsmedel som ingår i denna studie påträffades oftast klorpyrifos och tiabendazol i importerade livsmedel (Jonsson et al., 2007). Det förekommer också att EU-harmoniserade gränsvärden överskrids, främst i livsmedel från utlandet.

Internationellt och i Sverige har andra typer av exponeringar undersökts, såsom för tungmetaller och persistenta organiska föroreningar, inklusive äldre typer av bekämpningsmedel som exempelvis DDT (Schroijen et al., 2008; Sobus et al., 2015). Internationellt finns numera även flera studier av exponeringen för pyretroider, organofosfater och andra äldre bekämpningsmedel som fortfarande används (Egeghy et al., 2011). I USA har en mängd data samlats in och studier med fokus på bekämpningsmedel har presenterats framför allt av National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES, 2016). Dock saknas studier för de flesta moderna bekämpningsmedel som tillkommit på senare tid och som används idag. Dessutom finns väldigt få studier av exponering över längre tidsperioder med fokus på trender (Jakubowski & Trzcinka-Ochocka, 2005; Osrea et al., 2014). En begränsning med biologisk övervakning av bekämpningsmedel är bristen på utarbetade analysmetoder för pesticider och kunskap om vilka biomarkörer som ska analyseras för bedömning av exponeringen (Yusa et al., 2015). Flera nya analysmetoder för bekämpningsmedel som nu används har dock utvecklats på Arbets- och Miljömedicin i Lund, exempelvis för klormekvat, CCC (Lindh et al., 2011), ETU (Ekman et al., 2013), tiabendazol (Ekman et al., 2014), imazalil (Faniband et al., 2015) och pyrimetanil (Faniband et al. manuskript).

1.3.1 Insekticider

Pyretroider är syntetiskt framställda bekämpningsmedel vars struktur utgår från naturligt förekommande pyretriner i växten *Chrysanthemum cineraraefolium*. Både pyretriner och pyretroider hör till de mest frekvent använda pesticiderna mot insekter inom växtskyddet (Saillenfait et al., 2015). De pyretroider som ingår i denna studie är permetrin, cypermetrin, deltametrin, resmetrin, fenvalerate, fenotrin, cyfenotrin, cyflutrin och bifentrin. Pyretroidernas mekanism verkar på nervsystemet hos insekter och däggdjur genom att interagera med natriumkanalerna i nervtrådarna vilket stör nervsignalerna (Walker, 2009). Effekten är starkast på insekter men ligger även bakom akuta symptom hos människor som exponerats i yrket. Detta är främst övergående symptom som domningar, vilket påminner om resultat från djurtest som utöver dessa effekter

även visat på nedsatt motorisk aktivitet (Das et al., 2001; Wolansky & Harrill, 2008). Allt fler studier indikerar att pyretroiderna kan ha en rad andra toxiska effekter, där oxidativ stress tycks spela roll (Wang et al., 2016). Till exempel har hormonstörande effekter hos män påvisats (Chen et al., 2002; Han et al., 2008; Meeker et al., 2009; Ji et al., 2011). Resultaten är omdebatterade och det finns studier med motsägande resultat, dock främst i analyser där endast exponeringsbiomarkören 3-PBA inkluderats (Zhang et al., 2013; Yoshinaga et al., 2014). Endast cypermetrin och permetrin är tillåtna inom svensk produktion (Tabell 1). Bifentrin var tillåtet i Sverige fram till 1992 (WHO, 1992) men visades i vissa studier vara cancerogen och därmed en risk för mänsklig hälsa enligt EFSA (2011). Inget preparat omregistrerades därefter i Sverige (Agribusiness Intelligence, 1996), men ämnet används fortfarande mot insektsangrepp i spannmål i vissa länder i EU.

Klorpyrifos tillhör gruppen organofosfater och har använts som insekticid inom jordbruk i stor utsträckning sedan 1980-talet (Richardson & Chambers, 2005). Ämnet är en kolinesterashämmare som verkar på nervsystemet hos både skadeinsekter och däggdjur (del Pino et al., 2015). Det är välkänt att både tillfällig och långtidsexponering för organofosfater som klorpyrifos har neurotoxiska effekter (Ki et al., 2013). Vidare har prenatal exponering associerats med nedsatt kognitiv förmåga hos barn senare i livet (Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011) och eventuellt en ökad risk för barn att utveckla sjukdomar som ADHD (Bouchard et al., 2000). Epidemiologiska studier har påvisat en koppling mellan exponeringen för insekticider, bland annat klorpyrifos och permetrin, och en ökad risk för Parkinson's sjukdom (Gunnarsson & Bodin, 2014). Djurförsök stödjer detta samband. Användning av insekticider (pyretroider, organiska fosforföreningar och klororganiska föreningar) klassades för flera år sedan av IARC, WHO:s internationella cancerinstitut i Lyon, som troligen carcinogent för människor (IARC, 1991). Klorpyrifos är tillåtet i vissa medlemsländer inom EU men inte inom svensk produktion (Tabell 1).

1.3.2 Herbicider

Fenoxisyrorna 2,4-D och MCPA har använts för kontroll av ogräs sedan 1940-talet. 2,4-D är en av de vanligaste herbiciderna och används idag i EU, inklusive Sverige. 2,4-D-preparat var inte tillåtna alls i Sverige under en period efter 1990 då studier ansågs visa på en förhöjd risk för cancer kopplat till användning och exponering av olika fenoxisyror (Axelson & Sundell, 1974; Axelson et al., 1980;

Hardell & Eriksson, 1988). Resultaten är dock tvetydiga och omdiskuterade (Ntzani et al., 2013). Den verksamma substansen 2,4-D etylhexylester introducerades igen år 2011 och denna variant tilläts för växtskydd i Sverige (Kemikalieinspektionen, 2016). Risker och hälsorelaterade problem har utretts i ett flertal studier där främst neurotoxiska och reproduktionsstörande effekter påvisats men vid exponering för väldigt höga, toxiska halter (Munro et al., 1992).

Herbiciden MCPA används fortfarande i Sverige och övriga EU, men användningen har minskat då den i vissa fall ersatts av andra substanser som glyfosat. Ett fåtal studier har visat att MCPA kan ge effekter som induktion av ökade nivåer av testosteron (Orton et al., 2009) samt förhöjd risk för vissa cancersjukdomar som non-Hodgkin's lymfom (Eriksson et al., 2008). Även dessa samband är svåra att fastställa och kopplingen mellan exponering för dessa bekämpningsmedel och cancer är inte klarlagd (Ntzani et al., 2013). Yrkesrelaterad exponering för MCPA och 2,4-D verkar dock kunna leda till immunosuppression, vilket skulle kunna bidra till en hälsorisk eller ökad risk för cancer (Faustini et al., 1996). De tre derivaten dimetylaminsalt, isooktylester och kaliumsalt av MCPA är idag tillåtna för växtskydd i Sverige (Kemikalieinspektionen, 2016).

1.3.3 Fungicider

Tiabendazol har använts sedan 1960-talet, till en början som läkemedel mot parasiter och därefter som fungicid under odling och efter skörd av frukt och grönsaker som banan, äpple och potatis. Den verksamma substansen används som träskyddsmedel i Sverige men är inte godkänd för växtskydd. Vid studier på råttor har exponering för tiabendazol visats orsaka celldöd i leverceller (Séide et al., 2015) samt vid yrkesrelaterad mänsklig exponering vid höga doser visats bidra till akuta och allvarliga lever-gallvägs-sjukdomar (Manivel et al., 1987; Roy et al., 1989; Mohi-ud-din & Lewis, 2004).

Tebukonazol används främst för bekämpning mot svampangrepp på vinodlingar i utlandet. Den är hormonstörande och misstänks ha reproduktionsstörande effekter, inklusive teratogena egenskaper också för människor (Zhou et al., 2016). Den tredje fungiciden pyrimetanil har visats ha antiandrogena effekter, vilket påvisats tydligare vid exponering i kombination med andra pesticider (Orton et al., 2011 & 2012).

Ovan nämnda fungicider är tillåtna i produktion inom EU, men endast pyrimetanil är tillåten för livsmedelsproduktion i Sverige. Pyrimetanil har i USA klassats som potentiellt cancerogen för människor (US EPA, 2015) men inte i EU. De skilda bedömningarna beror på olika tolkningar av resultat från djurstudier.

Mankozeb och propineb tillhör fungicidgruppen ditiokarbamater. Mankozeb är en av de fungicider som används i störst utsträckning globalt vid produktion av livsmedel, till exempel vid odling av bananer och vindruvor (Colosio et al., 2002; van Wendel de Joode et al., 2014). Exponeringsbiomarkören etyleniourea (ETU) bildas då flera etylenbisditiokarbamater (EBDCs) metaboliseras men är även en oönskad förorening i EBDCs formuleringar. ETU har påträffats i majoriteten av proverna i tidigare studier av exponering för bekämpningsmedel vid Arbets- och Miljömedicin (Littorin et al., 2009; Littorin et al., 2011). WHO har inte kunnat klassificera ETU som cancerogen för människor (IARC, 2001 & 2016). Dock har djurstudier påvisat mutagena, teratogena, carcinogena och hepatogena effekter samt även förändringar i sköldkörteln till följd av exponering för EBDCs (Chhabra et al., 1992; IARC, 2001; Belpoggi et al., 2002; Axelstad et al., 2011; van Wendel de Joode et al., 2014). Mankozeb är tillåtet i EU och i Sverige för potatis, kepalök och vitlök (Kemikalieinspektion, 2016). Propineb har visats potentiellt genotoxisk samt cytotoxisk i studier på möss (Rasgele, 2014) samt potentiellt genotoxisk och cytotoxisk i odlade lymfocyter från människor (Muranli et al., 2015). Substansen är klassificerad som hälsoskadlig och är inte längre tillåten för växtskydd i Sverige (Kemikalieinspektionen, 2016).

1.3.4 Tillväxtregulatorer

Klormekvat (CCC) och mepikvat (MQ) används framförallt för att reducera tillväxten av spannmål som vete och råg samt för att reglera mognad av frukt och grönsaker (Littorin et al., 2013). CCC används i Sverige även för detta ändamål på prydnadsväxter som exempelvis julstjärnor men även med syftet att förstärka blomningen. Båda är godkända för användning inom både Sverige och EU, dock är CCC endast godkänt för råg i Sverige (EU's pesticidatabas, 2016; Kemikalieinspektionen, 2016). Ämnena har detekterats i råg och vete samt i importerade päron, vindruvor och morötter (Wannberg et al., 2013; Jansson et al., 2015a).

Baserat på resthaltstudier i livsmedel bedömdes i England den aktuella exponeringen inte medföra någon hälsorisk enligt de gränsvärden som rådde då

(Reynolds et al., 2004). I en dansk studie gav klormekvat reproduktionsstörande effekter på däggdjur (grisar) som utfodrats med grödor som behandlats med klormekvat (Danielsen & Larsen, 1992; Sørensen & Danielsen, 2006). Även påverkan på möss utreddes vilket visade komplikationer främst hos hanar (Langhammer et al., 1999; Torner et al., 1999). I båda fallen var halterna lägre än uppsatta gränsvärden för dagligt intag.

Få studier av mepikvat och dess toxicitet finns tillgängliga, men ämnet anses generellt ha mycket låg hälsofarlig potential. Utredningar och uppskattning av yrkesrelaterad exponering har visat att halterna är långt under de gränsvärden som finns och därmed bedöms risken för påverkan på mänsklig hälsa som mycket låg (EFSA, 2008). På senare tid har observerats att mepikvat utöver användning som bekämpningsmedel även bildas som biprodukt i rostningsprocesser vid högre temperaturer i bland annat kaffe och korn (Wermann et al., 2014; Bessaire et al., 2016). Dock är konsumenternas exponering av mepikvat från denna process ett relativt litet tillskott i förhållande till halterna från annan exponering via livsmedel (Bessaire et al., 2016).

2 Metod

Provmaterialet har genomgått upparbetning, analys och validering beskriven i tidigare publicerade metoder som utvecklats eller förbättrats på Arbets- och miljömedicin i Lund. För exponeringsbiomarkörerna CCC och MQ har metoden i Lindh et al. (2011) tillämpats, för ETU och PTU har en modifierad form av metoden från Ekman et al. (2013) använts och för övriga exponeringsbiomarkörer en modifierad form av metoden hämtad från Ekman et al. (2014) och Faniband, M (manuskript) samt Fuistinoni et al. (2014). Samtliga laborativa moment utfördes av biomedicinska analytiker på Arbets- och Miljömedicin i Lund.

I denna studie görs även en grov uppskattning och beräkning för motsvarande dagligt intag av de exponeringsbiomarkörer som hittas i högst koncentrationer med syftet att jämföra detta intag med aktuella gränsvärden inom EU.

2.1 Material

Analysmaterial i studien är urinprov från en biobank insamlade under fyra olika år från unga män i Skåne. Urinproverna har i första hand tagits i samband med månstring för värnplikt då denna var obligatorisk (Tabell 2). Sista året kompletterades mätningarna med data från gymnasieelever i samma ålder. Proverna har sedan provtagningarna lagrats i frys i -20°C, men har under tiden även använts för analys av andra miljögifter (Jönsson et al., 2010; Jönsson et al., 2014).

Tabell 2. Provunderlag till studien.

Sammanställning av totalt antal urinprover i analysen samt insamlingsår.

År	Antal prov	Kommentar
2000	209*	Män, månstring i Skåne
2004	197*	Män, månstring i Skåne
2009	254	Män, månstring i Skåne
2013	204	Kvinnor och män, gymnasieelever

*Antal prov varierar för CCC och MQ år 2000 samt för ETU och PTU år 2000 och 2004 till följd av att mängden i vissa prov inte räckt till de senare analyserna. För exponeringsbiomarkörerna CCC och MQ är N=196 istället för 209. För ETU och PTU är N = 149 år 2000 samt N = 196 år 2004.

Varje prov har analyserats för 14 exponeringsbiomarkörer motsvarande ca 20 bekämpningsmedel (Tabell 3). Den uppmätta koncentrationen i urinproven motsvarar utsöndringen till urinen av ett ämne som tagits upp i kroppen via alla exponeringsvägar och därmed den totala exponeringen vid provtillfället.

Tabell 3. Bekämpningsmedel grupperade efter användning och motsvarande exponeringsbiomarkör i analysen.

Höger kolumn anger vilken typ av bekämpningsmedel och grupp ämnet tillhör och vad det används till. Observera att permethrin, cypermethrin och cyflutrin har två angivna exponeringsbiomarkörer.

Exponeringsbiomarkör	Bekämpningsmedel	Användning
OH-T (5-hydroxi-tiabendazol)	Tiabendazol	Fungicid
OH-P (3-hydroxi-pyrimetanil)	Pyrimetanil	
TEB-OH (hydroxi-tebukonazol)	Tebukonazol	
ETU (etylentiourea)	Mancozeb	
PTU (propylentiourea)	Propineb	
TCP (trikloropyridinol)	Klorpyrifos	Insekticid (Organofosfat)
3-PBA (3-fenoxibensylsyra)	Permethrin	Insekticid (Pyretroider)
	Cypermethrin	
	Deltamethrin	
	Resmethrin	
	Fenvalerat	
4F-3-PBA (4-fluoro-3-fenoxibensylsyra)	Fenitrothion	Insekticid (Pyretroider)
	Cyfenotrin	
	Cyflutrin	
DCCA (3-(2,2-diklorovinyl)-2,2-dimetylcyclopropankarboxylsyra)	Permethrin	Herbicid (Fenoxisyror)
CFCA (kloro-3,3,3-trifluoro-1-propen-1-yl-2,2-dimetylcyclopropankarboxylsyra)	Cypermethrin	
	Cyflutrin	
2,4-D (2,4-diklorfenoxiättiksyra)	Bifentrin	Tillväxtregulator
MCPA (4-klor-2-metylfenoxiättiksyra)	2,4-D	
CCC	MCPA	
MQ	Klormekvat	Tillväxtregulator
	Mepikvat	

2.2 Provupparbetning och analys

Samtliga steg i upparbetning, extraktion och analys har genomförts med provplattor i 96-hålsformat som utöver de urinprov som analyserats inkluderat en standardkurva med 7 prover och två kontroller med känd halt samt kemiska blankprov där MilliQ-vatten ersätter urin.

För exponeringsbiomarkörerna OH-T, OH-P, TEB-OH, TCP, 3-PBA, 4F-3-PBA, DCCA, CFCA, 2,4-D och MCPA har en modifierad form av metoden i Ekman et al. (2014) och Faniband, M (manuskript) samt Fuistinoni et al. (2014). tillämpats. I upparbetningen tillsattes β -glucuronidase/Arylsufatase, ammoniumacetat samt intern standardlösning. Proverna inkuberades i 37°C över natten. Därefter uppenades proverna genom fastfasextraktion. Analyterna eluerades därefter i två steg med acetonitril samt basisk acetonitril.

För exponeringsbiomarkörerna CCC och MQ tillämpades metoden från Lindh et al. (2011). I upparbetningen späds proven med ammoniumacetat med isotopmärkt intern standardlösning. Därefter uppenades proverna genom fastfasextraktion. Analyterna eluerades därefter med sur metanol.

Upparbetning av ETU och PTU utfördes enligt en modifierad form av metoden av Ekman et al. (2013). Proven hydrolyserades med NaOH i en värmeugn 100°C i 1h. Proven surgjordes innan analys med HCl.

Samtliga prover analyserades med vätskekromatografi-tandemmasspektrometri (LC-MS/MS) på ett QTRAP 5500-instrument (QTRAP 5500; AB Sciex, Foster City, CA, USA) kopplad till en vätskekromatograf (UFLCRX, Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) med två pumpar. All datainsamling och bearbetning genomfördes med hjälp av Analyst 1.6.2 samt Multiquant (Sciex). Koncentrationerna bestämdes utifrån kvoten i topp-arean i kromatogrammet mellan analyten och internstandard. Halten i kemblank-proven subtraheras från samtliga prover. Helt blanka urinprov går ej att erhålla, då en viss nivå av bekämpningsmedelsrester ofta förekommer. Standardkurvan korregerades med denna halt innan kvantifiering. Detektionsgränsen för analyterna uppskattas vara 0,1 ng/ml för samtliga exponeringsbiomarkörer. Analysen utfördes i randomiserad ordning med ca 20 prov från varje år i varje analys batch för att utesluta att skillnader mellan de olika åren beror på drifter i analysen. Samtliga prover har genomgått enkelanalys då det inte funnits tillräcklig mängd urinprov för dubbelanalys av varje prov.

2.3 Bearbetning av mätvärden

Den uppmätta koncentrationen i varje prov korrigerades i efterhand för densitet för att kompensera för variationen i utspädning. Densiteten för varje prov analyserades med en optisk refraktometer som mäter brytningsindex, och därmed densiteten, i urinproven. Beräkningen för densitetsjusterad koncentration, C_d , av prov med uppmätt koncentration $C_{observerad}$ visas i ekvation 1.

$$\frac{1.016 - 1}{\rho - 1} * C_{observerad} = C_d \text{ ng/ml} \quad (1)$$

I ekvation 1 användes 1,016 som standarddensitet för urin, $C_{observerad}$ är den uppmätta koncentrationen av analyten i ett prov, ρ är den specifika densiteten för provet och C_d är den densitetskorrigerade koncentrationen i provet.

Kreatininhalten i proverna har analyserats vid Laboratoriemedicin på SUS i Lund genom enzymatisk metod (Mazzachi et al., 2000). Justering för kreatinin har visats variera i större utsträckning mellan individer beroende på bland annat kön, vikt och kost (Suquzano et al., 2005) och användes därför inte i den statistiska analysen, endast för beräkning av dagligt intag (ADD) i avsnitt 2.6.

2.4 Beräkning av ADD

För att kunna relatera urinhalterna till motsvarande dagligt intag av bekämpningsmedelshalter i enheten $\mu\text{g/kg/dag}$ användes ekvation 2 nedan (van Wendel de Joode et al., 2012).

$$ADD = \frac{(C * R_{mw} * P_{cre} * CF)}{BW} * \ln\left(\frac{2}{t_{1/2}}\right) * t \quad (2)$$

I ekvationen ovan står ADD (*average daily dose*) för genomsnittlig daglig dos per kroppsvikt i enheten $\mu\text{g/kg/dygn}$, C är den kreatininjusterade koncentrationen i urinprov ($\mu\text{g/g}$ kreatinin), R_{mw} är en molar korrigeringsfaktor mellan bekämpningsmedlet och dess exponeringsbiomarkörer, P_{cre} är medelvärde för utsöndring av kreatinin per dygn, CF är korrelationsfaktorn för utsöndringen av exponeringsbiomarkören i urin efter oralt intag, BW är genomsnittlig kroppsvikt i kg, $t_{1/2}$ är halveringstid i kroppen och t det uppskattade tidsintervallet för exponering 24 h (1 dygn). Som kroppsvikt användes 73 kg baserat på

pliktverkets statistik och medelvärde för kroppsvikten hos mönstrande år 2000 (Pliktverket, 2015). För utsöndring av kreatinin (P_{cre}) användes 1,21 g/dag från van Wendel de Joode et al (2014).

2.5 Sammanställning och statistisk bearbetning

Samtliga provresultat sammanställdes i Microsoft Excel med uppmätta värden och densitetsjusterade värden utifrån beräkningarna i ekvation 1. I detta arbete användes de mätta värdena i den statistiska analysen, även om de var under LOD.

Negativa mätvärden har här ersatts med den lägsta positiva koncentrationen som mätts för ämnet inom samma provtagningsår dividerat med $\sqrt{2}$. All data bearbetades i statistikprogrammet R Studio och SPSS Statistics. Beskrivande statistik med medelvärde, median, standardavvikelse, min och max för varje ämne och varje år sammanställdes för icke-justerade och densitetsjusterade koncentrationer. Hur stor del av koncentrationerna som låg under detektionsgränsen beräknades procentuellt.

Trendtest utfördes med linjär regression för de densitetskorrigerade koncentrationerna för varje ämne som beroende variabel och tidpunkt som oberoende variabel. Regression gjordes för medelvärde, median, medelvärdet viktat efter standardavvikelsen ($1/\text{std}$) samt medelvärdet för logaritmerade koncentrationer. Median och viktat medelvärde testades för att undersöka materialet med avseende på tidstrend och minskat inflytande från extremvärden på max och min. Koncentrationerna logaritmerades även för att erhålla normalfördelad data och se om en linjär trend kunde ses i detta fall. **Signifikans definieras som $p \leq 0,05$.**

För de ämnen där både medelvärdet och medianen av de uppmätta koncentrationerna låg under detektionsgränsen ($\text{LOD} = 0,1 \text{ ng/ml}$) gjordes inga trendtester, då sådana tester skulle bli missvisande.

3 Resultat

3.1 Statistisk analys

För varje exponeringsbiomarkör och år redovisas medelvärde, standardavvikelse, median, minimum och maximum för uppmätta, icke-korrigerade koncentrationer i enheten ng/ml för samtliga urinprov (Tabell 4). Detektionsgränsen 0,1 ng/ml gäller för icke-justerade koncentrationer. Den procentuella andelen av värden över LOD redovisades för att se vilka ämnen som hade majoriteten av koncentrationer över detektionsgränsen. De ämnen där medel och median var över LOD kunde analyseras för tidstrender.

Tabell 4. Beskrivande statistik för koncentration i proverna från samtliga år.

Uppmätta koncentrationer anges i ng/ml för varje exponeringsbiomarkör uppdelat på provtagningsår. Standardavvikelsen (std) anges inom parentes vid medelvärdet. Andelen prov över ($\geq$) detektionsgränsen (LOD) anges i procent (%) i högra spalten. Koncentrationer under 0,1 ng/ml skrivs som < LOD. Samtliga värden anges med två värdesiffror. N år 2000 = 209, N år 2004 = 197, N år 2009 = 254, N år 2013 = 204. För CCC och MQ är N år 2000 = 196. För ETU och PTU är N år 2000 = 149.

Ämne	År	Medel (std)	Min	25-perc	Median	75-perc	95-perc	Max	% $\geq$ LOD
OH-T	2000	0,59 (2,4)	< LOD	< LOD	< LOD	0,19	3,4	25	34
	2004	0,89 (9,3)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1,1	130	21
	2009	0,34 (1,1)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	2,4	8,0	24
	2013	0,39 (1,8)	< LOD	< LOD	< LOD	0,12	2,1	23	27
OH-P	2000	0,23 (1,8)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,50	26	23
	2004	0,27 (1,4)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,88	19	23
	2009	0,53 (2,1)	< LOD	< LOD	< LOD	0,27	2,1	29	38
	2013	1,5 (15)	< LOD	< LOD	< LOD	0,17	2,0	209	37
TEB-OH	2000	< LOD (0,19)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,43	1,7	14
	2004	0,17 (0,49)	< LOD	< LOD	< LOD	0,11	0,93	4,9	25
	2009	0,34 (2,2)	< LOD	< LOD	0,11	0,22	0,59	34	53
	2013	0,32 (0,92)	< LOD	< LOD	0,12	0,23	1,0	9,5	48
ETU	2000	0,68 (1,0)	< LOD	0,17	0,35	0,82	1,9	6,9	85
	2004	0,80 (0,98)	< LOD	0,20	0,41	1,0	3,0	5,6	89
	2009	0,90 (1,8)	< LOD	0,24	0,49	0,98	3,0	24	88
	2013	0,63 (0,80)	< LOD	0,14	0,32	0,75	2,1	5,0	85
PTU	2000	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,85	3,0
	2004	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	4,6	4,0
	2009	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	1,72	2,0
	2013	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,72	1,0

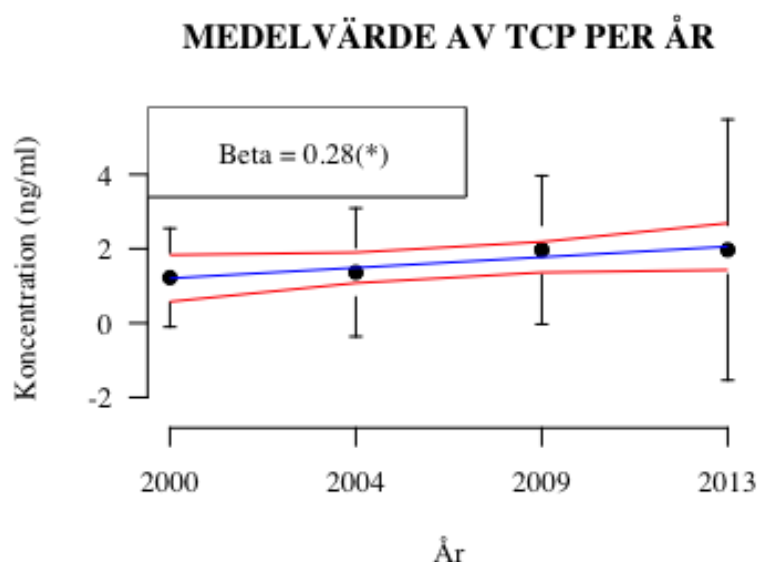
Ämne	År	Medel (std)	Min	25-perc	Median	75-perc	95-perc	Max	% ≥ LOD
TCP	2000	1,6 (2,1)	< LOD	0,53	1,0	1,8	5,1	22	98
	2004	1,7 (2,7)	< LOD	0,42	0,98	1,9	5,2	25	98
	2009	2,9 (3,4)	0,25	1,1	1,9	3,5	7,6	33	100
	2013	2,5 (3,9)	< LOD	0,82	1,4	2,6	8,1	43	99
CFCA	2000	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,62	3,0
	2004	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0
	2009	< LOD (0,21)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,15	3,1	7,0
	2013	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,14	0,60	6,0
3-PBA	2000	0,28 (0,76)	< LOD	< LOD	0,14	0,27	0,81	10	59
	2004	0,22 (0,40)	< LOD	< LOD	0,10	0,23	0,71	3,5	52
	2009	0,44 (0,72)	< LOD	0,12	0,23	0,46	1,7	5,2	80
	2013	0,40 (1,2)	< LOD	< LOD	0,19	0,34	1,0	12	72
2,4-D	2000	0,24 (0,36)	< LOD	< LOD	0,13	0,25	0,79	3,1	66
	2004	0,18 (0,19)	< LOD	< LOD	0,13	0,23	0,60	1,1	61
	2009	0,19 (0,30)	< LOD	< LOD	0,13	0,22	0,49	3,1	64
	2013	0,21 (0,21)	< LOD	< LOD	0,16	0,28	0,53	1,9	73
4F-3-PBA	2000	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,58	1,0
	2004	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,0
	2009	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,34	1,0
	2013	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,33	1,0
DCCA	2000	0,33 (0,32)	< LOD	0,12	0,23	0,42	0,99	1,9	78
	2004	0,39 (0,73)	< LOD	< LOD	0,21	0,39	1,0	7,6	75
	2009	0,45 (0,56)	< LOD	0,16	0,31	0,53	1,3	4,6	87
	2013	0,37 (0,52)	< LOD	0,15	0,27	0,43	0,91	6,2	84
MCPA	2000	< LOD (0,10)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,17	0,79	12
	2004	< LOD (0,11)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,19	1,1	11
	2009	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,24	0,72	12
	2013	< LOD (< LOD)	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,19	0,91	15
CCC	2000	16 (43)	< LOD	1,5	3,7	11	84	347	99
	2004	5,7 (7,2)	< LOD	0,92	2,4	8,3	23	37	99
	2009	16 (30)	< LOD	1,5	5,5	18	68	247	99
	2013	5,1 (7,7)	< LOD	0,7	1,8	5,4	23	51	97
MQ	2000	< LOD (1,8)	< LOD	< LOD	0,27	1,3	4,1	16	65
	2004	1,6 (2,2)	< LOD	0,14	0,73	2,0	5,6	13	81
	2009	2,3 (5,5)	< LOD	0,14	0,71	2,2	9,8	59	81
	2013	1,4 (5,8)	< LOD	< LOD	0,28	1,1	5,7	80	70

3.2 Analys för tidstrender

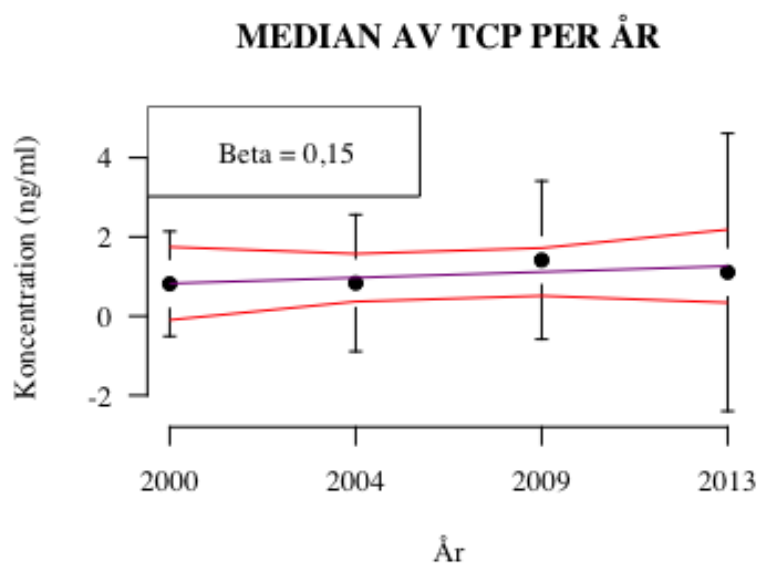
Nedan redovisas trendanalyser med linjär regression för de exponeringsbiomarkörer som hade minst hälften av värdena samt medel och median över detektionsgränsen för de icke-korrigerade koncentrationerna.

De ämnen som gick att analysera för trender var TCP, ETU, 3-PBA, 2,4-D, DCCA, CCC samt MQ. Endast TCP visade en trend för medelvärde med ett p-värde nära signifikans på ~0,07 och en lutning på 0,28 (ng/ml ökning i medelvärde mellan tidpunkterna), se figur 1.

I regressionsanalysen användes densitetsjusterade koncentrationer från samtliga prov. Denna gjordes för medelvärde, median, medelvärdet viktat för standardavvikelsen (1/std) samt medelvärdet för logaritmerade koncentrationer. Tidpunkt, i detta fall år 2000, 2004, 2009 och 2013, användes som oberoende variabel. Förändringen över tid visas grafiskt med en färgad linje där beta-värdet anger linjens lutning. Ett positivt beta-värde anger en ökande trend över tid, medan ett negativt värde anger en minskande trend. Trendens signifikans i form av p-värde anges endast när signifikans finns där * = $p < 0,05$ och ** = $p < 0,01$, eller nära signifikans; (*) = $p < 0,1$.



Figur 1. Linjär regression av halter av exponeringsbiomarkören TCP (klorpyrifos). Tidstrendanalys av densitetsjusterade halter av TCP över tid. Linjär regression visas för medelvärdet. Svarta staplar representerar en standardavvikelse. Färgad linje i mitten representerar lutningen för förändring över tid, Beta-värdet anger linjens lutning, röda linjer visar 95 % konfidensintervall för linjen. Eventuell signifikans anges vid beta som (*) = $p < 0,1$, * = $p < 0,05$ och ** = $p < 0,01$.



Figur 2. Linjär regression av halter av exponeringsbiomarkören TCP (klorpyrifos). Tidstrendanalys av densitetsjusterade halter av TCP över tid. Linjär regression visas för median. Svarta staplar representerar en standardavvikelse. Färgad linje i mitten representerar lutningen för förändring över tid, Beta-värdet anger linjens lutning, röda linjer visar 95 % konfidensintervall för linjen. Eventuell signifikans anges vid beta som (*) = $p < 0,1$, * = $p < 0,05$ och ** = $p < 0,01$.

3.3 Beräkning av uppskattat dagligt intag

För CCC och TCP gjordes en grov uppsättning av dagligt intag av ämnet utifrån den uppmätta halten i urinproven. Ekvation 2 användes för att uppskatta det dagliga intaget av klorpyrifos och klormekvat, då dessa ämnen återfanns i högst mätbara halter. I ekvationen användes kreatininjusterade koncentrationer för respektive exponeringsbiomarkör. I tabell 5 nedan visas vilka värden som använts för varje variabel för respektive bekämpningsmedel samt var dessa är hämtade. För klormekvat är halveringstiden ($t_{1/2}$) ett uppskattat snittvärde, eftersom halveringstiden förändras efter ca 13 h enligt Lindh et al (2011). Kreatininjusterade halter vid 70 och 95-percentilen för respektive ämne samtliga år presenteras. Resultaten av beräkningen för respektive percentil i tabell 5 från ekvation 2 redovisas i tabell 6.

Tabell 5. Variabler för beräkning av ADD.

Värden för variablerna i ekvation 2 specifika för klorpyrifos och klormekvat för beräkning av uppskattat dagligt intag av respektive ämne.

Variabel	Klorpyrifos (TCP)	Klormekvat (CCC)
C 70-percentil ($\mu\text{g/g}$ kreatinin)	1,28	5,28
R_{mw}	1,77 ^a	1 ^c
CF (%)	70 ^b	100 ^c
$t_{1/2}$ (dygn)	1,13 (27 h) ^b	0,208 (5 h) ^c

^avan Wendel de Joode et al., 2012

^bNolan et al., 1984

^cLindh et al., 2011

Tabell 6. Beräkning av ADD för TCP och CCC.

Beräknade värden av ADD för TCP och CCC vid olika percentiler av provens koncentrationer.

	Percentil	70	95
Klorpyrifos	C ($\mu\text{g/g}$ kreatinin)	1,3	3,7
	ADD ($\mu\text{g/kg/dag}$)	0,02	0,043
Klormekvat	C ($\mu\text{g/g}$ kreatinin)	5,3	23
	ADD ($\mu\text{g/kg/dag}$)	0,20	0,85

4 Diskussion

4.1 Kommentar till analysresultaten

De exponeringsbiomarkörer som förekom i högst mätbara halter över åren var TCP och CCC där majoriteten av koncentrationerna låg runt eller över 1 ng/ml (Tabell 4). Detta resultat stämmer överens med tidigare studier från Arbets- och miljömedicin där en utbredd exponering för TCP och CCC förekommit i andra grupper från allmänbefolkningen (Littorin et al., 2011; Littorin et al., 2013). Halterna i tidigare studierna var dock högre för samtliga ämnen utom CCC där både medel och median är ungefär densamma eller något högre i den nu aktuella urvalsgruppen (Littorin et al., 2009; Littorin et al., 2011; Littorin et al., 2013). En viss exponering för dessa ämnen har förekommit i denna urvalsgrupp under samtliga provtagningsår, trots att unga män genom sina matvanor är relativt lågexponerade för pesticider (Folkhälsoinstitutet, 2011; Folkhälsoinstitutet, 2012).

Förändringen över tid testades med linjär regression där det för TCP fanns en ökning över tid nära signifikans ($p = 0,07$) med en lutning (β) på 0,28 för medelvärden (Figur 1), dock ingen signifikant linjär förändring över tid för medianvärden (Figur 2). Den något ökande lutningen visar dock mycket liten förändring i exponeringen mellan åren på 0,28 ng/ml ökning i medelvärdet mellan tidpunkterna. Då denna trend inte kunde ses för medianvärden är detta troligtvis ingen generell ökning i urvalsgruppen och den spridda fördelningen av koncentrationerna gör att det inte går att dra några slutsatser om en ökande trend förekommer.

Hur låga och höga extremvärden varierar mellan åren kan utläsas i Tabell 4, även om medel och median inte förändras avsevärt. För TCP ser antal prover i de något högre koncentrationerna ut att ha ökat år 2009 och 2013 jämfört med de tidigare åren (Tabell 4 & Figur 1). Den ökande trenden för medelvärden av TCP kan därmed förklaras av ett fåtal prover med mycket höga värden, och inte en generell ökning hos hela urvalsgruppen. För CCC förekommer flest höga koncentrationer och högst extremvärden år 2000 och flest låga värden år 2004 och 2013 och exponeringen verkar därför minska över tid (Tabell 4).

Exponeringsbiomarkörerna 2,4-D, 3-PBA, DCCA, MQ och ETU kunde påvisas i majoriteten av proven men halterna var låga (0,1 – 1 ng/ml). Tidigare

studier från Arbets- och Miljömedicin där bland annat kvinnor, vegetarianer, boende på landsbygden och invandrare ingått, hade dessa högre detekterbara koncentrationer av samtliga biomarkörer; för jämförelse, se Bilaga 2 (Littorin et al., 2009; Littorin et al., 2011; Lindh et al., 2011; Littorin et al., 2013). Även jämfört med en studie från USA (NHANES, 2015) är denna population av unga män lågt exponerad för de flesta biomarkörer (Bilaga 2). Bland de unga männen förekom inga statistiskt signifikanta trender för dessa biomarkörer i den linjära trendanalysen.

Övriga exponeringsbiomarkörer OH-T, OH-P, TEB-OH, CFCA, 4F-3-PBA, MCPA och PTU förekom i koncentrationer under detektionsgränsen i majoriteten av proverna (Tabell 4) och trender gick därmed inte att utvärdera. Trots att inga trendtester kunde göras för dessa exponeringsbiomarkörer verkar halterna av TEB-OH och även OH-P ha ökat vid år 2009 och 2013 jämfört med tidigare år (Tabell 4). Både medel och median var under LOD för exponeringsbiomarkören TEB-OH de första åren, men är detekterbar vid senare tillfällen. För OH-P gäller detta främst för medelvärden. Dessa ämnen kan dock vara av intresse att fortsätta följa för att se om denna ökning fortsätter och om en mer utbredd exponering förekommer i olika befolkningsgrupper.

I trendanalysen anades en något ökande trend även för medelvärden av 3-PBA, DCCA och MQ i samtliga regressionsanalyser, dock inte statistiskt signifikant. För MQ visade linjär regression för medianen en något minskande trend mellan åren och tendensen syns även i Tabell 4 för de icke-justerade koncentrationerna. Vid trendanalys för medelvärden för 2,4-D och CCC såg halterna ut att minska över tid. För 2,4-D såg dock medianvärdet och andelen koncentrationer över detektionsgränsen ut att vara något högre år 2013. Detta skulle eventuellt kunna sammanhålla med att en variant av 2,4-D återinförts som godkänt växtskydd även inom svensk produktion år 2011 (Tabell 1 & Tabell 4).

4.2 Tolkning av resultaten

Anmärkningsvärt är att de exponeringsbiomarkörer som det förekommer högst koncentrationer av generellt i denna urvalsgrupp är CCC och TCP. Klorpyrifos är inte tillåtet i svensk produktion men verkar trots det vara ett av de ämnen som urvalsgruppen unga män är mest exponerad för, dock fortfarande relativt låga halter. Då hälsoproblem relaterade till organofosfater som klorpyrifos varit kända

längre och aktualiserats på senare år (Bouchard et al., 2000; Bouchard et al., 2011; Engel et al., 2011; Rauh et al., 2011), är det intressant att detta ämne ändå förekommer i högre mätbara halter än nästan samtliga andra exponeringsbiomarkörer som ingår i denna studie.

Den enda ökande tidstrenden nära signifikans var för halten av TCP. De livsmedel som konsumeras kan innehålla högre halter av klorpyrifos (Jansson et al., 2011; Björnsbacka, 2016; SCB, 2016). En annan möjlig förklaring är sammansättningen av urvalsgruppen. Om det mellan tidpunkterna tillkommit fler individer med invandrarbakgrund och annan matkultur med större andel importerade livsmedel kan de vara något mer exponerade för klorpyrifos, vilket påvisats i en annan studie som undersökt denna urvalsgrupp (Littorin et al., 2009). Urvalsgruppen från år 2013 i den aktuella undersökningen inkluderar även kvinnor (Tabell 2), vilka konsumerar vegetabilier och frukt i större utsträckning än män vilket rimligen påverkar resultaten från analysen (Statens folkhälsoinstitut, 2011; Statens folkhälsoinstitut, 2012; Livsmedelsverket, 2012). Vidare äter vi allt oftare på restaurang, inte minst unga människor, vilket kan innebära förändringar i våra livsmedelsval och därmed potentiell exponering.

Det har beskrivits att exponering för TCP kan förekomma i redan nedbruten form i bland annat mat (Morgan et al., 2011). Det innebär att halten av TCP kan överskatta exponeringen för klorpyrifos.

Högst halter förekommer för tillväxtregulatorn CCC som i Sverige främst används vid odling av spannmål. Spannmålsprodukter är förmodligen något som svensk befolkningen överlag är mer exponerade för via sin kost genom bland annat bröd, pasta och liknande produkter jämfört med grönsaker och frukt. Troligen härrör urinhaltarna av CCC till stor del från importerade produkter då det inte har någon utbredd användning i svenskodlade produkter bortsett från råg. Då män generellt har ett större intag av bröd, pasta och matgryn skulle spannmålsprodukter kunna vara orsaken till en stor del av exponeringen för CCC (Livsmedelsverket, 2012). Och de unga männen i denna studie har väldigt låga halter av sådana bekämpningsmedelsrester som främst finns i frukt och grönt som denna grupp konsumerar sparsamt.

Uppskattningen av genomsnittligt dagligt intag för klorpyrifos låg under EU's gränsvärden för acceptabelt dagligt intag som är 1 µg/kg/dygn och den akuta referensdosen på 5 µg/kg/dygn. Beräknat ADD för 95-percentilen var 0,04 µg/kg/dygn (Tabell 6). I USA finns även ett gränsvärde för kronisk exponering, en referensdos för långtidsexponering för klorpyrifos (US EPA,

2016) på 0,3 µg/kg/dygn. Gruppen i denna studie ligger långt under de olika fastställda gränsvärdena.

Beräknat ADD vid 95-percentilen för CCC i denna studie är 0,85 µg/kg/dygn. Ingen kronisk referensdos finns för klormekvat enligt US EPA. Gränsvärden för klormekvat är ADI på 40 µg/kg/dygn och ARfD på 90 µg/kg/dygn. Beräknat ADD vid 95-percentilen för klormekvat är 0,85 µg/kg/dygn.

Varken Klorpyrifos eller CCC bedömes alltså uppnå hälsoskadliga nivåer, dock ligger klorpyrifos närmare dessa gränsvärdena än vad halterna av klormekvat gör. Dessa uppskattningar bör dock beaktas med försiktighet då beräkningen ger en väldigt grov uppskattning av det dagliga intaget och inte heller tar hänsyn till samtidig annan exponering. Det bör även uppmärksammas att denna urvalsgrupp inte är representativ för hela befolkningen då endast unga män och ett fåtal unga kvinnor ingår i studien.

Koncentrationerna av bekämpningsmedelsrester i denna studie ligger långt under gränsvärden för både akut exponering och livslångt dagligt intag. Dessa gränsvärden bör dock inte betraktas som en garanterad gräns för vad som kan vara skadligt eller ej, då de flesta standardmetoder för utvärdering av toxicitet i dagsläget främst baseras på akut toxicitet av ett ämne i taget och inte på långsiktig exponering för låga halter av ett ämne i taget (Das et al., 2008). Flera av dessa ämnen befaras vara hormon- och reproduktionsstörande. Det kan därmed inte uteslutas att även en låggradig exponering kan ge en fysiologisk påverkan då de dessutom förekommer i komplexa blandningar med effekter på samma målorgan (Bergman et al., 2012).

4.3 Metod och provunderlag

De analysmetoder som använts i denna studie är väl validerade. Avdelningen för Arbets- och miljömedicin i Lund är dessutom med i ett interlaboratorie-kvalitetskontrollprogram mellan olika analyslaboratorier, som samordnas av University of Erlangen-Nuremberg där 3-PBA samt TCP ingår med utmärkta resultat.

Proverna som använts i denna studie har förvarats i en biobank vid -20°C sedan insamling. Dock går det inte att utesluta att den långa förvaringen kan ha påverkat provernas sammansättning och kvalitet. Även om proverna analyserats

samtidigt år 2016 har de varit frysta under olika långa perioder vilket kan ha haft en inverkan på resultaten, framför allt vad gäller densiteten då största risken med längre förvaring är dunstning av proverna. Detta verkar dock mindre troligt, då jämförelse av medelvärden och median av provernas densitet mellan de olika åren inte förändras i större utsträckning utan ligger i samma storleksordning (Bilaga 1). Även om proverna tagits fram vid enstaka tillfällen och tinats i samband med andra mätningar, så verkar densiteten alltså inte nämnvärt ha påverkats. Tidigare studier har undersökt stabiliteten hos exponeringsbiomarkörer i urinprov som förvarats ca 5-7 månader, och efter den tidsperioden sågs ingen skillnad i koncentration (Lindh et al., 2011; Ekman et al., 2014). Dock går det inte att helt utesluta att stabiliteten hos exponeringsbiomarkörer kan ha påverkats, då vissa prover lagrats i frys upp till 16 år.

5 Slutsatser

- Exponeringen för bekämpningsmedel i urvalsgruppen unga män mellan år 2000 och 2013 var högst för exponeringsbiomarkören TCP från klorpyrifos och CCC från klormekvat.
- Resultat från tidigare studier vid Arbets- och miljömedicin från andra urvalsgrupper har även detekterat TCP och CCC i majoriteten av proverna. För urvalsgruppen unga män i denna studie var halterna lägre för TCP men för CCC var halterna liknande de nivåer som fanns i andra grupper.
- En svagt signifikant ökande linjär trend ($p < 0,07$) fanns för TCP mellan tidpunkterna för medelvärdet, dock inte för median. Den linjära ökningen för medelvärdet var ett β -värde på 0,28 ng/ml mellan tidpunkterna.
- Det är anmärkningsvärt att klorpyrifos (TCP) var ett av två ämnen som förekom i högst halter i urvalsgruppen, samt att en ökande trend fanns för exponeringen. Ämnet har sedan länge fasats ut nationellt men används fortfarande både inom EU och övriga länder.
- Detekterbara men låga halter förekom för samtliga exponeringsbiomarkörer. Endast exponeringsbiomarkörerna 2,4-D, MCPA, DCCA och MQ kunde detekteras i majoriteten av proverna, dock låga halter precis ovanför detektionsgränsen. I tidigare studier för andra urvalsgrupper med kvinnor, vegetarianer, boende på landsbygden och invandrare har dessa ämnen förekommit i högre halter än i denna grupp.

6 Tack

Tack till samtliga som deltagit och ställt upp med att lämna prover, samt de som samlat proverna som ligger till grund för denna studie. Tack till Silvia Fuistinoni som bidragit med standardlösning för OH-T (tebukonazol). Hélèn Thell, Ulla Andersson, Else Åkerberg Krook som hjälpt till med rekrytering och provtagning Arbets- och Miljömedicin Lunds Universitetssjukhus.

7 Referenser

Agribusiness Intelligence. 1996. Publicerad 1996-03-01. [<https://www.agra-net.com/agra/agrow/correction---bifenthrin-not-banned-in-sweden-51989.htm>] Hämtad online 2016-05-12.

Axelsson, O., Sundell, L. 1974. Herbicide exposure, mortality and tumor incidence. An epidemiologic investigation on Swedish railroad workers. *Work, Environment and Health*. 11. 21-28 pp.

Axelsson, O., Sundell, L., Andersson, K., Edling, C., Hogstedt, C., Kling, H. 1980. Herbicide exposure and tumor mortality. An updated epidemiologic investigation on Swedish railroad workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. 6:1. 73-79 pp.

Axelstad, M., Boberg, J., Nellemann, C., Kiersgaard, M., Jacobsen, P.R., Christiansen, S., Hougaard, K.S., Hass, U. 2011 Exposure to the widely used fungicide mancozeb causes thyroid hormone disruption in rat dams but no behavioral effects in the offspring. *Toxicological Sciences*. 120:2. 439 – 446 pp.

Aylward, L.L. & Hays, S.M. 2015. Interpreting biomonitoring data for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid: Update to Biomonitoring Equivalents and population biomonitoring data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 73:3. 765-769 pp.

Belpoggi, F., Soffritti, M., Guarino, M., Lambertini, L. Cevolani, D., Maltoni, C. 2002. Results of long-term experimental studies on the carcinogenicity of ethylene-bis-dithiocarbamate (Mancozeb) in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 982. 123 - 136 pp.

Bergman, Å., Heindel, J., Jobling, S., Kidd, K. and Zoeller, R.T., 2012. State-of-the-science of endocrine disrupting chemicals, 2012. *Toxicology Letters*, 211, p. S3.

Bessaire, T., Tarres, A., Stadler, R.H., Wermann, S., Hofmann, J., Theurillat, V., Combremont, R., Delatour, T. 2016. Mepiquat: A process-induced byproduct in roasted cereal-based foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64:5. 1185-1190 pp.

Formatted: Swedish (Sweden)

Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., Greenamyre, T.J. 2000. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease. *Nature Neuroscience*. 3:12. 1301-1306 pp.

Björnsbacka, S. 2016. Statistiska Centralbyrån – Svenskarna äter ute mer. Publicerad 2016-04-19 [<http://www.scb.se/sv/Hitta-statistik/Artiklar/Svenskarna-ater-ute-mer/>] Hämtad 2016-05-05.

Bouchard, M.F., Bellinger, D.C., Wright, R.O., Weisskopf, M.G. 2010. Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder and Urinary Metabolites of Organophosphate Pesticides. *Pediatrics*. 125. 1270-1277 pp.

Bouchard, M.F., Chevrier, J., Harley, K.G., Kogut, K., Vedar, M., Calderon, N., Trujillo, C., Johnson, C., Bradman, A., Barr, D.B., Eskenazi, B. 2011. Prenatal exposure to organophosphate pesticides in IQ in 7-year-old children. *Environmental Health Perspective*. 119:8. 1189 – 1195 pp.

Chen, H., Xiao, J., Hu, G., Zhou, J., Xiao, H., Wang, X. 2002. Estrogenicity of organophosphorus and pyrethroid pesticides. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 65:19. 1419-1435 pp.

Chhabra, R.S., Eustis, S., Haseman, J.K., Kurtz, P.J., Carlton, B.D. 1992. Comparative carcinogenicity of ethylene thiourea with or without perinatal exposure in rats and mice. *Fundamental and Applied Toxicology*. 18:3. 405 - 417 pp.

Colosio, C., Fustinoni, S., Birindelli, S., Bonomi, I., De Paschale, G., Mammone, T., Tiramani, M., Vercelli, F., Visentin, S., Maroni, M. 2002. Ethylenethiourea in urine as an indicator of exposure to mancozeb in vineyard workers. *Toxicology Letters*. 134:1-3. 133 – 140 pp.

Danielsen, V. and Larsen, A.E. 1992. The Influence of Cereals Treated with CCC, Cerone or Roundup on Reproduction in Pigs. 43rd Annual Meeting of the EAAP, Abstracts Volume 2, p. 498.

Das, R., Steege, A., Baron, S., Beckman, J., Harrison, R. 2001. Pesticide-related illness among migrant farm workers in the United States. *International Journal of Occupational Environmental Health*. 7:4. 303 – 312 pp.

EFSA, European Food Safety Authority. 2008. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the substance mepiquat. Rapport 146. 73 p.

EFSA, European Food Safety Authority. 2011. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance bifenthrin. EFSA Journal 2011. 9:5. 101 p.

Egeghy, P.P. Cohen Hubal, E.A., Tulse, N.S., Melnyk, L.J., Morgan, M.K., Fortmann, R.C., Sheldon, L.S. 2011. Review of pesticide urinary biomarker measurements from selected US EPA children's observational exposure studies. International Journal of Environmental Research and Public Health. 8:5. 1727 – 1754 pp.

Ekman, E., Maxe, M., Littorin, M., Jönsson, B., Lindh, C. 2013. High-throughput method for the analysis of ethylenethiourea with direct injection of hydrolysed urine using online on-column extraction liquid chromatography and triple quadrupole mass spectrometry. Journal of Chromatography B. 934. 53-59 pp.

Ekman, E., Faniband, M.H., Littorin, M., Maxe, M., Jönsson, B., Lindh, C. 2014. Determination of 5-hydroxythiabendazole in human urine as a biomarker of exposure to thiabendazole using LC/MS/MS. Journal of Chromatography B. 973. 61-67 pp.

Engel, S.M., Wetmur, J., Chen, J., Zhu, C., Barr, D.B., Canfield, R.L., Wolff, M.S. 2011. Prenatal exposure to Organophosphates, Paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. Environmental Health Perspective. 119:8. 1182 – 1188 pp.

Eriksson, M., Hardell, L., Carlberg, M., Akerman, M. 2008. Pesticide exposure as risk factor for non-Hodgkin lymphoma including histopathological subgroup analysis. International Journal of Cancer. 123. 1657 – 1663 pp.

European Union. 2016. Pesticide database. [<http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN>]

Faniband, M.H., Littorin, M., Ekman, E., Jönsson, B.A., Lindh, C.H. 2015. LC-MS-MS Analysis of Urinary Biomarkers of Imazalil Following Experimental Exposures. Journal of Analytical Toxicology. 39:9. 691 – 697 pp.

Faniband, M.H., Ekman, E., Littorin, M., Maxe, M., Jönsson, B.A.G., Lindh, C.H. Determination of hydroxypyrimethanil in urine, using LC/MS/MS, after oral and dermal exposure to pyrimethanil. Manuscript 2016.

Faustini, A., Settini, L., Pacifici, R., Fano, V., Zuccaro, P., Forastiere, F. 1996. Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: preliminary observations. *Occupational & Environmental Medicine*. 53. 583-585 pp.

Fustinoni S, Mercadante R, Polledri E, Rubino FM, Mandic-Rajcevic S, Vianello G, Colosio C, Moretto A. 2014. Biological monitoring of exposure to tebuconazole in winegrowers. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 24. 643-9 pp.

Gunnarsson, L-G. & Bodin, L. 2014. Systematiska kunskapsöversikter; 6. Epidemiologiskt påvisade samband mellan Parkinsons sjukdom och faktorer i arbetsmiljön. Göteborg: Arbets- och miljömedicin, Göteborgs Universitet.

Han, Y., Xia, Y., Han, J., Zhou, J., Wang, S., Zhu, P., Zhao, R., Jin, N., Song, L., Wang, X. 2008. The relationship of 3-PBA pyrethroids metabolite and male reproductive hormones among non-occupational exposure males. *Chemosphere*: 62. 785–790 pp.

IARC. 1991. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 53. 45 – 92 pp.

IARC. 2001. Some Thyrotropic Agents. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 79. 659 – 701 pp.

IARC. 2016. Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1 – 116. [<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>]

Jakubowski, M & Trzcinka-Ochocka, M. 2005. Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *Journal of Occupational Health*. 47:1. 22 – 48 pp.

Jamal, G.A. 1997. Neurological syndromes of organophosphorus compounds. *Adverse Drug Reactions and Toxicological Reviews*. 16:3. 133-170 pp.

Jansson, A., Holmbäck, X., Wannberg, A. 2011. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2009. Livsmedelsverket Rapport 17 2011.

Jansson, A., Fohgelberg, P. & Widenfalk, A. 2015a. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2013. Livsmedelsverket Rapport 4 2015.

Jansson, A., Fohgelberg, P., Widenfalk, A. 2015b. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2014. Livsmedelsverket Rapport 19 år 2015.

Ji, GX., Xia, YK., Gu, AH., Shi, XG., Long, Y., Song, L., Wang, SL., Wang, XR. 2011. Effects of non-occupational environmental exposure to pyrethroids on semen quality and sperm DNA integrity in Chinese men. Reproductive Toxicology. 31:2. 171-176 pp.

Formatted: English (U.S.)

Jonsson, M, Fohgelberg, P., Wallin, S., Jansson, A. 2007. Tidstrend och förändringar av bekämpningsmedelsrester i livsmedel mellan åren 1990 och 2005. Livsmedelsverket resultatrapport 2007.

Jönsson, B.A.G., Axmon, A., Lindh, C., Hydbom, A.R., Axelsson, J., Giwercman, A., Bergman, Å. 2010. Tidstrender för och halter av persistenta fluorerade, klorerade och bromerade organiska miljögifter i serum samt ftalater i urin hos unga svenska män – Resultat från den tredje uppföljningsundersökningen år 2009-2010. Rapport till Naturvårdsverket. Avdelningen för Arbets- och miljömedicin, Lunds Universitet, Lund. 37 s.

Jönsson, B.A.G., Axmon, A, Lindh, C.H. 2014. Tidstrender för och halter av perfluorerade alkylsyror (PFAAs) i serum samt ftalatmetaboliter och alkylfenoler i urin hos unga svenska män och kvinnor – Resultat från den fjärde uppföljningsundersökningen år 2013. Rapport till Naturvårdsverket. Avdelningen för Arbets- och miljömedicin, Lunds Universitet, Lund. 33 s.

Kemikalieinspektionen. 2016. Bekämpningsmedelsregistret. [<http://webapps.kemi.se/BkmRegistret/Kemi.Spider.Web.External/>]

Ki, Y.W., Park, J.H., Lee, J.E., Shin, I.C., Koh, H.C. 2013. JNK and p38 MAPK regulate oxidative stress and the inflammatory response in chlorpyrifos-induced apoptosis. Toxicology Letters. 218. 235-245 pp.

Formatted: Swedish (Sweden)

Langhammer, M., Kuhla, S., Schneider, F., Renne, U., Spitschak, M., Hagemeister, H. 1999. Effects of chlorocholine chloride-treated wheat on special fertility traits in laboratory mice. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 81:4-5. 190 – 202 pp.

Lindh, C.H., Littorin, M., Johannesson, G., Jönsson, B. 2011. Analysis of chlormequat in human urine as a biomarker of exposure using liquid chromatography triple quadrupole mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 879. 1551-1556 pp.

Littorin, M., Lindh, C., Amilon, Å., Johannesson, G., Assarsson, E., Jönsson, B.A.G. 2009. Uppskattning av befolkningens exponering för kemiska bekämpningsmedel 2004-2008. Rapport till Naturvårdsverket 2009.

Littorin, M., Amilon, Å., Maxe, M., Axmon, A., Jönsson, B.A.G., Lindh, C. 2011. Exponering för kemiska bekämpningsmedel hos landsbygdsbefolkning i Skåne 2010-11. Rapport till Naturvårdsverket 2011. Rapport 40 från Arbets- och miljömedicin Lund 2011.

Littorin, M., Maxe, M., Amilon, Å., Jönsson, B., Lindh, C.H. 2013. Analyser av pesticider i urin hos skånska kvinnor 2010. Rapport 23/2013 till Naturvårdsverket. Arbets- och miljömedicin, Labmedicin Skåne, Lund & Avd för Arbets- och Miljömedicin, Inst för Laboratoriemedicin, Lunds Universitet, Lund. 27s.

Livsmedelsverket. 2012. Livsmedels- och näringsintag bland vuxna i Sverige. Riksmaten - vuxna 2010-11. Livsmedelsverket Uppsala, 2012.

Lu, C., Knutson, D.E., Fisker-Andersen, J., Fenske, R.A. 2001. Biological monitoring survey of organophosphorus pesticide exposure among pre-school children in the Seattle metropolitan area. *Environmental Health Perspective*: 109. 299-303 pp.

Manivel, J.C., Bloomer, J.R., Snover, D.C. 1987. Progressive bile duct injury after thiabendazole administration. *Gastroenterology*, 93. 245–249 pp.

Maroni, M. & Fait, A. 1993. Health effects in man from long-term exposure to pesticides. A review of the 1975-1991 literature. *Toxicology*. 78:1-3. 1-5 pp.

- Mazzachi, B.C., Peake, M.J., Ehrhardt, V. 2000. Reference range and method comparison studies for enzymatic and Jaffé creatinine assays in plasma and serum and early morning urine. *Clinical Laboratory* 42:1. 53-55 pp.
- Meeker, J.D., Barr, D.B., Hauser, R. 2009. Pyrethroid insecticide metabolites are associated with serum hormone levels in adult men. *Reproductive Toxicology* 27:2. 155-160 pp.
- Mohi-ud-din, R, Lewis, J.H. 2004. Drug- and chemical-induced cholestasis. *Clin. Liver Dis.*, 8, 95–132 pp.
- Morgan, M.K., Sheldon, L.S., Jones, P.A., Croghan, C.W., Chuang, J.C., Wilson, N.K. 2011. The reliability of using urinary biomarkers to estimate children's exposures to chlorpyrifos and diazinon. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*. 21. 280 – 290 pp.
- Munro, I.C., Carloi, G.L., Orr, J.C., Sund, K.G., Wilson, R.M., Kennepohl, E., Lynch, B.S., Jablinske, M, & Lee, N.L. 1992. A Comprehensive, Integrated Review and Evaluation of the Scientific Evidence Relating to the Safety of the Herbicide 2,4-D. *International Journal of Toxicology*. 11:5. 559-664 pp.
- Muranli, F.D.G., Rasgele, P.G., Kekecoglu, M., Kanev, M., Ozdemir, K. 2015. Potential Genotoxicity of acetamiprid and propineb singly or in combination in cultured human peripheral blood lymphocytes by using MN assay. *Fresenius Environmental Bulletin*. 24:11B. 3947 – 3955 pp.
- NHANES. 2015. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. February 2015. 1075 pp.
- NHANES. 2016. National Health and Nutrition Examination Survey - Centers for Disease Control and Prevention. USA. [<http://www.cdc.gov/nchs/nhanes/>] Hämtad 2016-05-18.
- Nolan, R.J., Rick, D.L., Frehsour, N.L., Saunders, J.H. 1984. Chlorpyrifos: pharmacokinetics in human volunteers. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 73:1. 8-15 pp.
- Ntzani, E.E., Chondrogiorgi, M., Ntritsos, G., Evangelou, E., Tzoulaki, I. 2013. Literature review on epidemiological studies linking exposure to pesticides and health effects. EFSA supporting publication 2013:EN-497. 159 p.

Orton, F., Lutz, I., Klaos, W., Routledge, E.J. 2009. Endocrine Disrupting Effects of Herbicides and Pentachlorophenol: In Vitro and in Vivo Evidence. *Environmental Science & Technology*. 43. 2144-2150 pp.

Orton, F., Rosivatz, E., Scholze, M., Kortenkamp, A. 2011. Widely used pesticides with previously unknown endocrine activity revealed as in vitro antiandrogens. *Environmental Health Perspective*. 119:6. 794 – 800 pp.

Formatted: Swedish (Sweden)

Orton, F., Rosivatz, E., Scholze, M., Kortenkamp, A. 2012. Competitive Androgen Receptor Antagonism as a Factor Determining the Predictability of Cumulative Antiandrogenic Effects of Widely Used Pesticides. *Environmental Health Perspective*, 120:11. 1578-1584 pp.

del Pino, J., Moyano, P., Anadon, M.J., García, J.M., Díaz, M.J., García, J., Frejo, M.T. 2015. Acute and long-term exposure to chlorpyrifos induces cell death of basal forebrain cholinergic neurons through AChE variants alteration. *Toxicology*. 336. 1-9 pp.

Field Code Changed

Pliktverket. 2015. Statistik från 2000. [<http://www.rekryteringsmyndigheten.se/contentassets/50cec14487104438ad9c297d084587fd/statistik2000.pdf>] Hämtad 2016-05-09.

Rasgele, P.G., Muranli, F.D., Kekeçoğlu M. 2014. Assessment of the genotoxicity of propineb in mice bone marrow cells using micronucleus assay. *Tsitol Genet*. 48:4. 39 – 43 pp.

Rauh, V., Arunajadai, S., Horton, M., Perera, F., Hoepner, L., Barr, D.B., Whyatt, R. 2011. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environmental Health Perspective*. 119:8. 1196 – 1201 pp.

Reynolds, S.L., Hill, A.R., Thomas, M.R., Hamey, P.Y. 2004. Occurrence and risks associated with chlormequat residues in a range of foodstuffs in the UK. *Food Additives & Contaminants*. 21:5. 457 – 471 pp.

Richardson, J.R. & Chambers, J.E. 2005. Effects of repeated oral postnatal exposure to chlorpyrifos on cholinergic neurochemistry in developing rats. *Toxicological Sciences*. 84. 352–359 pp.

Roy, M.A., Nugent, F.W., Aretz, H.T. 1989. Micronodular cirrhosis after thiabendazole. *Dig Dis Sci* 34:6. 938-941 pp.

Saillenfait, A-M., Ndiaye, D., Sabaté, J-P. 2015. Pyrethroids: Exposure and health effects – An update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 218:3. 281-292 pp.

Séide, M., Marion, M., Mateescu, M.A., Averill-Bates, D.A. 2015. The fungicide thiabendazole causes apoptosis in rat hepatocytes. *Toxicology In Vitro* 32. 232-239 pp.

Sobus, J.R., DeWoskin, R.S., Tan, Y.M., Pleil, J.D., Phillips, M.B., George, B.J., Christensen, K., Schreinmachers, D.M., Williams, M.A., Hubal, E.A., Edwards, S.W. 2015. Uses of NHANES Biomarker Data for Chemical Risk Assessment: Trends, Challenges and Opportunities. *Environmental Health Perspective*. 123:10. 919 – 927 pp.

Statens folkhälsoinstitut. 2011. Matvanor och Livsmedel. Kunskapsunderlag för Folkhälsopolitisk rapport 2010. 84 s.

Statens folkhälsoinstitut. 2012. Frukt- och grönsakskonsumtion i Sverige 2008 – 2011. 38 s.

Sørensen, M.T & Danielsen, V. 2006. Effects of the plant growth regulator, chlormequat, on mammalian fertility. *International Journal of Andrology*. 29:1. 129-133 pp.

Torner, H., Blottner, S., Kuhla, S., Langhammer, M., Alm, H., Tuchscherer, A. 1999. Influence of chlorocholinechloride-treated wheat on selected in vitro fertility parameters in mice. *Reproductive Toxicology*. 13:5. 399 – 404 pp.

US EPA. 2015. Chemicals Evaluated for Carcinogenic Potential Office of Pesticide Programs. U.S. Environmental Protection Agency Annual Cancer Report 2015. 31 p.

US EPA, 2016. Integrated Risk Information System. [<https://www.epa.gov/iris>]

Walker, C.H. 2009. Organic Pollutants - An Ecotoxicological Perspective. 2 ed. CRC Press, Boca Raton. 414 s.

Walker, C.H., Sibly, R.M., Hopkin, S.P., Peakall, D.B. 2012. Principles of Ecotoxicology. 4e uppl. Taylor and Francis Group: Boca Raton

Wallström, P., Wirfält, E., Janzon, L., Mattisson, I., Elmståhl, S., Johansson, U., Berglund, G. 2000. Fruit and Vegetable Consumption in Relation to Risk Factors for Cancer: A Report from the Malmö Diet and Cancer Study. Public Health Nutrition. 3:3. 263-271 pp.

Formatted: Swedish (Sweden)

Wang, X., Martinez, M-A., Dai, M., Chen, D., Ares, I., Romero, A., Castellano, V., Martínez, M., Rodríguez, J.L., Martínez-Larrañaga, M-R., Anadón, A., Yuan, Z. 2016. Permethrin-induced oxidative stress and toxicity and metabolism. A review. Environmental Research. 149. 86 – 104 pp.

Wannberg, A., Jansson, A., Ericsson, B-G. 2013. Kontroll av bekämpningsmedelsrester i livsmedel 2010. Rapport 4 2013. Livsmedelsverket, Uppsala.

van Wendel de Joode, B., Barraza, D., Ruepert, C., Mora, A.M., Córdoba, L., Öberg, M., Wesseling, C., Mergler, D., Lindh, C.H. 2012. Indigenous children living nearby plantations with chlorpyrifos-treated bags have elevated 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy) urinary concentrations. Environmental Research. 117. 17-26 pp.

van Wendel de Joode, B., Mora, A.M., Córdoba, L., Cano, J.C., Quesada, R., Faniband, M., Wesseling, C., Ruepert, C., Öberg, M., Eskenazi, B., Mergler, D., Lindh, C.H. 2014. Aerial Application of Mancozeb and Urinary Ethylene Thiourea (ETU) Concentrations among Pregnant Women in Costa Rica: The Infants' Environmental Health Study (ISA). Environmental Health Perspectives. 22:12. 1321 – 1328 pp.

Wermann, S., Theurillat, V., Verze gnassi, L., Hofmann, J., Kuchenbecker, R., Constable, A., Delatour, T., Stadler, R.H. 2014. N, N-dimethylpiperidinium (mepiquat) Part 2. Formation in roasted coffee and barley during thermal processing. Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk assessment. 31:2. 234-241 pp.

WHO. 1992. Pesticide Residues in Food - 1992: Toxicological Evaluations; International Programme on Chemical Safety, World Health Organization: Rome, 1992. 79-101 pp.

Widenfalk, A & Fohgelberg, P. 2012. Resthalter av bekämpningsmedel (OP) som indikator i livsmedel samt uppskattat intag och risk bland svenska konsumenter (inklusive barn). Rapport till Naturvårdsverket oktober 2012.

Wolansky, M.J. & Harrill J.A. 2008. Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: a critical review. *Neurotoxicology and Teratology*. 30:2. 55 – 78 pp.

Yoshinaga, J., Imai, K., Shiraishi, H., Nozawa, S., Yoshiike, M., Mieno, M.N., Andersson, A.M., Iwamoto, T. 2014. Pyrethroid insecticide exposure and reproductive hormone levels in healthy Japanese male subjects. *Andrology*, 2. 416–420 pp.

Yusa, V., Millet, M., Coscolla, C., Roca, M. 2015. Analytical methods for human biomonitoring of pesticides. A review. *Analytica Chimica Acta*: 891. 15-31 pp.

Zhang, J., Hisada, A., Yoshinaga, J., Shiraishi, H., Shimodaira, K., Okai, T., Noda, Y., Shirakawa, M., Kato, N. 2013. Exposure to pyrethroids insecticides and serum levels of thyroid-related measures in pregnant women. *Environmental Research*, 127. 16–21 pp.

Zhou, J., Zhang, J., Li, F., Liu, J. 2016. Triazole fungicide tebuconazole disrupts human placental trophoblast cell functions. *Journal of Hazardous Material*, 308. 294-302 pp.

BILAGA 1

Tabell A. Jämförelse av densitet i de olika proven mellan åren.

År	Medel	Median	N	Std	Min	Max
2000	1,019	1,021	209	,00663	1,002	1,034
2004	1,018	1,019	197	,00755	1,002	1,035
2009	1,023	1,024	254	,00629	1,004	1,037
2013	1,021	1,022	204	,00626	1,002	1,034
Total	1,022	1,022	864	,0347	1,002	1,037

BILAGA 2

Tabell B. Jämförelse av uppmätta koncentrationer i olika studier.

Medianvärde för kreatininjusterade koncentrationer av flera biomarkörer från denna studie, en sammanslagning av studier på flera olika populationer i tidigare studier på AMM samt en större studie från USA.

Biomarkör	Median, kreatininjusterade koncentrationer (µg/g)		
	Denna studie	Tidigare studier AMM ¹	NHANES, USA ²
CCC	1,99	2,19	-
TCP	0,82	1,45	0,979
2,4-D	< LOD	0,12	0,301
DCCA	0,15	0,22	< LOD
ETU	0,26	0,63	< LOD
4F-3-PBA	< LOD	< LOD	< LOD
MCPA	< LOD	< LOD	-
MQ	0,27	1,86	-
OH-T	< LOD	-	-
3-PBA	0,1	0,21	0,384

¹ Sammanslagen data från rapport a, b och c i Tabell C.

² Data från NHANES, 2015

Tabell C. Jämförelse av medianvärden av koncentrationer i olika populationer i Sverige.

Sammanställning av medianvärden för flera biomarkörer i uppmätta koncentrationer från denna studie samt andra populationer i Sverige.

Biomarkör	Median densitetsjusterad konc (ng/ml) i olika populationer						
	Unga män&kvinnor 2000-13	Allmänbefolkning 2004-05 ^a	Allmänbefolkning 2005-07 ^a	Vegetarianer 2005-06 ^a	Invandrare 2006-09 ^a	Boende landsbygd 2010 ^b	Medelålders kvinnor 2010 ^c
CCC	2,5	-	-	-	-	2,2	1,9
TCP	1,05	-	-	-	1,9	1,8	3,1
2,4-D	0,11	0,15	0,05	0,2	0,09	0,14	0,11
DCCA	0,2	-	-	-	-	-	0,31
ETU	0,33	0,76	0,51	0,45	0,48	0,42	0,56
4F-3-PBA	< LOD	-	-	-	-	-	< LOD
MCPA	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,52	< LOD
MQ	0,4	-	-	-	-	2,2	1,5
OH-T	< LOD	-	-	-	-	-	< LOD
3-PBA	0,13	< LOD	< LOD	< LOD	0,39	0,3	0,27
Antal	n = 803-864	n = 100	n = 116	n = 60	n = 50	n = 79	n = 128

^a Data hämtad från Littorin et al., 2009

^b Data hämtad från Littorin et al., 2011

^c Data hämtad från Littorin et al., 2013