

Provinsamling i anslutning till Riksmaten pilot 2008 – slutrapport

Heléne Enghardt Barbieri, Cecilia Nälsén, Salomon Sand, Livsmedelsverket
Marika Berglund, Institutet för miljömedicin, Karolinska Institutet
Margareta Littorin, Institutionen för laboratoriemedicin, Sektionen för yrkes- och miljömedicin, Lunds universitet

Avtalsnr:	215 0830
Utförare:	Livsmedelsverket
Programområde:	Hälsorelaterad miljöövervakning
Undersökningar/uppdrag:	Pilotstudie provinsamling i anslutning till matvaneundersökning

Naturvårdsverket gav 2008, Livsmedelsverket i uppdrag att utreda möjligheten att samla in prover på ett delurval av individer, i anslutning till Livsmedelsverkets nationella matvaneundersökning av vuxna. Detta genomfördes i en pilotstudie Riksmaten pilot 2008.

Syftet med pilotstudien för Miljöövervakningens del var att testa att insamling, provtagning och lagring av blod- och urinprover, gick att genomföra. Tanken var även att analysera halten metaller (tungmetaller m.m.) och bekämpningsmedel i de insamlade proverna.

Material och metoder

Datainsamlingen genomfördes under perioden 25 augusti till 5 oktober 2008 från ett urval av 300 personer i åldern mellan 18 och 80 år, bosatta i Sverige. 120 personer av dessa tillfrågades om att lämna blod- och urinprov (tabell 1). Urval och rekrytering genomfördes av Statistiska Centralbyrån, Örebro.

Tabell 1. Fördelning av uttagna till blod- och urinprovtagning på strata

Stratum	Total
Man, 18-34 år	20
Man, 35-64 år	20
Man, 65-80 år	20
Kvinna, 18-34 år	20
Kvinna, 35-64 år	20
Kvinna, 65-80 år	20
Total	120

Registrering

Deltagarna registrerade allt de åt och drack under fyra dagar i ett av Livsmedelsverket utvecklat webbverktyg. De som inte hade tillgång till en dator med internet hade möjlighet att rapportera sitt kostintag via telefon. Portioner skattades med hjälp av styck, hushållsmått eller portionsbild. Registreringen påbörjades en tisdag, onsdag eller lördag för att få en jämn fördelning av vardagar och helgdagar.

Enkät

Deltagarna fick besvara en enkät med 60 frågor, antingen via webben eller på papper (se bilaga 1), om bakgrund, arbete, fritid och matvanor. Enkäten innehöll frågor om sådana livsmedel som man inte äter så ofta eller som är av särskilt intresse.

Provinsamling

Ett urval av deltagarna tillfrågades om de ville lämna blod- och urinprover för analys av bekämpningsmedel i urin och spårämnen i blod. Deltagare från hela Sverige ingick och ombads att vända sig till sin vårdcentral inom en tvåveckorsperiod (räknat från andra samtalet med intervjuaren från SCB). Tillsammans med övrigt material om undersökningen fick deltagaren också en instruktion (fungerade som en remiss) om provtagningen där all information om rörtyper, provhantering och adresser dit proverna skulle skickas fanns, som deltagaren tog med sig till vårdcentralen (se bilaga 2). Blodproverna togs venöst och ingen av analyserna krävde att deltagaren var fastande. Urininsamlingen innebar att deltagaren lämnade urinprov när han eller hon väl var på vårdcentralen. Deltagaren fick information om provtagningen både skriftligt och muntligt av intervjuare från SCB. Proverna frystes in i -20°C inom fem timmar och transporterades frysta till Akademiska sjukhuset i Uppsala, där de sedan transporterades vidare till respektive laboratorium för analys. Om inte deltagaren lämnat blod- och urinprover (två veckor efter första kostregistreringsdag), ringde en intervjuare från SCB upp deltagaren igen för att påminna om provtagningen.

Analys av spårämnen och bekämpningsmedel

Spårämnesanalyser i blod och mätningar av bekämpningsmedel i urin utfördes på 22 individer; för en individ utfördes endast analysen av spårämnen, och för en annan individ utfördes endast analysen av bekämpningsmedel. Information om vikt och rökning (tabell 4) fanns tillgänglig på 20 av de 22 individerna.

Analysmetoder

Spårämnesanalyser i blod (bly, kadmium, kvicksilver, selen, zink, och kalcium) har med stöd av Naturvårdsverket genomförts vid Institutet för Miljömedicin, Karolinska Institutet. De analysmetoder som användes finns redovisade i Kippler et al (2009). Blodproverna uppslötts med Milestone ultraCLAVE II mikrovågsugn (EMLS, Leutkirch, Germany) tills kolfria lösningar erhöles. Mikrovågsgugnen jobbar vid högt tryck (40 bar) och hög temperatur (250°C i 30 minuter). Kalcium mättes vid m/z 43, zink vid m/z 66, selen vid m/z 78, kadmium vid m/z 111, kvicksilver vid m/z 201 och bly vid m/z 208 med ICPMS (inductively coupled plasma mass spectrometry; Agilent 7500ce, Agilent technologies, Waldbronn, Tyskland) med kollision/reaktioncell-system, autosampler (Cetac ASX-510), och Agilent Micro Flow nebulizer, 100 μ l/min. Alla blodproverna hade metallkoncentrationer över detektionsgränserna (3SD av medelvärdet för kemikalieblankarna). Analyskvaliteten utvärderades med hjälp av referensprover. Referensproverna hanterades och analyserades på samma sätt som blodproverna. Analyskvaliteten var tillfredsställande.

Flera projekt (dnr 721-1556-04Mm, 721-1395-05Mm, 721-1521-07Mm och 235-3413-08Mm) för pesticidövervakning i svensk befolkning har med stöd av Naturvårdsverket genomförts vid Arbets- och miljömedicin i Lund (AMM) 2004-2008/2009. Projekten omfattar urinanalyser av bekämpningsmedel samt kringdata från enkäter i en skånsk befolkning. En mindre del av detta material (N = 21 individer) ingår i Riksmaten pilot 2008 och avrapporteras här. Vätskekromatografi-tandem masspektrometri (LC/MS/MS)-metoder med isotopmärkta interna standarder har utvecklats och validerats vid AMM för 2,4-D, MCPA, HMCPA, 2,4,5-T, 3,4- och 3,5-DKA, ETU och 3-PBA. De finns publicerade i Lindh et al. (2007) och (2008a och b), Elfman et al. (2009). Metoden i Lindh et al. (2008a) har efter modifiering använts också för 2,4,6-T och TCP. De analyserade bekämpningsmedlen redovisas i mer detalj nedan:

MCPA	(4-klor-2-metylfenoxiättiksyra)
HMCPA	(hydroxi-MCPA; metabolit till MCPA)
2,4-D	(2,4-diklorfenoxiättiksyra)
2,4,5-T	(2,4,5-triklorfenoxiättiksyra)
2,4,6-T	(2,4,6-triklorfenoxiättiksyra; metabolit till prokloraz)
3,4-DKA	(3,4-dikloranilin; metabolit till anilider)
3,5-DKA	(3,5-dikloranilin; metabolit till dikarboximider som vinklozolin, iprodion och procymidon)
3-PBA	(3-fenoxibensylsyra, metabolit till pyretroider)
TCP	(O,O dietyl-O-(3,5,6-triklor-2-pyridyl)thiofosfat = triklorpyridinol; metabolit till klorpyrifos)

ETU (etylthiourea; metabolit till etylenbisdithio-karbamater som mankozeb)

Resultat och diskussion

Av de 120 tillfrågade, kom blod- och urinprover in från 22 personer, vilket motsvarar en deltagarfrekvens på 18 %. Från början var det 37 personer av de 120 tillfrågade (31 %) som sa att de skulle lämna blod- och urinprov. 15 föll bort. Av dessa fullföljer 9 både kostregistreringen och enkäten medan 2 personer bara fullföljer kostregistreringen. 5 anger att de ändrat sig och inte längre vill lämna prov.

En person av de som lämnat blodprov gav INTE samtycke till biobank. En person som lämnat prov har varken svarat på enkät eller kostregistrering och en har bara genomfört kostregistreringen. Fyra av de 22 valde att delta via pappersenkät och telefonrapportering.

Medelålder på dem som deltog i någon del var 46,5 år, medan medelålder på dem som lämnade blod- och urinprov var 53,4 år.

Tabell 2. Antal personer som har deltagit i de olika delarna av undersökningen

	Totalt			Utvalda för prov			Ej utvalda för prov		
	Kvinna	Man	Totalt	Kvinna	Man	Totalt	Kvinna	Man	Totalt
Kostregistrering (K)	55	43	98	21	14	35	34	29	63
Enkät (E)	54	42	96	21	12	33	33	30	63
K+E	50	38	88	20	12	32	30	26	56
Prov finns (P)	12	10	22	12	10	22	-	-	-
K+E+P	12	8	20	12	8	20	-	-	-
K+P	12	9	21	12	9	21	-	-	-
E+P	12	8	20	12	8	20	-	-	-

Tabell 3. Registerdata för personer som lämnat blod- och urinprov.

	Kvinna	Man	Totalt
Totalt	12	10	22
Åldersgrupp			
18-34	4	2	6
35-64	4	1	5
65-80	4	7	11
Region			
Götaland	6	5	11
Norrland	2	0	2
Svealand	4	5	9

Högsta utbildning			
Forskarutbildning	0	0	0
Eftergymnasial utbildning ≥ 3	4	0	4
Eftergymnasial utbildning < 3 år	6	2	8
Gymnasial utbildning 3 år	1	4	5
Gymnasial utbildning högst 2-årig	0	2	2
Förgymnasial utbildning 9 år	0	1	1
Förgymnasial utbildning kortare än 9 år	0	0	0
Uppgift saknas (även >74 år)	1	1	2
Födelseland			
Europa	0	0	0
Norden	1	0	1
Sverige	11	10	21

I tabell 4 presenteras svar på några av frågorna från enkäten. Tre män hade diabetes, men ingen hade något annat av de hälsoproblem som vi frågade efter. En man var lakto-vegetarian, och en kvinna följde en speciell diet, viktväktardiet. En kvinna svarade att hon har vistats utomlands, i Nordamerika, under ett år. Ingen av kvinnorna som deltog i provtagningen var gravid eller ammade.

Tabell 4. Svar på ett urval av frågor i enkäten. Antal personer

	Kvinna	Man	Totalt
N	12	8	20
Medelvikt, kg (intervall)	68 (52-87)	87 (65-110)	76 (52-110)
Hälsoproblem			
Diabetes	0	3	3
Njursjukdom	0	0	0
Laktosintolerans	0	0	0
Glutenintolerans (celiaki)	0	0	0
Annat hälsoproblem	0	0	0
Rökning			
Dagligen	1	1	2
Vid enstaka tillfällen	1	1	2
Har slutat	3	0	3
Har aldrig rökt	7	6	13
Kranvatten			
Kommunalt vatten	7	6	13
Borrad brunn	3	1	4
Grävd brunn	1	1	2
Vet ej	1	0	1
Vistats utomlands			
Europa	1	0	1

Tabell 5. Antal personer och hur ofta de äter grönsaker och frukt, även ekologiska, samt medelkonsumtionen.

	Grönsaker	Ekologiska grönsaker	Frukt o bär	Ekologisk frukt o bär
Aldrig		3		4
<1 gång/mån		6		4
1 gång/mån		2		2
2 gånger/mån		2		1
3 gånger/mån				4
1 gång/vecka		1		1
2 gånger/vecka	1	2	1	1
3 gånger/vecka	1	2	3	1
4 gånger/vecka	3	1	2	
5 gånger/vecka	3		1	1
6 gånger/vecka	2			
1 gång/dag	2		5	1
2 gånger/dag	6		5	
3 gånger/dag	3		3	
> 3 gånger/dag	0			
Medel	1,4 ggr/dag	0,2 ggr/dag	1,4 ggr/dag	0,2 ggr/dag

Resultat från mätningar av spårämnen och bekämpningsmedel hos de 21 individerna finns redovisade i Tabell 6 och 7. För spårämnesanalyserna i blod erhöles halter i ug/L på 7.3-43 för bly, 0.10-0.95 för kadmium, 0.32-7.0 för kvicksilver, 67-174 för selen, 4753-8571 för zink, och 53721-71276 för kalcium. Uppmätta halter av Pb, Cd och Hg är i nivå med det som tidigare har observerats i den svenska vuxna befolkningen. Halter av Ca, Zn och Se är också inom ramen för vad som kan anses vara normalt. För många av de undersökta bekämpningsmedlen låg nivåer hos flertalet av de 21 individerna under detektionsgränsen; detta var fallet för MCPA, HMCPA, 2,4,5-T, 2,4,6-T, 3,4 DKA, 3-PBA. Den enda individen med påvisbar halt av För 2,4,5-T skiljer sig från övriga i att den har en laktovegetarisk diet; denna individ har även påvisbara halter av övriga parametrar för vilka flertal låg under detektionsgränsen. Påvisade urinhalter i ng/ml (densitetsjusterade värden) av de bekämpningsmedel där flertalet hade påvisbara nivåer var även relativt låga; <0.05-2.2 för 2,4-D, <0.1-7.2 för 3,5-DKA, <1-7.1 för TCP, och 0.08-2.0 för ETU.

Tabell 6. Spårämnesanalys i blod.

PersonID	Bly		Kadmium		Kvicksilver		Selen		Zink		Kalcium	
	ug/L	RSD ^a	ug/L	RSD	ug/L	RSD	ug/L	RSD	ug/L	RSD	ug/L	RSD
20194908	12,84	3,6	0,107	19,5	0,3284	10,0	118,2	6,6	7108	3,7	65964	4,5
20194999	12,79	4,1	0,226	14,1	0,9459	2,8	147,3	0,4	7385	0,9	61232	4,7
20195442	30,63	1,8	0,432	6,6	2,7082	7,6	112,3	0,8	5825	1,3	71276	3,1
20195889	29,87	5,3	0,498	9,7	2,3516	5,7	163,7	1,5	8442	1,8	53721	4,7
20195939	18,84	5,7	0,371	7,4	3,1286	5,1	135,6	0,9	8571	2,1	56828	4,9
20195947	19,92	1,9	0,152	17,6	1,3894	3,3	137,4	0,7	8063	1,8	62087	3,7
20195962	20,62	6,7	0,161	16,2	5,7387	5,1	139,8	1,2	6805	2,3	57714	4,8
20195970	9,37	3,8	0,310	17,3	3,7125	3,0	124,2	1,3	6893	3,6	66022	6,5
20196044	18,67	4,7	0,570	9,1	1,2702	7,6	145,7	1,8	7602	2,6	57698	6,2
20196358	17,39	4,0	0,333	8,8	0,9479	5,4	126,1	0,9	6754	1,9	66792	4,4
20196457	7,31	4,2	0,360	9,1	3,7242	3,6	127,8	1,8	6122	1,9	66602	3,1
20196531	11,27	2,7	0,452	9,3	1,9222	2,3	128,3	1,1	6212	2,1	67066	6,6
20196556	11,83	2,3	0,206	13,8	0,7218	6,6	118,5	0,8	6427	1,8	67056	4,0
20196879	14,25	3,6	0,104	13,4	1,5804	6,1	135,9	0,6	4753	1,4	62372	6,3
20196945	19,38	3,9	0,326	9,8	3,7896	2,8	140,5	1,1	6237	2,3	61929	5,9
20197042	32,24	2,3	0,950	7,2	1,8568	1,4	133,6	1,9	7105	0,8	67921	5,0
20197067	14,28	2,2	0,382	9,2	2,4191	0,9	140,4	0,8	5736	3,3	69714	4,1
20197372	12,15	1,9	0,179	17,8	2,7694	3,8	170,9	0,7	5911	1,6	65821	4,6
20197380	43,15	4,1	0,310	15,2	7,0063	3,6	173,9	1,6	6715	1,7	64028	5,9
20197422	8,07	5,2	0,203	15,9	0,3160	13,9	66,6	1,8	5702	2,7	60979	5,5
20197547	13,23	4,8	0,241	8,8	1,6120	2,3	128,7	1,3	5202	1,9	68048	2,1
Medelvärde	18,00		0,33		2,39		134,06		6646,30		63850,86	
SD^b	9,11		0,19		1,71		22,41		1005,23		4610,77	

^a RSD; relativ standaravvikelse.

^b SD; standardavvikelse.

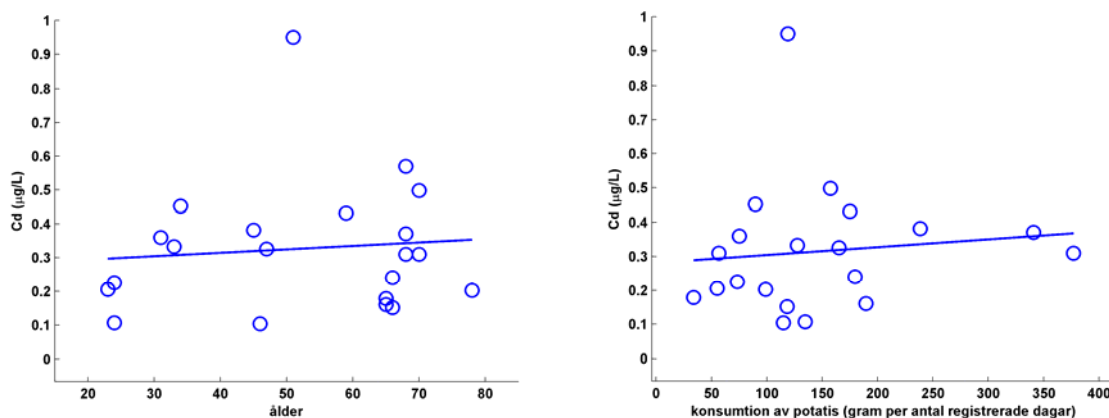
Tabell 7. Pesticidanalys i urin.

PersonID	MCPA	HMCPA	2.4-D	2.4.5-T	2.4.6-T	3.4 DKA	3.5 DKA	3-PBA	TCP	ETU
	ng/ml^a	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml	ng/ml
20194908	<0.1 ^b	<0.4	0,21	<0.1	<0.1	0,13	0,32	0,31	1,09	0,92
20195442	<0.1	<0.4	0,23	<0.1	<0.1	<0.1	0,24	<0.3	2,01	0,26
20195889	0,16	<0.4	2,19	<0.1	<0.1	<0.1	0,67	<0.3	<1	0,41
20195939	<0.1	<0.4	<0.05	<0.1	<0.1	<0.1	1,54	<0.3	1,14	0,12
20195947	<0.1	<0.4	0,12	<0.1	<0.1	1,26	1,80	<0.3	3,43	0,91
20195962	<0.1	<0.4	<0.05	<0.1	<0.1	0,11	1,16	<0.3	<1	0,71
20195970	<0.1	0,91	0,16	<0.1	<0.1	<0.1	0,14	<0.3	<1	0,11
20196036	0,24	<0.4	0,16	0,23	0,87	<0.1	7,19	1,81	2,70	0,66
20196044	<0.1	<0.4	0,23	<0.1	<0.1	<0.1	1,92	<0.3	2,00	0,21
20196358	<0.1	<0.4	<0.05	<0.1	<0.1	0,59	0,29	<0.3	<1	0,58
20196457	<0.1	<0.4	0,30	<0.1	<0.1	<0.1	0,27	<0.3	<1	0,19
20196531	<0.1	<0.4	0,17	<0.1	<0.1	<0.1	0,35	<0.3	3,64	0,29
20196556	<0.1	<0.4	0,06	<0.1	<0.1	<0.1	0,31	<0.3	<1	0,33
20196879	<0.1	<0.4	0,05	<0.1	<0.1	0,16	0,58	<0.3	1,93	2,02
20196945	<0.1	<0.4	<0.05	<0.1	0,25	<0.1	1,89	<0.3	<1	1,34
20197042	0,63	0,83	0,12	<0.1	<0.1	<0.1	1,31	<0.3	<1	0,19
20197067	<0.1	<0.4	0,25	<0.1	<0.1	<0.1	1,17	6,17	7,14	0,21
20197372	<0.1	<0.4	0,19	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.3	<1	0,23
20197380	<0.1	<0.4	0,39	<0.1	<0.1	<0.1	6,45	<0.3	5,32	0,90
20197422	<0.1	<0.4	<0.05	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.3	<1	0,08
20197547	<0.1	<0.4	0,22	<0.1	<0.1	<0.1	0,16	<0.3	<1	0,41

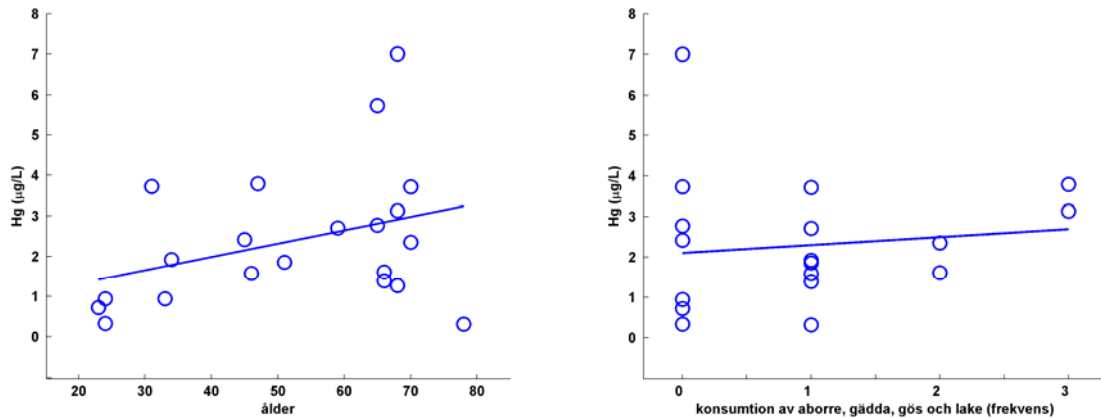
^a Halter är korrigerade för densitet.

^b Under detektionsgräns.

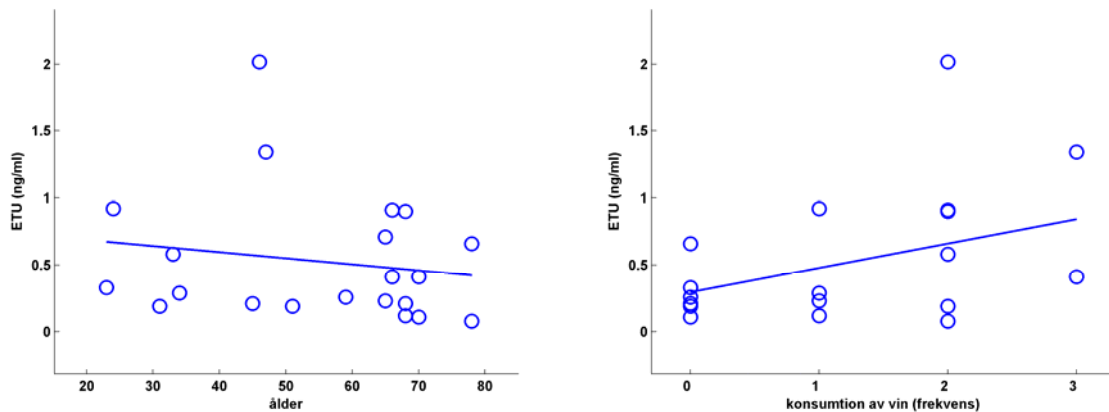
I Figur 1 och 2 redovisas några exempel på korrelationer mellan uppmätt halter av tungmetaller och individernas ålder samt rapporterad konsumtion med avseende på valda livsmedel/livsmedelgrupper. Detta redovisas på liknande sätt för bekämpningsmedelsmetaboliten ETU i Figur 3. Dessa illustrationer är tänkta som exempel på vad som kan vara av intresse att studera mer ingående givet ett mer omfattat dataunderlag. Potatis är en viktig livsmedelsprodukt med avseende på intaget av kadmium (Figur 1). Fisk som abborre, gädda, gös och lake är av betydelse för intaget av kvicksilver (Figur 2). För bekämpningsmedel illustreras samband med vinkonsumtion (Figur 3) vilket har diskuterat på senare i tid; frukter och grönsaker utgör mer generellt sett viktiga källor för födointaget av bekämpningsmedel. För det aktuella dataunderlaget sågs dock inga signifikanta samband (Figur 1 - 3). Det skall poängteras att potentiellt samvarierande (confounding) faktorer inte har beaktats i Figur 1 - 3; illustrationerna är endast tänkta som exempel som visar hur denna typ av data principiellt skulle kunna kopplas till information från matvaneundersökningar.



Figur 1. Samband mellan kadmiumhalt i blod och ålder, respektive konsumtion av potatis. Inga signifikanta samband observerades enligt likelihood-ratio tests; lutningen på linjen ej signifikant skiljd från 0.



Figur 2. Samband mellan kvicksilverhalt i blod och ålder, respektive frekvenskonsumtion av abborre, gädda, gös, och lake; 0 = aldrig; 1 = 1-3 ggr per år; 2 = 4-8 ggr/år; 3 = 9-11 ggr/år. Inga signifikanta samband observerades enligt likelihood-ratio tests; lutningen på linjen ej signifikant skiljd från 0.



Figur 3. Samband mellan ETU-halt i urin (densitetsjusterade värden) och ålder, respektive konsumtion av vin (frekvens); 0 = < 1 ggr/vecka; 1 = 1 ggr/vecka, 2 = 2-3 ggr/vecka; 3 = 4-6 ggr/vecka. Inga signifikanta samband observerades enligt likelihood-ratio tests; lutningen på linjen ej signifikant skiljd från 0 (dock på gränsen till signifikans för vin, $p = 0.066$).

Slutsats

Det var ett stort problem att få deltagare att ställa upp i undersökningen. Vissa deltagare som sagt att de skulle lämna blod- och urinprov fick inte göra det på sin vårdcentral, pga bland annat fryssvårigheter. Detta gjorde att Livsmedelsverket beslutade att göra förändringar i urvalsförfarande och metod, och testa dessa i en ny pilot 2009.

Referenser

Elfman L, Hogstedt C, Engvall K, Lampa E, Lindh CH. (2009). Acute Health Effects on Planters of Conifer Seedlings Treated with Insecticides. *Ann Occup Hyg* **53**, 383-90.

Kippler M, Lönnerdal B, Goessler W, Ekström EC, Arifeen SE, and Vahter M. (2009). Cadmium interacts with the transport of essential micronutrients in the mammary gland-A study in rural Bangladeshi women. *Toxicology* **257**, 64-69.

Lindh CH, Littorin M, Amilon A, Jönsson BA. (2007). Analysis of 3,5-dichloroaniline as a biomarker of vinclozolin and iprodione in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* **21**, 536-42.

Lindh CH, Littorin M, Amilon A, Jönsson BA. (2008a). Analysis of phenoxyacetic acid herbicides as biomarkers in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* **22**, 143-50.

Lindh CH, Littorin M, Johannesson G, Jönsson BA. (2008b). Analysis of ethylenethiourea as a biomarker in human urine using liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* **22**, 2573-9.