

## **Biologisk monitorering av ovnstappere eksponert for mangan i manganlegeringsindustrien**

Forfattere:

Dag G. Ellingsen, Balazs Berlinger, Kari Dahl og Yngvar Thomassen

Prosjektleder: Dag G. Ellingsen

## SAMMENDRAG

Statens arbeidsmiljøinstitutt har i samarbeid med ERAMET (Norge) undersøkt om bestemmelse av konsentrasjonen av mangan (Mn) i urinen (U-Mn) kan brukes til biologisk overvåkning av ansatte som eksponeres for Mn i sitt arbeid.

Norge er en stor produsent av Mn-legeringer. Det finnes fire smelteverk for slik produksjon i Norge. Legeringene brukes i hovedsak i produksjonen av stål. I tillegg til ansatte i manganlegeringsverk er sveisere den gruppen arbeidstakere hvor det finnes flest eksponerte. Denne undersøkelsen ble gjennomført ved tre norske manganlegeringsverk.

I alt 40 ovnstappere ble undersøkt og sammenliknet med 20 kontroller fra de samme geografiske lokalisasjoner. Ovnstapperne avga urinprøver på to påfølgende dager med formiddagsskift; første morgenurin (før jobb), direkte etter skift (mellom klokken 14 og 15) samt siste kveldsurin. I tillegg ble en urinprøve avgitt morgenen etter samt en kveldsurinprøve kvelden før skiftperioden.

Ovnstapperne hadde høyere konsentrasjoner av U-Mn ved alle tidspunktene for prøvetaking.

Forskjellen mellom de eksponerte og kontrollene var spesielt stor for urinprøver avlagt direkte etter skift. Dette tyder på et raskt opptak fra lungene og påfølgende rask utskilling av Mn fra blodbanen og blant annet over i urinen ved eksponering. Konsentrasjonen av Mn i urinen reduseres raskt. Dette tyder på at halveringstiden av U-Mn er kort. Studien viser også en forholdsvis stor intra-individuell variasjon av U-Mn konsentrasjonene hos kontrollene. Dette gjør det vanskelig å skille sikkert en eksponert fra en ikke eksponert person, noe som er helt sentralt å kunne gjøre ved biologisk overvåkning.

Resultatene viser et klart opptak av Mn hos de eksponerte. Siden opptak og utskilling tilsynelatende foregår svært raskt er det vanskelig på individnivå å vite hva den målte konsentrasjonen av U-Mn reflekterer og om urinprøven reflekterer hele eksponeringen gjennom skiftet. En urinprøve avlagt etter skift vil derfor eventuelt kun i begrenset grad reflektere den reelle eksponeringen i skiftet. Det er derimot mulig å overvåke gruppen eksponerte fordi usikkerheter relatert til sammenhengen mellom konsentrasjonen av Mn i urin og luft vil utjevnes når en måler på en større gruppe. En kan da eksempelvis undersøke eksponering over tid, og sannsynligvis undersøke forskjeller i eksponering mellom grupper. Effektiviteten av bruk åndedrettsvern på gruppebasis kan også sannsynligvis vurderes ved biologisk overvåkning av U-Mn.

---

**Stikkord: Mangan, urinprøver, biologisk monitorering**    **Key words: Manganese, urine samples, biological monitoring**

## **INNHOLDSFORTEGNELSE**

<b>FORORD</b>	<b>4</b>
<b>INNLEDNING</b>	<b>5</b>
<b>MÅLSETNINGER</b>	<b>6</b>
<b>MANGAN</b>	<b>6</b>
Gastrointestinalt opptak	6
Lungeopptak	6
Distribusjon	7
Biologiske konsentrasjoner	8
Partikler i luften	8
<b>METODER</b>	<b>9</b>
Design og deltakere	9
Prøvetaking og bestemmelse av Mn i luften	10
Innsamling og analyse av blodprøver	10
Innsamling og analyse av urinprøver	10
Statistikk	11
<b>RESULTATER</b>	<b>11</b>
<b>OPPSUMMERING</b>	<b>15</b>
<b>LITTERATURHENVISNINGER</b>	<b>17</b>

## FORORD

Mangan (Mn) er et essensielt sporgrunnstoff for mennesker. Mangan fremstilles også industrielt og brukes hovedsakelig i produksjon av stål. Norge er blant verdens ledende produsenter og det finnes fire manganlegeringsverk. Det er vel kjent at Mn kan ha nevrotoksiske egenskaper ved yrkesmessig eksponering, og høy langvarig eksponering kan føre til en sykdom i hjernens basalganglier (manganisme).

Det er derfor viktig å overvåke eksponering for Mn i arbeid. Mer effektive verktøy enn måling av Mn i arbeidsluften for å kunne overvåke arbeidstakere med henblikk på å forebygge uheldig påvirkning fra eksponeringen har derfor vært ønsket. En mulig måte å gjøre det på er ved biologisk overvåkning av ansatte, men dette har vært lite systematisk studert.

I denne studien ble muligheten for å bruke konsentrasjonen av Mn i urinen (U-Mn) undersøkt.

Urinprøver til dette formålet ble samlet inn om morgenen, ettermiddagen og kvelden på to påfølgende dager hos 40 ovnstappere ved tre forskjellige manganlegeringsverk. I tillegg ble personbårne luftprøver samlet inn. Urinprøver ble også samlet inn hos 20 personer som ikke utsettes for Mn. Resultatene bidrar med ny kunnskap av nytte for bransjer hvor Mn er en arbeidsmiljøfaktor, slik som i manganlegeringsverk og ved sveising.

Studien er et samarbeid mellom Statens arbeidsmiljøinstitutt og ERAMET Norge, som også har bidratt økonomisk til undersøkelsen.

Oslo, 15/3-16

Dag G Ellingsen

## INNLEDNING

Mangan som forurensning i arbeidsatmosfæren kan forekomme i en rekke bransjer, blant annet i manganlegeringsverk. I Norge finner en også betydelig yrkesmessig eksponering for Mn blant sveisere. Mangan er et essensielt sporgrunnstoff for mennesker, og godt regulert i kroppen når det inntas gjennom kosten. Inhalasjon av Mn kan derimot forårsake alvorlig nevrologisk sykdom, manganisme, som er en kronisk sykdom i basalgangliene. Det er i dag ikke klarlagt ved hvilket eksponeringsnivå risikoen for manganisme øker. En rekke studier av forskjellige yrkesgrupper eksponert for Mn har vist lettere motoriske forstyrrelser ved eksponeringsnivåer som er betydelig lavere enn det en forventer fører til klinisk manganisme. Det er derfor viktig å overvåke eksponering for Mn hos eksponerte i arbeidslivet, for å bidra til å hindre utvikling av denne alvorlige sykdommen.

Med dette som bakgrunn har en ønsket å undersøke om det er mulig å overvåke eksponering for Mn mer effektivt ved måling av konsentrasjonen av Mn i urinen til personer eksponert i arbeid. Det er i dag ikke tilstrekkelig vitenskapelig evidens for å kunne anbefale slik overvåkning. Flere studier har vist akseptabel sammenheng mellom konsentrasjonen av Mn i arbeidsluft og i biologiske væsker. Det er derimot ikke tilstrekkelig kunnskap om variasjonen i biologiske konsentrasjoner hos personer som ikke eksponeres i arbeid. Derfor er ikke grunnlaget for å kunne skille en person som er yrkesmessig eksponert for Mn fra en som ikke er det, tilstrekkelig dokumentert.

Biologisk overvåkning av yrkesgrupper eksponert for Mn i arbeid er et mye diskutert tema internasjonalt i bransjer hvor eksponering for Mn forekommer. Bakgrunnen for dette er den store interessen for å utvikle verktøy som gjør en bedre i stand til effektivt å hindre utvikling av svekkede motoriske funksjoner forårsaket av eksponering for Mn.

Denne studien har som formål å studere om målinger av Mn i urinen er et egnet verktøy for å overvåke eksponering for Mn i arbeid hos en gruppe ovnstappere. Studien er et samarbeid mellom Statens arbeidsmiljøinstitutt (STAMI) og ERAMET Norge. Prøvetakingen ble gjennomført i tidsrommet oktober 2014 til mars 2015. Deretter ble blod-, urin- og luftprøver analysert ved STAMI.

## MÅLSETNINGER

- Undersøke eksponeringsnivåer og løseligheten av Mn i arbeidsluften som ovnstappere utsettes for
- Undersøke døgnvariasjon i utskilling av Mn i urin hos ovnstappere eksponert for Mn
- Undersøke døgnvariasjon i utskilling av Mn i urin hos personer som ikke er eksponert for Mn i arbeid
- Undersøke sammenhengen mellom utskilling av Mn i urin hos personer som er eksponert for Mn i arbeid og luftkonsentrasjonen de eksponeres for
- Undersøke om forskjellen i U-Mn er tilstrekkelig til å kunne skille eksponerte og ikke-eksponerte fra hverandre

## MANGAN

Mangan er et metall med høy hardhet, atomvekt 54.94, atomnummer 25, tetthet 7.3 og smeltepunkt 1245 °C. Mangan kan foreligge i alle oksidasjonstrinn fra 0 til VII. Mest stabilt er Mn(II). Mangan er et essensielt sporgrunnstoff for mennesker, hvor det foreligger som Mn(II) eller Mn(III).

### Gastrointestinalt opptak

Omlag 3 % av inntaket av Mn absorberes gastrointestinalt, men absorpsjonen kan øke opp til 6 % ved jernmangel (Oberdoerster and Cherian, 1988). Dette antas å henge sammen med at divalent metall transportør 1 (DMT1) oppreguleres på enterocyttenes (tarmceller) overflate ved jernmangel (Gunshin et al., 2001; Roth and Garrick, 2003). En nylig publisert undersøkelse viste at opptaket av Mn øker når serum ferritin (S-ferritin) konsentrasjonen er lavere enn 15-20 µg/L (Meltzer et al., 2010). Mangan (II) transporteres gjennom ferroportin inn i det portale kretsløp (Yin et al., 2010; Madejczyk et al., 2012). Det antas at Mn (II), i hvert fall delvis, oksideres til Mn (III) ved hjelp av ceruloplasminanalogen hephaestin før videre transport til lever. Leveren er sentral i reguleringen av likevekten for Mn i kroppen, men det er lite detaljert kunnskap om hvordan reguleringen skjer.

### Lungeopptak

Det er i hovedsak tre faktorer som bestemmer opptaket av en komponent inn i blodet ved inhalasjon; penetrasjon, deponering og løselighet. Penetrasjonseffektiviteten avhenger av en partikkels størrelse. Deponeringseffektiviteten avgjør hvor stor andel av inhalerte partikler

som deponeres på lungens slimhinner. Løseligheten av partiklene er viktig for biotilgjengeligheten, og dermed opptaket i blodbanen.

Hvordan Mn tas opp i kroppen fra lungene er lite forstått. Det har vært vist eksperimentelt at løseligheten til partikler som deponerer på lungens overflate er viktig for mengden Mn som absorberes. Rotter som ble eksponert for vannløselige Mn-forbindelser ( $MnCl_2$ ,  $MnSO_4$ ) hadde betydelig høyere konsentrasjoner av Mn i målorganet striatum (en del av basalgangliene i hjernen) enn rotter som ble eksponert for mindre vannløselige forbindelser ( $MnO$ ,  $Mn_3O_4$ ) (Roels et al., 1997; Dorman et al., 2001).

Det har vært vist at både epitelceller og makrofager i lungene har de samme mekanismene for transport av jern (Fe) som mage-tarm-trakten, og som delvis brukes for transport av Mn. Således har både DMT1, transferrin reseptor og ferroportin blitt påvist i lunger (Ghio et al., 2006). Det synes likevel å være enkelte forskjeller, bl.a. forandres ikke DMT1-ekspresjon i lungeepitelceller, i motsetning til i enterocytter, hos rotter med jernmangel (Heilig et al., 2005). Derimot har rotter med svært høy jernstatus redusert transport av Mn i lungene (Thompson et al., 2006). Dette finner en ikke gastrointestinalt. Basert på analogibetraktninger er det en rimelig antakelse at løselig Mn transporteres gjennom disse systemene og inn i blodbanen hos mennesker.

### **Distribusjon**

Mangan (III) transporteres under fysiologiske betingelser i plasma bundet til transferrin (Gibbons et al., 1976; Scheuhammer og Cherian, 1985). Det antas at Mn og Fe bindes til samme ligand på transferrin siden bindingen hemmes av Fe (Scheuhammer og Cherian, 1985). Det har vært foreslått at citrat-bundet Mn øker ved høyere konsentrasjoner av Mn i serum (Michalke et al., 2015).

Intracellulært opptak av Mn skjer i stor grad gjennom konvensjonelt opptak av transferrin-transferrinreseptor-komplekset hvor Mn(III) er bundet til transferrin (Roth og Garrick, 2003). DMT1, som finnes på de fleste celleoverflater, er et viktig transportprotein for Mn(II) inn i celler (Roth og Garrick, 2003). Det er et komplisert samspill mellom Mn (III) og Mn (II) intracellulært, slik at Mn (III) som tas opp gjennom transferrin-transferrinreseptor komplekset konverteres til Mn (II) p.g.a. lav pH.

Mekanismene for distribusjon er velkjente når Mn tas opp gastrointestinalt. Det er mer uklart hvilke mekanismer for distribusjon som gjelder etter opptak ved inhalasjon. Indirekte evidens tyder på at Mn foreligger bundet til mindre molekyler. Hvis dette er tilfellet vil det forandre mønsteret for vevsdistribusjonen av Mn. Bindingen til mindre molekyler i plasma bidrar til at urinutskillingen av Mn øker relativt betydelig etter inhalasjon. Siden transferrin-molekylet har en størrelse som gjør at det ikke kan filtreres glomerulært i nyrene og at urinutskillelsen øker relativt mye ved eksponering i arbeid, tyder dette på at Mn bindes til småmolekylære strukturer, slik som citrat, i plasma. Konsentrasjonen av Mn i urin i normalbefolkningen er svært lav.

## Biologiske konsentrasjoner

Om lag 2/3 av Mn i fullblod (B-Mn) foreligger i erythrocyttene (Milne et al., 1990). Konsentrasjonene hos ikke-yrkeseksponerte individer varierer en del, typisk mellom 6 og 12 µg/L i gjennomsnitt for grupper. Avhengig av den yrkesmessige eksponeringens størrelse er forskjellene i gjennomsnitt mellom eksponerte grupper og kontrollgrupper typisk i området 0 til 6 µg/L. Eksempelvis målte vi i gjennomsnitt 12.8 µg/L (5.9-40.3) i en gruppe sveisere i Russland hvor kontrollgruppen hadde 8.0 µg/L (4.1-13.9) (Ellingsen et al., 2013). I en tidligere studie ved norske manganlegeringsverk var konsentrasjonen av B-Mn 10.4 µg/L (4.6-23.4) i snitt mens kontrollgruppen hadde 9.1 µg/L (4.0-20.5) (Ellingsen et al., 2003). Disse eksemplene viser at bakgrunnsnivåene for B-Mn er forskjellige i Norge og Russland og at kontrasten i B-Mn mellom det å være eksponert eller ikke eksponert i arbeid er relativt liten. Det er også en betydelig overlapp i B-Mn konsentrasjoner mellom kontroller og eksponerte. Dette gjør målinger av B-Mn uegnet som verktøy for biologisk overvåking av grupper eksponert for Mn i arbeid.

Målinger av Mn i urinen (U-Mn) gjøres forholdsvis sjeldent fordi konsentrasjonene er lave. Spesielt har mennesker som ikke eksponeres i arbeid ofte så lave konsentrasjoner at mange laboratorier har problemer med å påvise U-Mn over deteksjonsgrensen. I studien fra norske manganlegeringsverk var U-Mn korrigert for urinens innhold av kreatinin (kr) 0.44 (0.05-61.3) i eksponert gruppe og 0.19 µg/g kr (0.05-6.4) i kontrollgruppen (Ellingsen et al., 2003). Sveisere i Russland hadde U-Mn i gjennomsnitt 0.36 (0.03-12.9), mens kontroller hadde 0.07 µg/g kr (<DL-3.1) (Ellingsen et al., 2013). Arbeidere i produksjonen av Mn-oxid og Mn-salter hadde gjennomsnittlig B-Mn på 13.6 (1-35.9) mot 5.7 µg/L (0.4-13.1) hos kontrollene, mens U-Mn var 1.56 (0.06-140.6) mot 0.15 µg/g kr (0.01-5.04) (Roels et al., 1987). Disse resultatene viser at forskjellen mellom grupper eksponert i arbeid og kontroller er betydelig større for U-Mn enn for B-Mn. Halveringstiden for U-Mn har blitt estimert til å være under 30 timer (Roels et al., 1987).

Stor kontrast i biologiske konsentrasjoner mellom eksponerte og ikke-eksponerte individer er en forutsetning for å gjennomføre biologisk monitorering av eksponerte individer. Likevel skal bemerkes at de høyeste konsentrasjonene en måler i kontrollgruppene er konsentrasjoner som en også måler blant eksponerte.

## Partikler i luften

Kunnskap om partikkelstørrelsesfordelingen i luften er viktig for å forstå innånding og deponering av partikler, mens løselighet av partiklene er viktig for å forstå det systemiske opptaket av enkeltkomponenter. Ovnstappere som ble undersøkt i denne studien eksponeres for partikler i den respirable aerosolfraksjonen, men også for noe større partikler (Berlinger et al., 2015). Partikler i den respirable aerosolfraksjonen trenger helt ned i lungeblærene. Her er de løselige komponentene tilgjengelige for opptak inn i blodbanen. Løseligheten av partiklene som finnes i ovnsrøyken ved manganlegeringsverk er ukjent. En vet i liten grad fra litteraturen om antatt deponeringseffektivitet av Mn-holdige partikler som tappere eksponeres for. Vi har



tidligere funnet sammenheng mellom Mn i luften og U-Mn hos ansatte i Mn-legeringsverk etter kjemisk spesiering av luftprøvene. Det var ingen sammenheng mellom eksponering for tungt løselige Mn-forbindelser i luften og U-Mn, men en statistisk sikker sammenheng ble påvist mellom lettere løselige forbindelser og U-Mn (Ellingsen et al., 2003). Ved bruk av en simulans for lungevæske (Hatch-løsning) fant vi også en sammenheng mellom løselig Mn i luften og U-Mn hos sveisere (Ellingsen et al., 2013). Andre grupper har ikke gjort tilsvarende studier.

## METODER

### Design og deltakere

Førti ovnstappere ble rekruttert fra tre Mn-legeringsverk, 14 fra Kvinesdal (K), 13 fra Sauda (S) og 13 fra Porsgrunn (P). Disse ble sammenlignet med 20 ueksponerte kontroller, 7 fra Kvinesdal, 7 fra Sauda og 6 fra Porsgrunn. Ovnstapperne avga urinprøver på to påfølgende dager med formiddagsskift; første morgenurin (før jobb), direkte etter skift (mellom klokken 14 og 15) samt siste kveldsurin. I tillegg ble en urinprøve avgitt morgenen etter samt en kveldsurinprøve kvelden før skiftperioden. En blodprøve ble tatt om morgenen første dag av formiddagsskiftene. Det samme mønsteret for prøvetaking ble fulgt for kontrollene. De eksponerte bar prøvetakingsutstyr for innsamling av den respirable aerosolfraksjonen på begge formiddagsskiftene hvor urinprøvene ble samlet inn.

Deltakerne i undersøkelsen hadde generelt god helse. Kjent sykdom i nyrer eller lever, eller misbruk av alkohol, førte til eksklusjon. Ingen ble ekskludert. Kun menn ble inkludert siden få kvinner arbeider som ovnstappere. Tabell 1 viser bakgrunnsdata i de to gruppene. De var i gjennomsnitt like gamle og det var omtrent lik andel røykere i de to gruppene.

Tabell 1 Bakgrunnsdata for 40 ovnspassere eksponert for mangan og 20 kontroller

	<b>Eksponert</b>	<b>Kontroll</b>	
	<b>AM<sup>†</sup> (min-max)</b>	<b>AM (min-max)</b>	<b>p-verdi</b>
<b>Alder (år)</b>	44.1 (20-63)	44.0 (23-61)	0.98
<b>Høyde (cm)</b>	181 (168-196)	182 (178-193)	0.55
<b>Vekt (kg)</b>	87.0 (65-115)	84.9 (72-115)	0.53
<b>Røykere (%)</b>	25	20	0.76
<b>År ovnstapper</b>	15.9 (0.5-40)	-	-

<sup>†</sup>aritmetisk gjennomsnitt

## **Prøvetaking og bestemmelse av Mn i luften**

Luftprøver ble samlet gjennom to etterfølgende formiddagsskift på de to dagene urinprøver ble samlet inn om morgenen, etter skift og om kvelden. Personbårne sykkloner ble brukt til prøvetaking av den respirable aerosolfraksjonen. Syklonene ble utstyrt med 25 mm polyvinylkloridmembranfiltre (5 µm porestørrelse) og plassert i pustesonen til operatørene. Luftgjennomstrømningshastigheten til prøvetakingspumpene ble justert til 2,2 L/min.

Partikulær masse (støv) på filter ble bestemt gravimetrisk ved bruk av en Sartorius Micro modell MC5 vekt i et veierom med stabil relativ luftfuktighet ( $40 \pm 2\%$ ) og temperatur ( $20 \pm 1$  °C). Både før og etter eksponering ble filterne plassert i veierommet i minst to dager for å bli akklimatisert før veiing.

10 mL av en lungevæske-simulant (Hatch løsning) ble tilsatt membranfilterne plassert i et 50 ml sentrifugerør utstyrt med en filtreringsenhet påmontert et 0.45 µm nylon filter. Ekstraksjonen ble utført i et varmeskap ved 37 °C i 24 timer. Løsningene ble sentrifugert og metallkonsentrasjoner bestemt med induktivt koblet plasma høyopløselig massepektrometri (ICP-HR-MS). Metaller i den ikke løselige fraksjonen ble også bestemt med ICP-HR-MS etter dekomponering i mikrobølgeovn med kongevann (Ellingsen et al., 2013).

## **Innsamling og analyse av blodprøver**

En venøs blodprøve fra alle deltakerne ble tatt om morgenen første dag av formiddagsskiftene etter rengjøring av huden med deionisert vann og etanol. En 5 mL plastikk Venoject vakutainer med litium-heparin (Terumo Corp., Belgia) ble fylt med venøst blod for bestemmelse av Mn. Fullblod til separasjon av serum for måling av S-ferritin og markøren for inflammasjon C-reaktivt protein (CRP) ble tatt i en 10 mL vakutainer uten tilsetning (Vacuette®, Greiner Labortechnik, Østerrike). Denne prøven hvilte i kjøleskap i 30 minutter før sentrifugering i 10 minutter ved 1500 x g. Serum ble lagret 1.0 mL kryorør (NUNC®). Alle prøvene ble lagret ved -20 °C før analyse.

Mangan i fullblod ble bestemt med ICP-HR-MS. Seronorm® humant fullblod ble brukt til kvalitetssikring av bestemmelsene. Ferritin og CRP i serum ble bestemt ved Først medisinske laboratorium, Oslo. Serum ferritin ble bestemt immunoturbimetrisk med en Advia 2400 Capillarys™ (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. NY, US). Serum CRP (S-CRP) ble bestemt med CardioPhase™, Advia 2400 (Siemens Healthcare Diagnostics Inc. NY, US).

## **Innsamling og analyse av urinprøver**

Hver onstapper avga i alt åtte urinprøver fordelt på fire påfølgende dager. Første urinprøve (K1) ble avlagt kvelden før luftprøver ble tatt. På dag 2 ble urin samlet som første morgenurin (M2), etter skift (E-S2) og om kvelden (K2). På dag 3 ble urin samlet som første morgenurin (M3), etter skift (E-S3) og om kvelden (K3). I tillegg ble første morgenurin samlet inn på dag 4 (M4). Helsekift personbårne luftprøver ble samlet inn på dag 2 og dag 3. Det var et krav at

ovnstapperne skulle dusje før urinprøver ble avlagt ved E-S2 og E-S3. Urinprøver ble samlet inn på samme tidspunkt hos kontrollene. Urinprøvene ble samlet inn i vanlige uringlass, oppbevart mellom 2 og 8 °C i noen timer før nedfrysing til -20 °C i påvente av analyser.

Mangan i urinen ble bestemt med ICP-HR-MS. Seronorm® humant urin kvalitetskontrollmateriale ble brukt for kvalitetssikring av bestemmelsene. Konsentrasjonene ble korrigert for innholdet av kreatinin (kr.) i urinen. Kreatinin ble målt etter Jaffés metode.

### Statistikk

Utfallsvariablene i studien var kontinuerlige og overveiende skjevfordelte. Derfor ble utfallsvariablene log-transformert. Geometriske gjennomsnitt (GM) er presentert for disse variablene. Ellers er aritmetisk gjennomsnitt (AM) presentert. Students t-test ble brukt for å vurdere hvorvidt grupper skilte seg statistisk sikkert fra hverandre. En tosidig p-verdi <0.05 ble ansett som å være statistisk sikker. Statistiske analyser er gjort ved bruk av en personlig datamaskin med statistikkpakken SPSS.

## RESULTATER

Konsentrasjonene av B-Mn var høyere hos de eksponerte enn hos kontrollene (Tabell 2). Også konsentrasjonene av U-Mn var høyere ved starten av undersøkelsen på K1. De eksponerte hadde høyere konsentrasjon av S-ferritin, og når to personer som oppga å være blodgivere ble ekskludert fra analysene ble forskjellen statistisk sikker (p=0.03). Det var ingen forskjell i konsentrasjonen av S-CRP mellom gruppene.

Tabell 2 Konsentrasjoner av Mn i blod og urin og ferritin og CRP i serum ved starten av oppfølgingen

	<b>Eksponert</b>	<b>Kontroll</b>	
	<b>GM<sup>†</sup> (min-max)</b>	<b>GM (min-max)</b>	<b>p</b>
<b>B-Mn (µg/L)</b>	11.4 (5.1-18.6)	8.2 (5.0-15.7)	0.001
<b>U-Mn (µg/g kr.)</b>	0.30 (0.02-15.0)	0.06 (<DL-0.58)	<0.001
<b>S-ferritin (µg/L)</b>	149 (6-936)	106 (28-409)	0.16
<b>S-CRP (mg/L)</b>	1.1 (<DL-9)	1.0 (<DL-5)	0.62

<sup>†</sup> geometrisk gjennomsnitt

Personbårne luftprøver ble samlet inn på to påfølgende dager. Gravimetrisk bestemmelse viste i geometrisk gjennomsnitt 285  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (31-2844) støv i de 79 innsamlede luftprøvene (ikke tabellert). Det var forskjeller i støvmengden innsamlet i de tre bedriftene som deltok, og de geometriske gjennomsnitt var henholdsvis 272 (61-2844), 559 (46-2134) og 160 (31-528)  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Innholdet av Mn i støvet (i %) var forholdsvis likt mellom bedriftene, og varierte mellom 15-21%. Forskjellene i konsentrasjonen av Mn i arbeidsluften mellom bedriftene reflekterer derfor i hovedsak forskjellen mellom de målte støvkonsentrasjonen i bedriftene.

Både Hatch løselig og ikke-løselig Mn ble bestemt i luftprøvene. Tabell 3 viser konsentrasjonen av Mn i forhold til løselighet i Hatch-løsning. Mengden av Hatch-løselig og Hatch-uløselig Mn omregnet til luftkonsentrasjoner var om lag like stor. Det var imidlertid forskjeller mellom verkene i andelen Mn i arbeidsluften som var løselig i Hatch-løsningen i forhold til total mengde Mn. Andelen varierte mellom 34 og 58% i de tre verkene. Det var en sterk sammenheng mellom konsentrasjonen av Hatch løselig og ikke løselig Mn på de to dagene luftprøver ble samlet. Pearson's korrelasjonskoeffisient var 0.74 ( $p \leq .001$ ) på den første dagen og 0.82 ( $p < 0.001$ ) på den andre dagen.

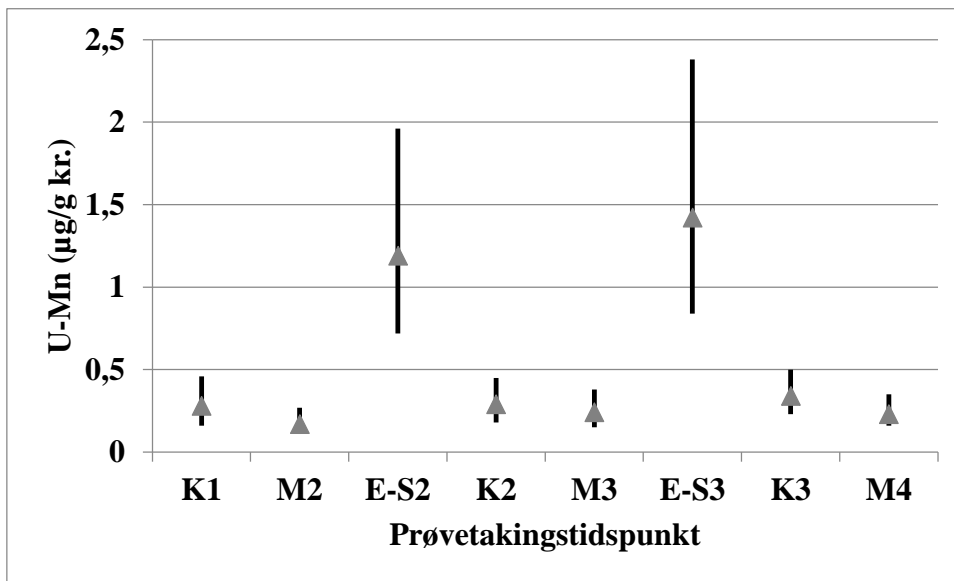
*Tabell 3 Konsentrasjonen av Hatch løselig og ikke-løselig Mn i arbeidsatmosfæren*

	<b>GM<sup>†</sup> (min-max)</b>
<b>Løselig (<math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</b>	21.0 (3.6-132)
<b>Ikke-løselig (<math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math>)</b>	24.0 (1.5-361)

<sup>†</sup> geometrisk gjennomsnitt

Konsentrasjonen av U-Mn i de første urinprøvene som ble avlagt (K1) var høyere hos ovnstapperne enn hos kontrollene (Tabell 2). Konsentrasjonen av U-Mn var statistisk sikkert høyere hos ovnstappere enn hos kontroller ved alle åtte prøvetakinger. Konsentrasjonene i gjennomsnitt varierte mellom 0.06 og 0.10  $\mu\text{g}/\text{g}$  kr. i kontrollgruppen ved de forskjellige prøvetakingene. Figur 1 viser de geometriske gjennomsnittskonsentrasjonene (og 95% konfidensintervall) av U-Mn hos de 40 ovnstapperne ved de forskjellige tidspunktene for prøvetaking. Det var betydelig høyere U-Mn i prøvene som ble tatt direkte etter skift (E-S2 og E-S3) sammenliknet med prøvetakingene på alle andre tidspunkt (Figur 1).

Figur 1 Konsentrasjonen av U-Mn samlet inn på åtte prøvetakingstidspunkt hos 40 ovnstappere



Det var en svak, men statistisk sikker sammenheng mellom konsentrasjonen av U-Mn i prøver avlagt etter skift og Hatch-løselig Mn i arbeidsluften på begge prøvetakingdager. Pearson's korrelasjonskoeffisienter var henholdsvis 0.35 ( $p=0.03$ ) og 0.33 ( $p=0.04$ ) for den første og andre dagen hvor luftprøver ble samlet inn.

Tabell 4 viser andelen U-Mn konsentrasjoner målt hos ovnstappere som var over 90-ende percentil av U-Mn konsentrasjonene som ble målt hos kontrollene ved de åtte forskjellige tidspunktene for prøvetaking. Det var en betydelig overlapp i de målte konsentrasjonene mellom eksponerte og kontroller. Eksempelvis var bare 22.5% av konsentrasjonene hos ovnstapperne ved M2 høyere enn 90-ende percentil hos kontrollene. Ved å bruke 90-ende percentil betyr det at 10% av konsentrasjonene hos kontrollene også overskrider denne grensen. Prøver tatt direkte etter skift skilte bedre mellom gruppene, og henholdsvis 70% og 80% av U-Mn konsentrasjonene hos de eksponerte var høyere enn 90-ende percentil hos kontrollene på prøvetakingstidspunktene E-S2 og E-S3.

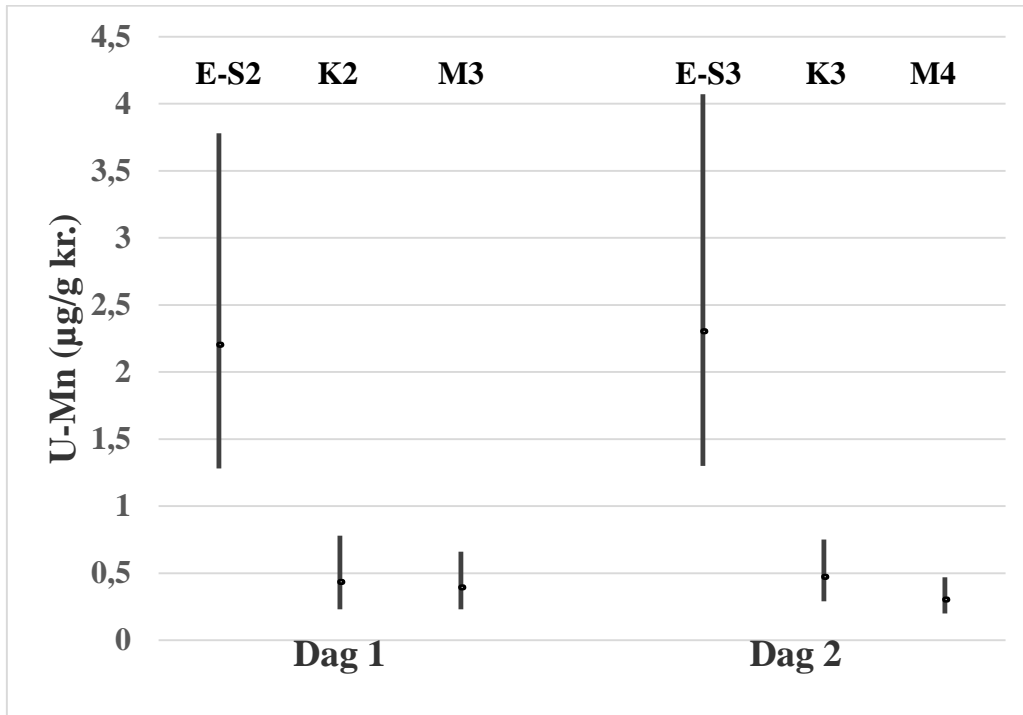
Tabell 4 Prosentandelen av U-Mn konsentrasjoner (i  $\mu\text{g/g kr.}$ ) >90-ende percentil hos 40 ovnstappere

Prøvetaking	Kontroller		Eksponerte
	Median	90-ende percentil	% > 90-ende percentil
<b>K1</b>	0.05	0.41	35
<b>M2</b>	0.05	0.35	22.5
<b>E-S2</b>	0.07	0.55	70
<b>K2</b>	0.04	0.42	30
<b>M3</b>	0.06	0.27	42.5
<b>E-S3</b>	0.07	0.39	80
<b>K3</b>	0.06	0.45	35
<b>M4</b>	0.06	0.33	32.5

Det var forskjeller mellom bedriftene i andelen ovnstappere som overskred 90-ende percentil i kontrollgruppen ved E-S2 og E-S3. Mens prosentandelen var henholdsvis 42.8% og 57.1% i den bedriften hvor eksponering er lavest, var andelen mellom 84.5% og 92.3% i de to bedriftene hvor eksponeringen var høyest.

Denne undersøkelsen var ikke designet for å studere halveringstiden for U-Mn. En kan likevel gjøre seg noen betraktninger rundt dette på gruppebasis. Halveringstiden er viktig for å forstå hvor raskt Mn skiller ut i urinen. Figur 2 viser at konsentrasjon av U-Mn i gjennomsnitt ved E-S2 synker raskt ned til K2 om lag åtte timer senere og bare lite videre til M3 neste morgen. Et tilsvarende mønster i reduksjon av U-Mn observeres dagen etter. Disse resultatene indikerer en kort halveringstid av U-Mn, noe som vanskeliggjør individuell biologisk overvåkning.

Figur 2 Konsentrasjonen av U-Mn etter skift, kveld og morgen etter på to påfølgende dager blant ovnstappere ved de to bedrifter med høyest eksponering.



## OPPSUMMERING

De gravimetrisk bestemmelsene av luftprøvene viste forholdsvis store forskjeller i eksponering blant ovnstapperne i de tre deltakende bedrifter. Om dette er av prosess tekniske årsaker eller på grunn av arbeidets organisering, var ikke gjenstand for denne undersøkelsen. Prosentandelen Mn i støvet var forholdsvis likt i de tre bedriftene, og av dette følger at det også var forskjeller i eksponeringen for Mn blant de ansatte ved de tre verkene. Et punkt som bør undersøkes nærmere er den store prosentvise forskjellen i løselighet av de målte Mn-forbindelsene i arbeidsluften ved bedriftene.

Førti ovnstappere ble sammenliknet med 20 kontroller fra de samme geografiske områdene, men som ikke var yrkesmessig eksponert for Mn. Disse var forholdsvis like i alder og røykevaner som ovnstapperne. Det er derfor rimelig å anta at ovnstappernes høyere konsentrasjon av B-Mn kan tilskrives eksponeringen som de utsettes for i arbeid. Det bør vurderes tiltak for å redusere denne eksponeringen.

Ovnstapperne hadde også høyere konsentrasjoner av s-ferritin enn kontrollene. Det kan ikke utelukkes at denne økningen kan tilskrives eksponering for Fe fra arbeidsluften, og at dette øker deres jernlagre i kroppen.

Ovnstapperne hadde statistisk sikkert høyere konsentrasjoner av U-Mn ved alle åtte prøvetakingstidspunktene. Konsentrasjonen av U-Mn hos ovnstapperne var betydelig høyere i urinprøver avlagt rett etter skift på begge dager enn prøvene avlagt samme morgen og samme kveld. Dette tyder på raskt opptak av Mn ved eksponering og at størstedelen Mn som tas opp, fjernes raskt fra serum, blant annet ved at det skilles ut i urinen. Det var et krav at ovnstapperne skulle dusje før urinprøver ble avlagt ved E-S2 og E-S3 for å unngå ekstern forurensning av disse prøvene. Undersøkelsen var ikke designet for å beregne halveringstid i urin, men resultatene tyder likevel på at halveringstiden er kort. Ved korte halveringstider og raskt opptak, kan det spille en rolle når i løpet av skiftet størstedelen av eksponering har funnet sted og om en person har urinert i løpet av skiftet og derved allerede skilt ut en del av den absorberte komponenten. Dette kan være årsaken til den forholdsvis moderate sammenhengen mellom konsentrasjonen av Mn i luft og U-Mn som vi finner på individnivå. Det har vært foreslått at det kan være vanskelig å foreta kvantitativ biomonitorering når halveringstiden i mediet som monitoreres er kortere enn seks timer (Santonen et al., 2015).

Studien viser en forholdsvis stor intra-individuell variasjon av U-Mn konsentrasjonene hos kontrollene. Vi har ikke identifisert et klart mønster i denne variasjonen i forhold til når prøvene ble avlagt. Slik variasjon har vært lite studert, og en kan bare spekulere om dette er en naturlig variasjon eller en variasjon relatert til analysemetodene. Uansett medfører dette at det på individnivå er vanskeligere å skille en eksponert person fra en ueksponert person ved disse nivåene for lufteksponering, noe som er helt sentralt å kunne gjøre når man gjør biologisk overvåkning på individnivå.

Spørsmållstillingen i denne studien var hvorvidt U-Mn kan brukes som verktøy for biologisk overvåkning av ansatte i norske Mn-legeringsverk. Dette spørsmålet kan presiseres i henhold til om overvåkning skal skje på individuell basis for å predikere individets eksponering eller om overvåkingen skal skje for hele gruppen eksponerte.

Resultatene viser et helt klart opptak av Mn hos ovnstapperne, men fordi opptak og utskilling tilsynelatende foregår raskt, er det vanskelig på individnivå å vite hva den målte konsentrasjonen egentlig reflekterer. Dette kan eksemplifiseres med at hvis en person har størstedelen av sin eksponering tidlig i skiftet og later vannet midt i skiftet, vil antakeligvis store deler av denne eksponeringen skilles ut. Hvis så personen biologisk overvåkes med en urinprøve etter skift vil denne eksponeringen bare reflekteres i begrenset grad i urinprøven.

Det er derimot mulig å kunne overvåke eksponerte som en gruppe. Man kan da studere over tid utvikling av eksponering, og en kan sannsynligvis undersøke forskjeller i eksponering mellom grupper. Dette forutsetter at gruppene har tilstrekkelig størrelse. Sannsynligvis kan også biologisk overvåkning benyttes for eksempelvis å vurdere effektiviteten av åndedrettsvern på gruppebasis.



## LITTERATURHENVISNINGER

Berlinger B, Bugge MD, Ulvestad B, Kjuus H, Kandler K, Ellingsen DG. Particle size distribution of workplace aerosols in manganese alloy smelters applying personal sampling strategy. *Environ Sci: Processes Impacts* 2015;17(12):2066-2073.

Dorman DC, Struve MF, Arden James R, Marshall MW, Parkinson CU, Wong BA. Influence of particle solubility on the delivery of inhaled manganese to the rat brain: Manganese sulfate and manganese tetroxide pharmacokinetics following repeated (14-day) exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001;170:79-87.

Ellingsen DG, Hetland SM, Thomassen Y. Manganese air exposure assessment and biological monitoring in the manganese alloy production industry. *J Environ Monit* 2003;5:84-90.

Ellingsen DG, Zibarev E, Kusraeva Z, Berlinger B, Chashchin M, Bast-Pettersen R, et al. The bioavailability of manganese in welders in relation to its solubility in welding fumes. *Environ Sci: Processes Impacts* 2013;15:357-65.

Ghio AJ, Turi JL, Yang F, Garrick LM, Garrick M. Iron homeostasis in the lung. *Biol Res* 2006;39:67-77.

Gibbons RA, Dixon SN, Hallis K, Russell AM, Sansom BF, Symonds HW. Manganese metabolism in cows and goats. *Biochim Biophys Acta* 1976;444:1-10.

Gunshin H, Allerson CR, Polycarpou-Schwarz M, et al. *FEBS Letters* 2001;509:309-316.

Heilig E, Molina R, Donaghey T, Brain JD, Wessling-Resnick M. Pharmacokinetics of pulmonary manganese absorption: evidence for increased susceptibility to manganese loading in iron-deficient rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2005;288:887-893.

Madejczyk MS, Ballatori N. The iron transporter ferroportin can also function as a manganese exporter. *Biochim Biophys Acta* 2012;1818:651-657.

Meltzer HM, Brantsaeter AL, Borch-Johnsen B, Ellingsen DG, Alexander J, Thomassen Y, et al. Low iron stores are related to higher blood concentrations of manganese, cobalt and cadmium in non-smoking, Norwegian women in the HUNT 2 Study. *Environ Res* 2010;110: 497–504.

Michalke B, Aslanoglou L, Ochsenkuehn-Petropoulou M. et al. An approach for manganese biomonitoring using a manganese carrier switch in serum from transferrin to citrate at slightly elevated manganese concentration. *J Trace Elem Med Biol* 2015;32:145-154.

Milne DB, Sims RL, Ralston NVC. Manganese content of the cellular components of blood. *Clin Chem* 1990;36:450-452.

Oberdoerster G, Cherian G. Manganese. In: Clarkson TW, Friberg L, Nordberg GF, Sager PR, eds. 1988. *Biological Monitoring of metals*.

Roels HA, Lauwerys R, Genet P, et al. Relationship between external and internal parameters of exposure to manganese in workers from a manganese and salt producing plant. *Am J Ind Med* 1987;11:297-305.

Roels H, Meiers G, Delos M, Ortega I, Lauwerys R, Buchet JP, et al. Influence of the route of administration and the chemical form ( $MnCl_2$ ,  $MnO_2$ ) on the absorption and cerebral distribution of manganese in rats. *Arch Toxicol* 1997;71:223-230.

Roth JA, Garrick MD. Iron interactions and other biological reactions mediating the physiological and toxic actions of manganese. *Biochem Pharmacol* 2003;66:1-13.

Santonen T, Aitio A, Fowler BA, Nordberg M. Biological monitoring and biomarkers. In: Nordberg G, Fowler BA, Nordberg M (Eds.). *Handbook on the Toxicology of Metals*, 4<sup>th</sup> ed. Academic Press, 2015;155-171.

Scheuhammer AM, Cherian MG. Binding of manganese in human and rat plasma. *Biochim Biophys Acta* 1985;840:163-169.

Thompson K, Molina R, Donaghey T, Brain JD, Wessling-Resnick M. The influence of high iron diet on rat lung manganese absorption. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006;210:17- 23.

Yin Z, Jiang H, Lee, ESY, Ni M, Erikson KM, Milatovic D, et al. Ferroportin is a manganese-responsive protein that decreases manganese cytotoxicity and accumulation. *J Neurochem* 2010; 112:1190-1198.