

## Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter 1991-2001

Læs om

hormonforstyrrende stoffer

genetiske variationer

6-om-dagen

onde bakterier i maden

miljø og abort

bacillus cereus bakterier

CEMIK

Se også

abstracts og kalenderen

---

---

## Indhold

<a href="#">Nyt fra SMF</a> .....	04
<a href="#">Hormonforstyrrende stoffer</a> .....	05
<a href="#">Genetiske variationer</a> .....	12
<a href="#">6-om-dagen</a> .....	15
<a href="#">Onde bakterier i maden</a> .....	17
<a href="#">Miljø og abort</a> .....	20
<a href="#">Bacillus cereus bakterier</a> .....	23
<a href="#">CEMIK</a> .....	27
<a href="#">Abstracts</a> .....	29
<a href="#">Kalenderen</a> .....	47

## Miljø og sundhed

Bladet henvender sig primært til forskere, beslutningstagere og administratorer, der beskæftiger sig med miljø og sundhed.

## Udgives af:

Sundhedsministeriets Miljømedicinske  
Forskningscenter  
c/o Sundhedsstyrelsen  
Amaliegade 13  
Postboks 2020  
1012 København K

## Redaktion:

Finn Gyntelberg (ansv.)  
Lis Keiding  
Hilde Balling

7. årgang, jubilæumsnr., 9. november 2001

ISSN, trykt udgave 1395-5241

ISSN, elektronisk udgave 1601-4146

URL: <http://www.smf.dk/blad/ms0103.pdf>

## SMF 1991-2001

Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter (SMF) blev oprettet i 1991 som et "center uden mure" med det formål at fremme samarbejdet om miljømedicinsk forskning inden for Sundhedsministeriets institutioner og samarbejdet med andre forskningsinstitutioner.

I 1991 var centrets medlemsinstitutioner Dansk Institut for Klinisk Epidemiologi, Levnedsmiddelstyrelsen, Rigshospitalet, Statens Serum Institut, Sundhedsstyrelsen og Sektor for Kræftepidemiologi under Kræftens Bekæmpelse. Centret blev ledet af et centerråd, bestående af repræsentanter for hver af medlemsinstitutionerne og en repræsentant for Statens Sundhedsvidenskabelige Forskningsråd og med institutchef Ib Knudsen fra Institut for Toksikologi i Levnedsmiddelstyrelsen som formand.

Det rådgivende koordinationsudvalg, der blev oprettet i 1991, fungerer som centrets repræsentantskab og som et forum for samarbejde, og består, foruden centerrådets medlemmer og deres suppleanter, af repræsentanter for yderligere 18 institutioner.

I 1997 skete der en række ændringer i SMF.

Som konsekvens af en række organisatoriske og institutionelle omlægninger blandt centrets medlemsinstitutioner blev der gennemført en tilpasning og udvidelse af centrets medlemskreds. Således blev fortsat medlemskab for de institutioner, som havde skiftet tilhørsforhold, formaliseret og medlemskredsen blev udvidet med flere store forskningsinstitutioner. Endvidere flyttede centrets sekretariat til Sundhedsstyrelsen og sidst, men ikke mindst, fik centret selvstændig fondsfunktion.

Netværkssamarbejdet i SMF omfatter siden 1997: Arbejds- og Miljømedicinsk Klinik, Bispebjerg Hospital, Arbejds miljøinstituttet, By- og Byg Statens Byggeforskningsinstitut, Danmarks Miljøundersøgelser, Institut for Epidemiologisk Kræftforskning Kræftens

---

Bekæmpelse, Institut for Fødevarer sikkerhed og Toksikologi, Fødevaredirektoratet, Statens Institut for Folkesundhed, Statens Serum Institut og Sundhedsstyrelsen. Professor Finn Gyntelberg, Arbejds- og Miljømedicinsk Klinik, Bispebjerg Hospital, er formand for centerrådet og afdelingslæge Lis Keiding, Statens Institut for Folkesundhed, er næstformand.

Centerrådets medlemskreds er også blevet udvidet. Siden 1997 har Sundhedsministeriet været repræsenteret i centerrådet og i december 1999 har sundhedsministeren, efter indstilling fra centerrådet, udpeget 1 kontaktperson fra hvert af universiteterne i København, Odense og Århus til medlemmer af centerrådet.

SMFs opgaver er at integrere og fremme dansk miljømedicinsk forskning gennem en kobling mellem miljø- og sundhedsforskningen på tværs af sektorerne, formidle miljømedicinsk viden og levere faglig rådgivning til Sundhedsministeriet og andre offentlige myndigheder i forbindelse med miljømedicinske problemstillinger.

Strategiplan 2001 – 2003, der er udarbejdet af centerrådet, redegør for SMFs planlagte aktiviteter, herunder en nærmere beskrivelse af særlige prioriteringer på forskningsområdet, i de kommende 3 år. Strategiplanen kan ses på SMFs hjemmeside [www.smf.dk](http://www.smf.dk).

Centerrådet koordinerer og iværksætter forskningsprojekter inden for rammerne af et forskningsprogram, hvis overordnede mål er at medvirke til at forebygge helbreds-skader, forårsaget af befolkningens direkte eller indirekte udsættelse for miljøfaktorer gennem luft, jord, vand og levnedsmidler, på arbejdspladser og i boliger og institutioner. Projekterne finansieres af medlemsinstitutionernes basisbevillinger og af eksterne bevillinger. En oversigt over igangværende projekter kan ses på SMFs hjemmeside.

SMFs fond yder tilskud til dansk miljømedicinsk forskning gennem åbne udbud en gang

årligt, og SMF udmønter desuden forskningsprogrammet miljømedicinsk forskning på kræftområdet 2000-2002.

Bladet ”miljø og sundhed” er udkommet siden 1995. I dette nummer, der udgives i anledning af SMFs 10-års jubilæum, har vi bedt flere af de forskere, der har modtaget tilskud fra SMFs fond om at skrive om deres projekter. Det nye Center for Miljørelateret Kræft (CEMIK) beskrives også.

Til dette nummer har skrivelysten været særlig stor, idet der er yderligere 2 artikler, henholdsvis om hormonforstyrrende stoffer og om små genetiske variationer mennesker imellem.

Siden 1992 har SMFs årsmøde været en fast tradition. Her mødes miljømedicinske forskere og administratorer på tværs af sektorerne og hører foredrag om emner inden for eget område eller får et indtryk af hvad andre beskæftiger sig med. Sædvanligvis består møderne af indlæg ved inviterede foredragsholdere, gerne i relation til et særligt emne, og af frie foredrag. Ikke mindst de frie indlæg bidrager til den tværfaglighed, som møderne gennem årene er blevet rost for. Mange deltagere har tilkendegivet, at de gerne ser denne form bevaret. Det har vi også gjort - bortset fra i år, hvor centerrådet i anledning af SMFs 10 års jubilæum har bedt nogle af de forskere, hvis projekter har modtaget støtte fra SMF, om at holde et indlæg i relation til disse projekter.

Mødet indledes af sundhedsminister Arne Rolighed, og derefter følger formiddagens indlæg, der relaterer sig til luftforurening, reproduktion og indeklime. Om eftermiddagen er der state of the art indlæg ved inviterede foredragsholdere om fine partikler, allergener og allergi og gen-miljø interaktioner.

Jubilæumsmødet skal nok blive tværfagligt, og det bliver årsmødet i 2002 også, hvor SMF så kan se frem til at få ekstra mange tilbud om frie indlæg.

Hilde Balling

---

## Nyt fra SMF

I år 2001 er der bevilget støtte til nedenstående projekter.

### SMFs fond

Niels Bohse Hendriksen, Danmarks Miljøundersøgelser: Endospore dannende bakterier som indikatorer for luftbåren spredning af mikroorganismer - 492.000 kr.

Keld Alstrup Jensen, Arbejdsmiljøinstituttet: Karakteristik og helbredseffekter af luftforureningspartikler belyst ved opløselighedsstudier og bio-assays *in vivo* og *in vitro* - 597.000 kr.

Henrik Kolstad, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus Kommunehospital: Forskningsprojekt om arbejdsmiljø og graviditet. En epidemiologisk undersøgelse af kvinder i glasfiberplastindustrien - 95.000 kr.

Allan Linneberg, Københavns Amts Center for Sygdomsforebyggelse, KAS Glostrup: Mikroorganismer og luftvejsallergi - 220.000 kr.

Steffen Loft, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet: Eksponering for ultrafine partikler fra trafikken i København - 417.000 kr.

Mads Melbye, Statens Serum Institut: BCG vaccination og risiko for allergi blandt grønlandske skolebørn - 161.000 kr.

Jesper Bo Nielsen, IST/Miljømedicin, Syddansk Universitet, Odense: Risikooplevelse som determinant ved miljømedicinsk risikoanalyse - 390.000 kr.

### Miljømedicinsk kræftforskning 2000-2002

Herman Autrup, Institut for Miljø og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet: Kemisk induceret apoptose i tyktarm og lever - 296.000 kr.

Eva Støttrup Hansen, Afdeling for Miljø- og Arbejdsmedicin, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet: Pesticider og kræftisiko: Genopfølgning af en kohorte af ansatte i gartneribranchen - 189.000 kr.

Johnni Hansen, Kræftens Bekæmpelse: International undersøgelse af arbejdsbetingede årsager til kræft blandt slagteriarbejdere m.fl. - Dansk delundersøgelse - 343.000 kr.

Bjørn Andersen Nexø, Institut for Human Genetik, Århus Universitet: Arv, Sol og Kræft (ASK) - 600.000 kr.

Arne Poulstrup, Embedslægeinstitutionen for Vejle Amt: Kræftforekomst i en population udsat for luftbåren dioxin - 324.000 kr.

Ole Raaschou-Nielsen, Kræftens Bekæmpelse: Organiske klorerede miljøforureninger og risiko for brystkræft hos postmenopausale kvinder, pilotprojekt - 373.000 kr.

Ole Raaschou-Nielsen, Kræftens Bekæmpelse: Radon i boligen og risiko for børnekræft - 680.000 kr.

Ulla Birgitte Vogel, Arbejdsmiljøinstituttet: Genetisk variation i gener involveret i oxidativt stress som risikofaktor for brystkræft - 250.000 kr.

Ulla Birgitte Vogel, Arbejdsmiljøinstituttet: Kost og DNA reparationsevne - 250.000 kr.

## SMFs sekretariat får ny adresse

Per 3. december 2001 flytter Sundhedsstyrelsen, herunder SMFs sekretariat, til Islands Brygge.

Den nye adresse er:

Sundhedsstyrelsen  
Islands Brygge 67  
Postboks 1881  
2300 København S

---

# Hormonforstyrrende stoffer. Er de årsag til sundhedsskader hos mennesker?

*Af Jens-Jørgen Larsen, Fødevaredirektoratet*

---

## Reproduktionsskader i fokus

De påviste skadelige virkninger af hormonforstyrrende stoffer i naturen, eksempelvis på fisk og alligatorer, og de mulige sundhedsskadelige effekter på mennesker har været på den internationale dagsorden igennem de senere år. Der er udført mange epidemiologiske studier og laboratorieforsøg med udvalgte miljøforurenende kemikalier, især med henblik på at følge ændringerne i forekomsten af en række lidelser, som kunne være forårsaget af hormonforstyrrende stoffer, men også for at opklare mekanismen bag effekterne samt belyse den mulige risiko for skader med disse stoffer, enkeltvis eller i kombinationer. Det har længe været kendt, at en række stoffer, som udledes til miljøet og dermed indgår i naturens kredsløb, herunder vores mad, har iboende egenskaber, som gør, at de kan ændre vore hormonsystemer, som er af afgørende betydning for vores fosterudvikling, kønsdifferentiering, vækst og forplantning.

Fra humane undersøgelser ved vi, at en række lidelser som testikelkræft, kryptorkisme, hypospadi og nedsat sædkvalitet har været stigende i den vestlige verden gennem de seneste 30-40 år. Flere af disse sygdomme har sandsynligvis en fælles årsag og udtrykker muligvis, at der er tale om forskellige symptomer forårsaget af et og samme syndrom (figur 1A). Samtidig med de humane studier har laboratorieundersøgelser på forsøgsdyr vist, at dosering af drægtige dyr med de i miljøet forekommende østrogener, antiandrogener, visse pesticider, plastblødgørere og dioxiner med videre kan medføre tilsvarende skader som nedsat sædkvalitet, kryptorkisme, testikelkræft og hypospadi hos afkommet (figur 1B).

Foruden østrogene og androgene receptorer antages andre receptortyper, med direkte indflydelse eller modulerende betydning, også at spille en rolle for den samlede hormonbalance, og for alle de involverede endogene transmitter substanser gælder, at påvirkning af deres syntese eller nedbrydning formentlig også kan forårsage en hormonel ændring med risiko for feminisering af drenge eller maskulinisering af piger og i begge tilfælde øget risiko for nedsat reproduktionsevne. Disse fund er imidlertid ikke bevis på, at de undersøgte stoffer er ansvarlige for de observerede sundhedsskader, og det må erkendes, at det fortsat er uvist, om de omtalte miljøforurenende stoffer er ansvarlige og i bekræftende fald, hvilke af stofferne der har fremkaldt disse observerede sundhedsskader.

## Fostres følsomhed

Undersøgelse af fostres eksponering for hormonforstyrrende stoffer har særlig interesse, fordi deres følsomhed over for kemiske stoffer generelt anses for at være større end voksnes følsomhed. Især udgør den første tredjedel af graviditeten en særlig følsom periode, fordi fostrets kønsdifferentiering finder sted i denne periode, og selv små forskydninger i den afgørende hormonbalance kan være afgørende for den efterfølgende proces i voksenalderen. Påvirkninger i denne kritiske fase synes at være irreversible. De skader, der er opstået på dette tidspunkt, kan ikke rettes senere, selv om effekterne, som f.eks. nedsat sædkvalitet, først ses efter kønsmodningen, altså på et langt senere tidspunkt. Disse følsomme perioder, ”vinduer”, findes ikke hos voksne dyr. Derfor er det nødvendigt at arbejde med forsøgsmodeller, altså drægtige forsøgsdyr, hvor disse

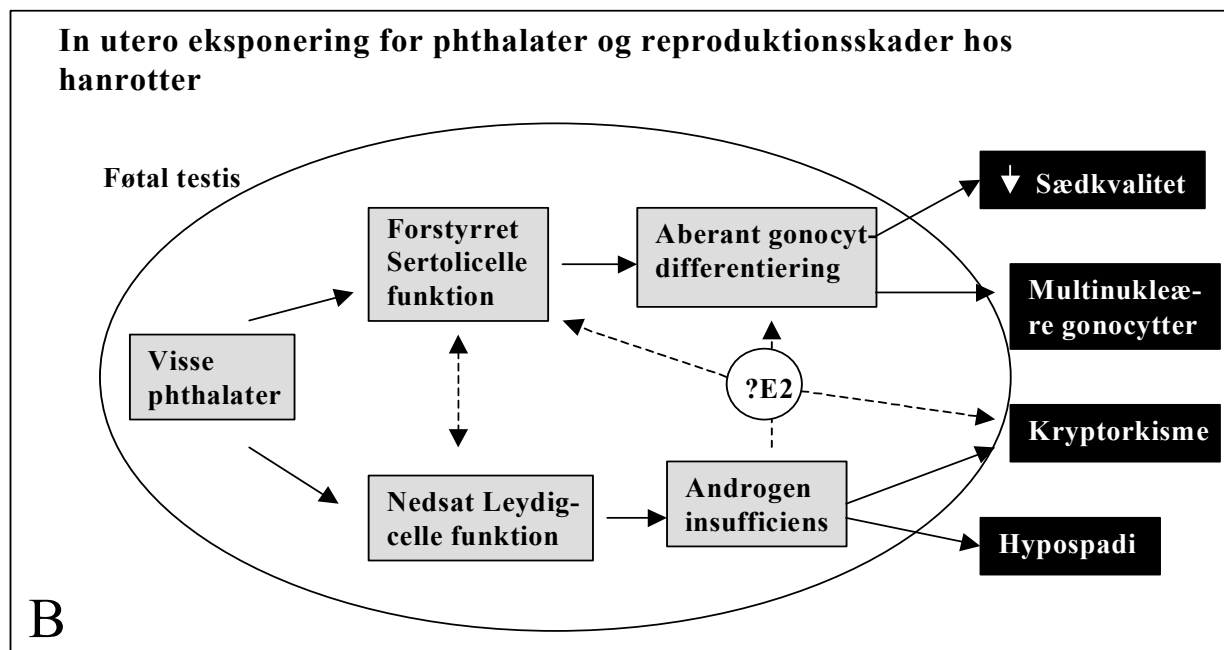
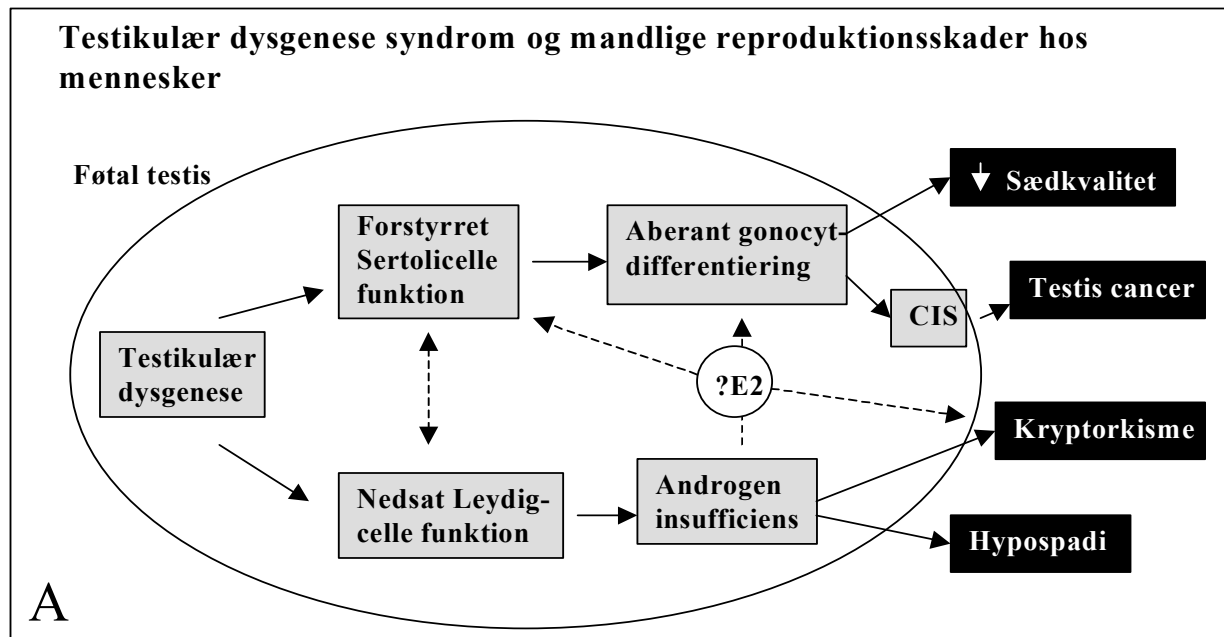


Fig 1. Skematisk sammenligning af de forandringer i testiklen, der formodes at opstå ved Testikulær Dysgenese Syndrom hos mennesker (A) med dem, der induceres hos rottefostret efter eksponering af den drægtige hunrotte for dibutylphthalat eller diethylhexylphthalat (B). Optrukne pile indikerer sandsynlige veje, mens stiplede pile angiver mulige veje. Reproduceret efter Sharpe, RM (2001) Toxicology Letters 120, 221-232.

---

kritiske faser indgår, og hvor eventuelle fremkaldte effekter på fostrene vurderes efter deres fødsel, herunder undersøgelser under og efter deres kønsmodning. Der findes i dag data, som viser, at mere end 30 kemikalier kan fremkalde reproduktions- toksikologiske ændringer hos mennesker og dyr efter eksponering i fostertilstanden, men som tidligere nævnt ved man ikke med sikkerhed, om disse stoffer er ansvarlige for de omtalte lidelser hos mænd, og hvis de er ansvarlige, hvilke af stofferne der har størst betydning.

I en undersøgelse af kvinder, der mindst 30 år tidligere i deres fosterliv var blevet eksponeret for det syntetiske østrogen DES som følge af medicinsk behandling af deres moder for truende abort, sås en øget forekomst af for tidlig fødsel og af spontane aborter sammenlignet med tilsvarende mødre uden denne tidligere DES påvirkning. Der er data, der viser, at DES også kan ændre processer i hjernen af betydning for kønsudviklingen. I overensstemmelse hermed viste undersøgelserne af de DES eksponerede kvinder, at deres etablerede kontakt med en partner og deres seksuallfølelse og seksuelle tilfredsstillelse under samleje var mindre end hos tilsvarende ikke DES eksponerede kvinder. Hos de DES eksponerede kvinder sås endvidere flere maskuline træk i en verbal test som tegn på en ændret hjernefunktion i maskulin retning.

Analysen af amnionvæsken, der omgiver fosteret, har vist indhold af mange af de almindeligt forekommende miljøgifte som PCB-forbindelser, DDT metabolitter som p,p'-DDE, o,p'-DDE og pesticidet hexachlorobenzon (HCH) og dets tre metabolitter (alpha-, beta- og gamma-HCH). Med tilstedeværelsen af disse stoffer i amnionvæsken må det antages, at fosteret bliver eksponeret for stofferne, men om de påviste koncentrationer medfører en effekt på fosteret er vanskeligt at afgøre, selv om man som udgangspunkt må vurdere, at enhver toksisk substans kan udgøre en risiko for det ufødte barn.

I denne forbindelse må det understreges, at der, som oven for nævnt, efter al sandsynlighed findes tidspunkter, "vinduer", i fostertilværelsen og muligvis senere i det lille barns levetid, hvor der er særlig stor følsomhed for fremmede stoffer, og at de fremkaldte effekter kan variere med karakteren af disse stoffer. Overførsel af resultater fra dosis-respons studier opnået på voksne dyr til fosterperioden kan således være problematisk. Derfor er der ved fortolkning af forsøgsresultater på udvoksede dyr særlig opmærksomhed over for mulige skader hos fostre i lavere doser end dem, der har været anvendt hos de voksne dyr.

### Kønsdifferentiering

Før kønsdifferentieringen af det menneskelige foster finder sted, har fosteret potentiale til at udvikle sig til en hunlig fænotype med bevarelse af den Müllerske gang eller en hanlig fænotype med bevarelse af den Wolffske gang og dannelse af de tilhørende eksterne genitalier (figur 2). Hos drengefostre sker der efter differentieringen i gonaderne en sekretion af testosteron samt et stof, som hæmmer udviklingen af de Müllerske gange. Dette igangsætter udvikling af de hanlige kønsorganer. Testosteron er ansvarlig for differentieringen af de Wolffske gange til epididymis, vas deferens og seminal vesiklerne, medens metabolitten 5 $\alpha$ -dihydrotestosteron igangsætter udviklingen af prostata og de hanlige eksterne genitalier. Uden disse hormonpåvirkninger vil et drengefoster udvikle sig i hunlig retning. Dette forhold gør det hanlige foster særligt følsomt over for stoffer med østrogen og/eller androgen effekt under den tidlige kønsdifferentiering, medens den hunlige kønsdifferentiering kan finde sted stort set uden hormonel påvirkning. Dette ses bl.a. af, at genmanipulerede hunmus stadig udvikler sig i hunlig retning og opnår normale kønsorganer, selvom både gener for ekspresion af  $\alpha$ - og  $\beta$ -østrogen receptorer mangler hos disse dyr.

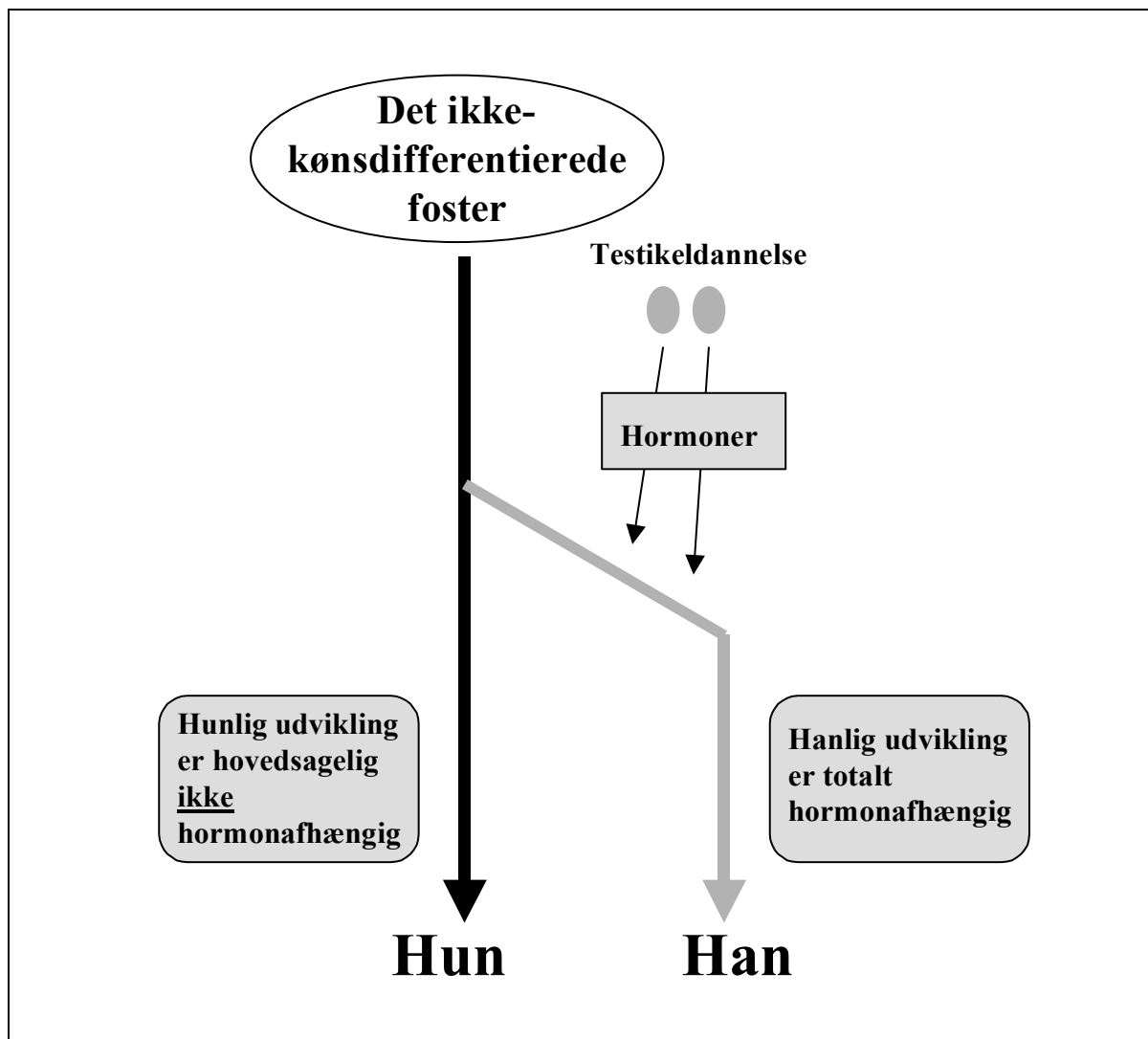


Fig 2. Skematisk præsentation af kønsdifferentierings-processen hos mennesker, der illustrerer, at udvikling af hanner eller drenge ikke følger 'default-vejen' (den hunlige), men kræver testikeludvikling og produktion af hormoner for at forløbe normalt. Reproduceret efter Sharpe, RM (2001) Toxicology Letters 120, 221-232.

Tilsvarende bliver andre organsystemer som nervesystemet, leveren og skeletmuskulaturen også indkodet hunlige eller hanlige træk på dette tidspunkt. Visse steder i centralnervesystemet omdannes testosteron til østradiol ved hjælp af aromatase enzymet eller til dihydrotestosteron ved hjælp af 5 $\alpha$ -reductase enzymet.

Betydningen af de tre hormoner testosteron, 5 $\alpha$ -dihydrotestosteron og østradiol for den maskuline udvikling af nervesystemet er forskellig fra mennesker til dyr og mellem forskellige dyrearter. Selv om der med perinatal behandling af rotter med antiandrogene stoffer som vinclozolin og diethylhexylphthalat ek-



---

sempelvis ikke sker nogen ændring af den karakteristiske hanlige bestigningsadfærd under parringen, er dette ikke ensbetydende med, at der ikke hos andre dyrearter vil kunne ske en påvirkning af denne adfærd, fordi det hormonelle grundlag for bestigningsadfærden er species afhængig. Således har man hos voksne hankaniner set en hæmning af denne adfærd efter dosering med vinclozolin i fostertiden og under laktationen. Sådanne observationer tydeliggør betydningen af korrekt valg af dyreart og tidspunkt for undersøgelse af mulige hormonforstyrrende stoffer i laboratoriet.

### Laboratorieundersøgelser

Under de nationale og internationale forskningsprogrammer, der har været gennemført på dette område, har spørgsmålet om de toksikologiske testmetoder været essentielt. Hvilke *in vivo*- og eller *in vitro* metoder skal anvendes, og hvordan kan positive eller negative testresultater anvendes i risikovurderingen som grundlag for risikohåndteringen af stofferne? I mange år har der eksisteret internationalt validerede testmetoder, f.eks. under OECDs Test Guideline Programme, hvor toksikologiske metoder med gentagen dosering har belyst de toksiske effekter hos voksne handyr og hundyr samt i et- eller fler-generationsforsøg, hvor drægtige hundyr doseres, og der efterfølgende foretages en række undersøgelser af afkommet, herunder deres reproduktionsevne. Disse metoder har undergået og undergår til stadighed ændringer med henblik på at sikre, at en eventuel hormonforstyrrende effekt af teststofferne bliver fanget i disse tests. Samtidig er der udviklet og afprøvet nye *in vivo* og *in vitro* metoder, der meget specifikt retter sig mod stoffer med østrogen, antiøstrogen, androgen eller antiandrogen virkning. En række *in vitro* assays med naturligt forekommende eller indbyggede østrogener eller androgene receptorer muliggør affinitets- og aktivitetsundersøgelser, og blandt *in vivo* screeningsmetoderne kan nævnes uterus testen, og Hershberger testen, som ligeledes fokuserer på henholdsvis østrogen og androgen receptor agonisme og antagonisme.

De typiske parametre, der måles, er organvægte og hormonniveauer, men der er meget, der tyder på, at undersøgelse af mRNA niveauer af gener, der er regulerede af køns-hormonerne, vil blive et værdifuldt supplement.

I studier af relevante dyremodeller til belysning af hormonforstyrrende stoffers skadelige indvirkning hos mennesker har der været stor opmærksomhed ved udvælgelse og validering af særlige muskler og deres neuronale grundlag, hvis udvikling og vækst er testosteronafhængig og derfor større hos handyr end hos hundyr. Det drejer sig specielt om muskler relateret til de hanlige kønsorganer (musculus levator ani og musculus bulbocavernosus), hvis vægt anvendes som parametre i Hershberger testen. Den organisatoriske udvikling finder sted i fostertiden, og væksten sker under puberteten, og i begge tilfælde er processen induceret af testosteron. I musculus levator ani findes ikke 5 $\alpha$ -reductase, hvorfor udviklingen af disse muskler samt de tilhørende neuronale kerner i rygmarven fremkaldes af testosteron og ikke af 5 $\alpha$ -dihydrotestosteron. Perinatal dosering med antiandrogene stoffer som vinclozolin, procymidon, DEHP og p,p'-DDE har, som bekræftelse på denne hormonelle betydning, medført en irreversibel reduceret vækst af musculus levator ani og musculus bulbocavernosus. Disse muskler undergår også hos mennesker en kønsafhængig udvikling, betinget af den hormonelle påvirkning under det første trimester.

Udover påvisning af en receptor stimulerende eller receptor blokerende effekt, kan der med de nævnte metoder opnås en vurdering af dosis-respons sammenhæng og effekter af kombinationer af teststoffer. Flere stoffer har i de senere år udvist effekter i lavdosis-området, som adskiller sig fra effekter i højdosis-området, der traditionelt anvendes i toksikologiske undersøgelser. Effekter af sådanne lave doser, der svarer til den eksponering, som mennesker i mange sammenhænge bliver eksponeret for, er vanskelige at undersøge og kræver særligt følsomme testmetoder. Flere undersøgelses-

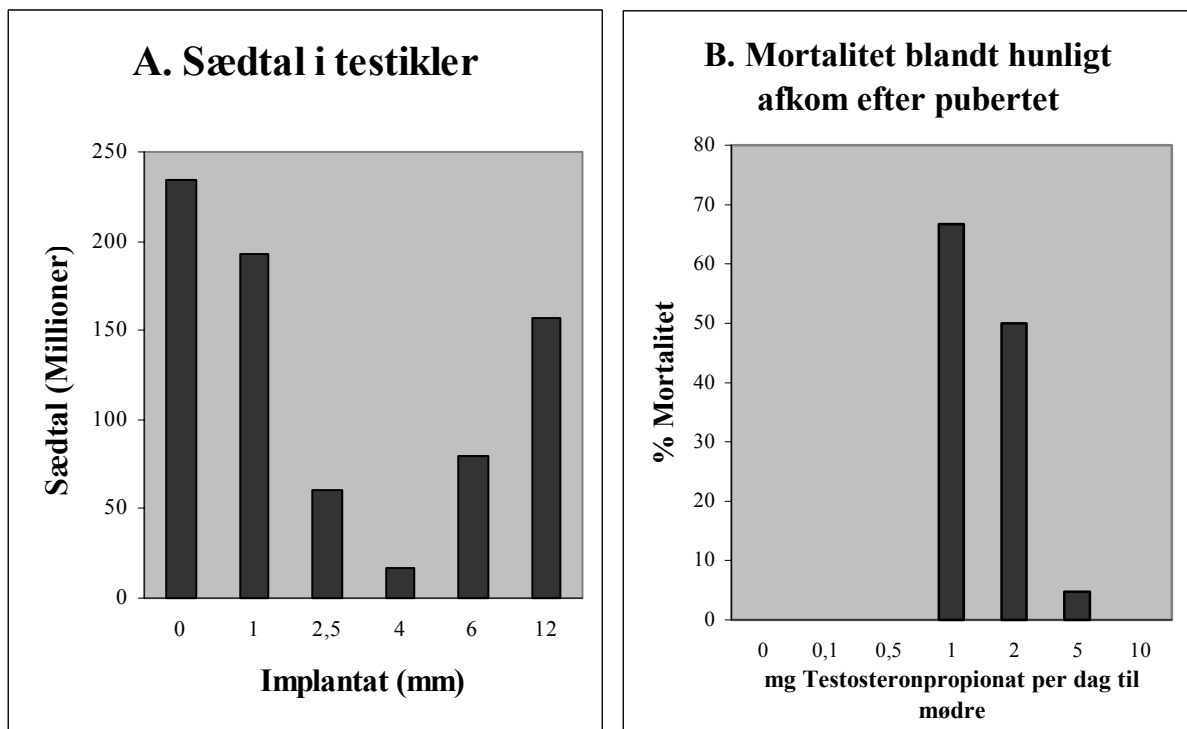


Fig 3. A) U-formet dosis-responskurve for forholdet mellem testosteronmængde (angivet ved implantatstørrelse) og testikulære sædtal. B) Omvendt u-formet dosis-responskurve for forholdet mellem dødelighed blandt hunligt afkom efter puberteten forårsaget af reproduktionsskader i livmoderen efter behandling af moderen med testosteronpropionat. Reproduceret efter Gray et al. (2001) Human Reprod. 7, 248-264. Implantat: dosis angivet i mm af et rør indeholdende den aktive substans.

resultater tyder på, at nogle stoffer kan frembringe en u-formet / omvendt u-formet dosis-respons-kurve med stigende effekt i lavere doser og faldende effekt i højere doser (figur 3A og 3B). Det gælder f.eks. for testosteron i undersøgelser af stoffets effekt på spermatogenesis hos voksne rotter og på overlevelsen af nyfødte rotteunger efter behandling af de drægtige moderdyr. Resultater fra reagensglasforsøg har vist, at dette utraditionelle dosis-respons forløb ikke kun fremkommer p.g.a. flere forskellige virkningsmekanismer, men også kan ses, fordi nogle stoffer optræder som antagonist i lave doser og som agonister i højere doser eller omvendt.

Det andet forhold, nemlig vurdering af de samlede effekter af kombinationer af stoffer, har fået stigende interesse og har medført igangsætning af forsøg, hvor enkelte eller i nogle tilfælde et større antal stoffer sammenlignes med effekterne af stofferne hver for sig. Selv om det i enkelte publikationer har set ud som om et kemikalie kunne forstærke effekten af et eller flere andre stoffer ud over den rent additive effekt, altså en synergistisk effekt, tyder flertallet af forsøgsresultater indtil videre på, at der højst opnås en ren additiv effekt, når flere stoffer kombineres i forsøgsmodellerne.

---

Foruden de specifikke receptor stimulerende/blokerende mekanismer synes andre mekanismer, som for eksempel hæmning af den føtale testosteronsyntese, også at være betydningsfuld for teststoffers mulige hormonforstyrrende effekter. Dette forhold gør, at det kan være afgørende for en samlet toksikologisk vurdering af kemikaliers mulige hormonforstyrrende effekt, at der foruden *in vitro* studier også har været gennemført *in vivo* forsøg, hvor sådanne mekanismer er i spil.

De stoffer, der er blevet fokuseret på i de senere år med henblik på at forklare årsagen til de beskrevne sygdomme, inkluderer mange forskellige stoffer med et bredt repertoire af virkningsmekanismer. Nogle stoffer forekommer som miljøforurenende stoffer, f.eks. efter afbrænding eller industriel udledning eller som rester fra særlig anvendelse. Som tidligere nævnt omfatter de miljøforurenende stoffer dioxiner og PCB'er og pesticider som DDT, industrielt anvendte stoffer som plastblødgørere og visse former for medicin til mennesker og dyr. Hertil kommer de naturligt forekommende stoffer i planter samt de naturlige kønshormoner fra dyr og mennesker, som efter udskillelse med urinen og udledning til naturen kan opnå høje koncentrationer i tæt befolkede områder eller områder med intensivt landbrug.

### Østrogenhypotesen

Medens der for nogle år siden efter formulering af østrogenhypotesen hovedsageligt blev fokuseret på kemikalier med østrogenlignende effekt, samler interessen sig i disse år mere om hormonforstyrrende stoffer med antiandrogen effekt og især om kombinationer af stoffer med både østrogen aktivitet og antiandrogen effekt. Balancen mellem den østrogene og den androgene påvirkning synes mere følsom for den antiandrogene blokade end den østrogene stimulering, og den kombinerede effekt forekommer særlig kraftig. Som allerede nævnt forekommer en række antiandrogener i vores miljø, eksempelvis pesticiderne vinclozolin, procymidon, p,p'-DDT, p,p'-DDE og linuron.

Vinclozolin metabolitterne, procymidon, p,p'-DDT med metabolitter samt linuron binder sig alle til den humane androgene receptor og hæmmer androgen-induceret gen-ekspression. Det er også vist i *in vivo* forsøg, at den androgen-afhængige gen-ekspression i prostata kan hæmmes med vinclozolin, p,p'-DDE og linuron. Ingen af disse pesticider eller deres metabolitter synes at have affinitet til de østrogene receptorer eller at hæmme 5 $\alpha$ -reductase enzymet *in vitro*.

Forsøgsresultater af denne art koblet med data fra humane studier peger på, at en række af de stoffer, som mennesker eksponeres for, og specielt som fostre eksponeres for på grund af deres særlige følsomhed, besidder et potentiale, der kan forklare den kedelige sundhedsstatistik på reproduktionsområdet i de industrialiserede lande. Den fortsatte forskning med hormonforstyrrende stoffer vil forhåbentlig kunne udpege de vigtigste kandidater, så vi gennem udfasning og andre regulerende initiativer kan nedbringe forekomsten af sygdomme som hypospadi, kryptorkisme, testikelkræft og nedsat sædkvalitet.

---

# Små genetiske variationer mennesker imellem - hvad betyder de(t)?

Af Ulla Vogel, Arbejdsmiljøinstituttet

---

Sekventeringen af det humane genom har forårsaget en voldsom stigning i forskning om genetiske variationer mellem mennesker – og især forskning om SNP'er (single nucleotide polymorphisms). Denne artikel handler om, hvad disse polymorfier egentligt er, og hvordan de kan have biologisk betydning.

Kortlægningen af det humane genom er ved at være tilendebragt. Der er kun enkelte områder tilbage, hvor generne stadig bytter plads med jævne mellemrum.

## To interessante fund

I mine øjne var der to bemærkelsesværdige fund af sekventeringen: Man fandt kun ca. 30-40.000 gener i det humane genom. Det lyder måske af mange, men til sammenligning har en simpel, encellet tarmbakterie som *Escherichia coli* 10.000 gener. Det kan være svært at forstå, at en kompliceret organisme som den menneskelige kun kræver 3-4 gange så mange enzymer, som det kræver at få en simpel, encellet organisme til at fungere.

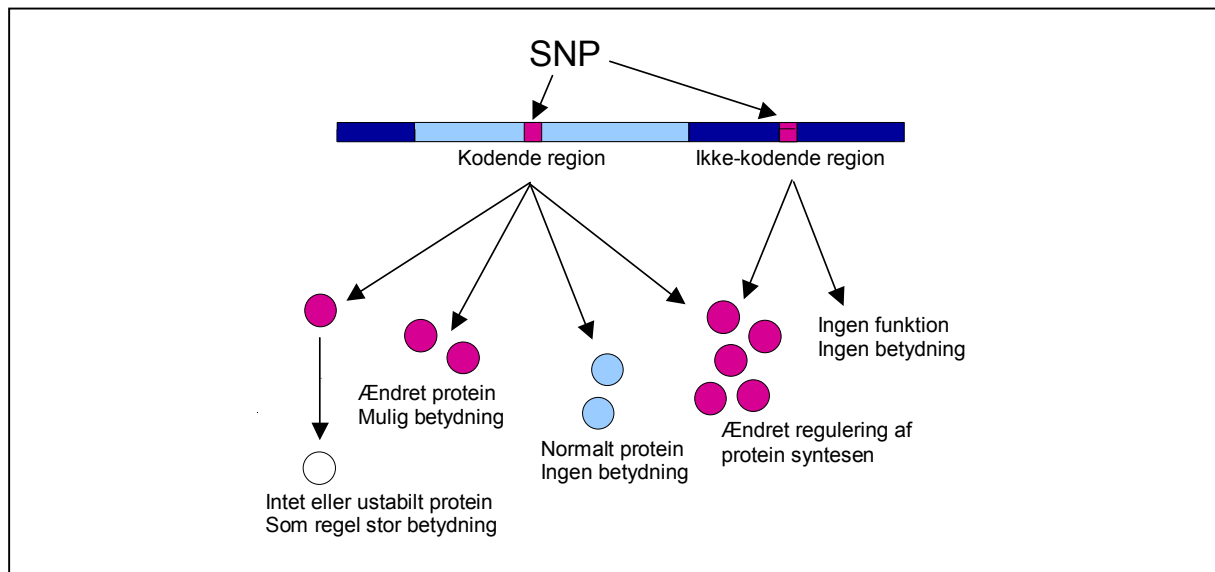
Det andet interessante fund var, at DNA sekvensen er forskellig fra person til person i et ud af hver 1000. nukleotid – og så sammenlignede man endda kun arvematerialet fra 24 forskellige personer. Det betyder, at vi genetisk set kun ligner hinanden 20 gange mere end vi ligner chimpanser.

De fleste genetiske variationer mellem mennesker er enkelt-nukleotid ændringer, d.v.s. at der på en given position i arvematerialet simpelt hen er ét nukleotid hos nogen, og et andet hos andre. Nogen har f.eks. et A, hvor andre har et C. Disse enkelt-nukleotid variationer kaldes

SNP'er for det engelske udtryk "single nucleotide polymorphisms". Oftest finder man kun to forskellige nukleotider i en SNP. Det indebærer, at nukleotidændringen kun er sket i et enkelt menneske, og at den så er blevet nedarvet og spredt gennem generationer. Nogle SNP'er findes kun hos nogle få procent af befolkningen, mens andre bæres af næsten halvdelen af en befolkning. Faktisk er petitesse-grænsen, at en polymorfi skal forekomme hos 1% af befolkningen, før den kan kaldes en polymorfi. Der er ofte også store raceforskelle. En SNP kan f.eks. være almindelig hos asiater, men meget sjælden hos kaukasiere.

## Fra SNP til årsag

Kortlægningen af alle disse SNP'er har givet anledning til eksplosiv vækst i forskning i sammenhængen mellem SNP'er og forekomsten af sygdomme – specielt cancer. Det er oftest undersøgelser af case-kontrol typen: Man undersøger forekomsten af en given SNP i en patientgruppe og sammenligner med forekomsten hos en gruppe raske individer, der efter bedste overbevisning ligner patientgruppen mest muligt. Hvis SNP'en forekommer oftere hos patientgruppen, kan man konkludere, at SNP'en er associeret med sygdommen (eller med beskyttelse mod sygdommen, hvis det modsatte er tilfældet). De fleste forskere går skridtet videre og diskuterer, hvordan SNP'en direkte kan være impliceret i den biologiske årsag til sygdommen. Det er imidlertid sjældent, man er så heldig, at den SNP, man studerer, er den direkte årsag til den sygdom, den statistisk set er associeret til.



Figur 1. Mulige biologiske effekter af en SNP.

## Arvematerialets opbygning

Alt arvemateriale er bygget op af 4 byggesten, kaldet nukleotider, G, A, T og C, og rækkefølgen af dem indeholder al den information, der skal til for at danne hele organismen.

Menneskets arvemaske udgøres af 6 milliarder nukleotider fordelt på 46 kromosomer. Disse kromosomer passer parvis sammen, og man arver det ene sæt kromosomer fra sin mor og det andet fra sin far. Nukleotiderne ligger som perler på en snor, som så udgør kromosomerne. En meget lang snor med gennemsnitligt 130 millioner "perler" pr. snor. De nedarves også i de fleste tilfælde som perler på en snor. Derfor nedarves en SNP noget forenklet sagt sammen med op til 130.000 andre SNP'er. Man bør derfor være meget forsigtig, når man udtaler sig om den biologiske effekt af en enkelt SNP.

## Den biologiske effekt af SNP'er

Kun en lille del af det humane genom indeholder den information, der bliver omsat til proteiner og enzymer, eller har betydning for opret-

holdelse af arvematerialet. Resten er fyld – enten mellem generne eller inde i generne (introns). SNP'er i fyldet har næsten aldrig biologisk betydning.

SNP inde i de kodende og de regulatoriske regioner kan både være neutrale eller have biologisk betydning som illustreret i figur 1.

## Intet protein

Nukleotiderne i DNA koder for proteiner ved at angive rækkefølgen af aminosyrer i proteinet. Hvis en aminosyrekode ændres til et stop-signal, vil der kun dannes den første del af det oprindelige protein. Stumpen er oftest ustabil og nedbrydes hurtigt. Men da man har to ens kromosomer, vil det andet kromosom i de fleste tilfælde også udtrykke et tilsvarende protein, således at effekten af det manglende protein mindskes. I disse tilfælde ville man forvente en kraftig biologisk effekt, hvis begge kromosomer bærer SNP'en, men en langt svagere effekt, hvis man kun har SNP'en på det ene kromosom. SNP'er af denne type er ofte årsagen til arvelige sygdomme, som f.eks. cys-

---

tisk fibrose, arvelig brystkræft og arvelig tyktarmskræft.

### Ændret protein

En SNP kan også give anledning til, at der på en position sættes en anden aminosyre ind i et protein. Det kan give anledning til dannelse af et protein med nedsat eller ændret funktion. Men igen vil det andet kromosom udtrykke et tilsvarende protein, således at effekten af det ændrede protein mindskes. I disse tilfælde ville man (måske) forvente en biologisk effekt, hvis begge kromosomer bærer SNP'en, men en langt svagere effekt, hvis man kun har SNP'en på det ene kromosom. Det kan også sagtens være, at aminosyreudskiftningen ikke betyder noget.

I sjældne tilfælde giver en SNP anledning til dannelse af et dominant protein, hvor det ændrede protein forhindrer den korrekte version af proteinet i at fungere korrekt. Det kan f.eks. være, hvis proteinet skal være en dimer eller en hexamer for at virke. Så kan det ændrede protein være årsag til, at hele hexameren ikke virker, selv om den indeholder både ændrede og korrekte versioner af proteinet. I disse tilfælde er det nok at bære en kopi af SNP'en for at få en biologisk effekt, og at bære SNP'en på begge kromosomer øger ikke effekten meget.

### Ingen forskel

Endeligt kan der være SNP'er, der ikke giver anledning til aminosyreændringer, selv om de er inde i den kodende region. Det er fordi koden for aminosyrerne er inddelt i tripletter, således at der skal tre nukleotider til at definere, hvilken af de 23 aminosyrer, der er tale om. Da der er 64 mulige kombinationer af de 4 nukleotider, vil en del tripletter kode for den samme aminosyre. Tripletterne er organiseret sådan, at det altid er 3. position i tripletten, der kan varieres. D.v.s. at på ca. hver 3. plads i nukleotidrækkefølgen er en SNP neutral og vil ingen biologisk effekt have. Neutrale SNP'er, der ikke påvirker aminosyrerækkefølgen, kan dog

godt have biologisk effekt i enkelte tilfælde. Det sker ved at SNP'en påvirker stabiliteten af mRNA'et, mellemløddet mellem DNA og proteiner. Hvis stabiliteten af et mRNA nedsættes, når cellen ikke at syntetisere lige så store mængder af proteinet som før.

### Ændret regulering

De SNP'er, der potentielt har størst biologisk betydning, er i de områder, der regulerer genekspressionen, d.v.s. hvor meget protein, der dannes hvornår, og i hvilke celletyper. SNP'er af denne type kan påvirke genekspressionen af flere gener samtidigt, hvis de ændrer koden i et bindingssted for et regulatorisk protein.

Som det måske fremgår af det ovenstående, gør en SNP ofte ingen forskel. Enten ændres proteinet ikke eller også virker det alligevel fint, på trods af ændringen. Eller måske *har* proteinet nedsat funktionsevne uden at det gør noget, fordi proteinet katalyserer en delproces, der ikke er det begrænsende led i den samlede proces.

### Vigtig information

Det at en SNP ikke har direkte biologisk betydning betyder ikke, at den er uinteressant. Overhovedet ikke. Men den er interessant på en anden måde. En sammenhæng mellem en SNP og forekomsten af en sygdom indikerer, at der i dette kromosområde findes en mutation, der har betydning for sygdommen – enten lige her, et andet sted i samme gen eller i et af de nærliggende gener. Det gør jagten på de processer og proteiner, der er involveret i f.eks. kræft lettere, fordi SNP-nettet er både følsomt og finmasket. Der vil altid være mange SNP'er, der nedarves sammen med den SNP, der virkelig gør forskellen. Det er altså endnu en metode til at finde ud af hvilke funktioner, hvert enkelt af de 30.000 proteiner varetager. Og det er vigtige brikker for at kunne løse det store puslespil, som f.eks. kræft udgør.

---

## Sundhedsmæssige virkninger af 6-om-dagen

*Af Lars O. Dragsted, Institut for Fødevarerikkerhed og Toksikologi*

---

*En undersøgelse af kostens indflydelse på en række biomarkører, der anvendes i miljømedicinske undersøgelser.*

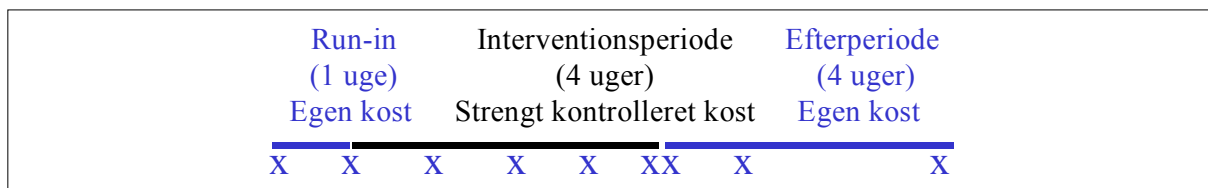
Biomarkørundersøgelser er et vigtigt redskab i miljømedicinen. Der kommer til stadighed nye markører til, og de dækker tilsammen mange virkningsmekanismer. Oxidative skader, DNA-skader, øget antioxidativt forsvar, hormonpåvirkninger og ændret forsvar mod kemiske belastninger er nogle af de virkninger, der er vigtige at monitorere i undersøgelser af ydre miljøfaktorer og arbejdsmiljøfaktoreres mulige indflydelse på menneskers helbred. Præcis samme markører er også dem, vi ser efter for at finde forklaringer på kostens indflydelse på helbredet. Dette åbner selvsagt for den mulighed, at kosten kan føre til forvrængninger af miljømedicinske undersøgelser, der ikke har inddraget kostfaktorer.

Der er en bestemt kostfaktor, som er særligt betydende i epidemiologiske undersøgelser af sammenhængen mellem kost og kroniske sygdomme, nemlig indtaget af vegetabiliske levnedsmidler. Frugt, grøntsager, juicer, te, krydderier osv. er også særligt fremtrædende som effektive forebyggende kostfaktorer i dyreeksperimentelle undersøgelser. I disse undersøgelser er antioxidative virkninger, forbedret forsvar mod kemiske stoffer o.s.v. igen de mekanismer, der især synes vigtige. Antioxidierende vitaminer, folat, mineraler samt sekundære plantemetabolitter synes at være særligt vigtige indholdsstoffer i vegetabilisk kost og kan potentielt virke gennem sådanne mekanismer. Den sundhedsfremmende virkning af disse indholdsstoffer i frugt og grønt er en central hypotese i meget af den forskning i kost og sundhed, der i dag foregår mange steder i verden.

Der mangler imidlertid kontrollerede kostinterventionsstudier, hvor en bred vifte af biomarkører er undersøgt og sammenholdt med denne

hypotese. Vi har derfor med støtte fra Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter udbygget en kostinterventionsundersøgelse, der var igangsat med midler fra FØTEK3 under ledelse af prof. Brittmarie Sandström ved KVL, Forskningsinstitut for Human Ernæring (FHE). Frivillige forsøgspersoner fik en kost uden frugt og grønt (basiskost) eller basiskost med indhold af 600g frugt og grønt per dag igennem en måned. Valget af frugt og grønt blev gennemført, således at det afspejler danskernes relative forbrug i dag, ifølge Fødevaredirektoratets seneste kostundersøgelse. En tredje gruppe fik basiskost samt en pille med de vitaminer og mineraler, der var beregnet som indhold i de 600g vegetabilier, mens kontrolgruppen udover basiskosten fik en placebopille uden vitaminer og mineraler. Undersøgelsen kunne gennemføres delvist dobbeltblindt med disse to forskellige kontrolgrupper, men det er selvsagt vanskeligt at skjule 600g frugt og grønt i kosten for forsøgspersonerne. Alle måltider blev tillavet på FHE og givet individuelt til deltagerne, så de fik samme energi-, vitamin- og mineralindtag relativt til deres vægt. Anette Pedersen ved FHE stod for tilrettelæggelse og gennemførelse af undersøgelsen i det daglige.

Der blev planlagt mere end 50 biomarkøranalyser på de blod- og urinprøver, som indsamledes før, under og efter interventionen, heraf ca. halvdelen finansieret via SMF. Dette har givet en række laboratorier mulighed for også at deltage i undersøgelsen. Foruden FHE og Fødevaredirektoratets sektorforskningsinstitutter deltager også Institut for Folkesundhedsvidenskab ved KU samt forskere ved Arbejdsmiljøinstituttet, Rigshospitalet, andre KVL-institutter samt tre udenlandske laboratorier med biomarkøranalyser. I fig. 1 ses undersøgelsens design. Som det ses, ligger den afsluttende prøve efter de 4 ugers intervention tidsmæssigt midt imel-



Figur 1. Design af 6-om-dagen studiet. Tre parallelle grupper á 15-16 deltagere fik en basiskost suppleret med et dagligt tilskud af 600g frugt og grønt, sammensat i overensstemmelse med eksisterende danske kostvaner, en vitamin- og mineraltablet med samme indhold af mikronæringsstoffer som grøntsagerne, eller en placebotablet.

lem den første og den sidste kontrolprøve, som for hver enkelt deltager repræsenterer deres normale kost. Dette er vigtigt for at kunne balancere evt. sæsonvariationer ud, en fejlkilde, som vi har været plaget af i tidligere kostinterventionsstudier med tilhørende biomarkørundersøgelser. Biomarkørerne i det aktuelle studie repræsenterer 6 separate hypoteser om de sundhedsmæssige virkninger af frugt og grønt.

1. Frugt og grønt påvirker det oxidative stress i blodet, målt som oxidative skader på blodlipider (3 markører), blodproteiner (3), leucocyt-DNA (2) eller DNA-reparationsprodukter, udskilt i urin (1).
2. Frugt og grønt ændrer kroppens evne til at forsvare sig mod oksidativt stress, målt som aktiviteten af antioxidative enzymer (4), som expression af DNA-reparationsenzymer (2), og som aktiviteten af fase II-enzymmer (1), alle i blodet.
3. Frugt og grønt øger optagelsen af væsentlige grupper af naturlige antioxidanter i organismen (4) og øger blodets antioxidative kapacitet (2).
4. Frugt og grønt påvirker lipidstofskiftet (3) og forbedrer blodets kolesterolprofil (3).
5. Frugt og grønt ændrer niveauet af steroidhormoner i blodcirkulationen (4).
6. Frugt og grønt ændrer tarmfloraens sammensætning.

En yderligere central hypotese var, at vitamin- og mineralpillen ville påvirke visse af markørerne for oksidativt stress, især proteinoksidation, på samme måde som frugt og grønt.

De analyser, der blev tilføjet gennem bevillingen fra SMF, omfattede bl.a. analyser af kosten for naturlige antioxidanter samt analyser for en række carotenoider i plasma og analyser af forsøgspersonernes flavonoidudskillelse, så indtag

og biotilgængelighed af de antioxidanter, der ikke er vitaminer, bliver dokumenteret. En del naturlige indholdsstoffer i frugt har hormonlignende egenskaber, og påvirkningen af serumniveauer af forskellige steroidhormoner blev derfor også inkluderet. Også en bedre monitoring af oxidativt stress og forsvar indgik, herunder udskillelse af isoprostaner og DNA-repair produkter, expression af DNA-repair-gener m.fl. Endelig bidrog bevillingen til grundlaget for at tilføje den ekstra kontrolgruppe af forsøgspersoner, der fik et kosttilskud i pilleform.

Analyserne blev afsluttet her i forsommeren, så resultaterne er endnu ikke publiceret, og vi kan derfor ikke løfte sløret ret meget for dens resultater. Jeg kan dog sige så meget som at nogle af vore hypoteser blev understøttet af resultaterne, så undersøgelsen peger på nogle helt centrale måder, hvorpå frugt og grønt kan forebygge kroniske sygdomme. En lang række markører blev ganske overraskende ikke påvirket det ringeste af kostens frugt- og grøntindhold eller af indtagelsen af vitaminer og mineraler. Disse markører kan derfor trygt anvendes i miljømedicinske undersøgelser uden nogen korrektion for den almindelige danske variation i indtag af vegetabiliske kostkomponenter eller for deltagernes evt. brug af vitamin- og mineralpræparater, så længe indholdet svarer til, hvad vi tilførte i denne undersøgelse.

Vi forventer derfor, at resultaterne af vores undersøgelse vil blive flittigt brugt i planlægningen af nye miljømedicinske undersøgelser samt i videre undersøgelser af de sundhedsmæssige virkninger af frugt og grønt.



---

## De onde bakterier i maden!

Af M. Helms, P. Vastrup, P. Gerner-Smidt og K. Mølbak, Statens Serum Institut

---

Fødevarebårne infektioner med *Salmonella*, *Campylobacter* og *Yersinia* blev for flere år siden erkendt som et stigende sundhedsproblem i store dele af den industrialiserede verden. Senere fulgte *E. coli* O157 samt andre verotoksinproducerende *E. coli*, og senest er problemerne vedrørende antibiotikaresistens overført gennem jord-til-bord kæden blevet et aktuelt emne. I Danmark er de hyppigste årsager til zoonotisk bakteriel gastroenteritis »de tre store zoonoser«: *Campylobacter*, *Salmonella* og *Yersinia enterocolitica*.

Infektioner med disse bakterier bliver ofte beskrevet som i reglen godartede og selvlimiterende: Den typiske patient dør med få dage med diarré, feber og mavesmerter og er derefter rask igen. Kun få procent af infektionerne kompliceres af dehydrering og evt. nyrepåvirkning, spredning af bakterier uden for tarmen eller forskellige autoimmune følgetilstande.

Søger man i den medicinske litteratur, findes der imidlertid kun få arbejder, der systematisk søger at belyse dødelighed og senfølger efter disse infektioner. De fleste studier, som har belyst dette emne, er baseret på opfølgning af patienter efter udbrud (1), og det er svært at generalisere på baggrund af disse erfaringer. I et engelsk forløbsstudie har man undersøgt forekomsten af helbredsproblemer ved at interviewe en uselekeret gruppe af patienter, og her fandt man, at omkring 25% stadig har gastrointestinale symptomer 6 måneder efter infektion (2).

Formålet med det nærværende arbejde var at belyse de alvorlige følger efter infektioner med tarmpatogene bakterier, der sædvanligvis er fødevarebårne. Projektet, som er støttet af SMF, blev gennemført som et registerforskningsprojekt, baseret på data fra tarmbakterio-

logisk register ved Statens Serum Institut, Det Centrale Personregister, Landspatientregisteret samt Cancerregisteret. Ved at kombinere disse registre var det muligt at sammenligne dødeligheden for patienter med dødeligheden i den generelle danske befolkning og kontrollere for betydningen af anden underliggende sygelighed. Vores undersøgelse er den hidtil eneste, der på systematisk vis har belyst den akutte og forsinkede dødelighed i en stor og repræsentativ gruppe af patienter med disse bakterielle infektioner.

Undersøgelsen omfattede 48.857 patienter, diagnosticeret med zoonotisk *Salmonella*, *Campylobacter* sp., *Yersinia enterocolitica* eller *Shigella* sp. i perioden 1991 til 1999. For at sammenligne med dødeligheden i baggrundsbefolkningen blev der inddraget en referencegruppe på 487.150 personer, matchet på alder, køn og bopæl. Tabellen viser den relative dødelighed blandt patienter sammenlignet med denne baggrundsbefolkning.

Selv når den underliggende sygelighed bliver inddraget i analysen, er der en overdødelighed forbundet med infektion af disse bakterier. *Salmonella* Dublin, som har sit naturlige reservoir i kvæg, var forbundet med den højeste dødelighed. Denne serotype er kendt som en meget invasiv type. Men også de almindelige typer *S. Enteritidis* og *S. Typhimurium* var forbundet med en høj relativ dødelighed. Den typiske kilde til *S. Enteritidis* infektioner er æg, medens infektioner med *S. Typhimurium* ofte kommer fra svin eller fjerkræ (3). For hele gruppen af salmonella var dødeligheden signifikant forhøjet op til 1 år efter diagnosen. For *Campylobacters* vedkommende var der en mere beskedne overdødelighed, som efter 180 dage kun tenderede til at blive forhøjet (relativ risiko 1,2, 95% CI 0,9-1,7). Den samlede over-

Bakterie	Antal patienter	Antal (%) dødsfald	Relativ dødelighed (95% CI)	
			Summarisk	Justeret*
<i>Salmonella</i> (samlet)	26.974	812 (3,0)	3,6 (3,3-3,9)	2,6 (2,3-2,8)
<i>S. Enteritidis</i>	13.967	405 (2,9)	3,5 (3,1-3,9)	2,6 (2,3-3,0)
<i>S. Typhimurium</i>	6.988	197 (2,8)	3,7 (3,1-4,4)	2,5 (2,1-3,0)
<i>S. Dublin</i>	127	36 (28,3)	18,7 (10,6-33,0)	10,8 (5,8-20,1)
Andre <i>Salmonella</i>	5.892	174 (3,0)	3,1 (2,6-3,6)	2,2 (1,8-2,6)
<i>Campylobacter</i>	16.180	172 (1,1)	2,4 (2,1-2,9)	1,7 (1,5-2,1)
<i>Y. enterocolitica</i>	4.045	31 (0,8)	2,1 (1,4-3,2)	1,7 (1,1-2,6)
<i>Shigella</i>	1.685	11 (0,7)	2,3 (1,2-4,4)	1,8 (0,8-3,9)

Dødelighed efter infektioner med zoonotiske *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica* og *Shigella*. Tabellen viser den relative dødelighed blandt patienter sammenlignet med et udtræk af den danske befolkning, matchet for alder, køn og bopæl (10 ueksponerede per patient).

\*justeret for anden sygdom, inkl. maligne lidelser, HIV og andre immunsygdomme, diabetes, kronisk lever sygdom, lungesygdom, hjertesygdom, neurologisk lidelse med videre.

dødelighed forbundet med yersinose var af samme størrelsesorden som campylobacter, men dødeligheden var udelukkende forhøjet i de første 180 dage efter diagnosen. *Shigella* var forbundet med en høj dødelighed i 30 dage efter diagnosen (relativ risiko 31,8), hvorefter effekten hurtigt svandt.

I supplerende analyser valgte vi at fokusere på den sundhedsmæssige betydning af resistens i *S. Typhimurium*. Der er i litteraturen mange eksempler på, at brug af antibiotika i landbruget selekterer for antibiotikaresistente zoonotiske tarmpatogener, og at disse kan spredes gennem fødekæden og dermed give anledning

til at mennesker bliver syge (1,4-7). Men der er kun sparsomme data, der belyser den sundhedsmæssige betydning af resistens i disse bakterier ved at sammenligne sygdomsbyrden som følge af infektioner med resistente versus følsomme bakterier af samme kategori.

Vort materiale indeholdt data på 2.047 patienter med *S. Typhimurium* infektion, hvor der tillige var oplysninger om resistensforhold. Infektioner med resistente bakterier var generelt forbundet med en højere dødelighed end følsomme bakterier. Denne overdødelighed var især markant for infektioner med kinolonresistente *S. Typhimurium* (relativ risiko 10,2).

---

Samlet viser vores undersøgelse, at infektioner med fødevarerborne bakterier er forbundet med en dødelighed, der er større end hidtil antaget (8).

Der skal ikke være nogen tvivl om, at kronisk svær sygelighed forværrer prognosen af infektioner med tarmpatogene bakterier. Vores arbejde gennemhuller dog myten om, at dødsfald næsten udelukkende forekommer blandt disse allerede svært syge personer. En af forklaringerne på, at sådanne data hidtil ikke har været tilgængelige, er formentligt, at en del af dødsfaldene finder sted efter infektionens akutte fase. Denne forsinkede dødelighed kan være relateret til komplikationer af medicinsk eller kirurgisk art samt tilbagefald af den oprindelige infektion.

I vores fremtidige forskning vil vi analysere disse senfølger nærmere. En meget vigtig pointe berører problemstillingen vedrørende resistens som følge af landbrugets brug af antibiotika. Flourokinoloner, som f.eks. ciprofloxacin, er førstevalgspræparat til behandling af svære tarminfektioner. På grund af den her dokumenterede sundhedsrisiko som følge af kinolonresistens konkluderer vi, at brugen af kinoloner i landbruget bør begrænses mest muligt.

## Referencer

1. Holmberg SD, Wells JG, Cohen ML. Animal-to-man transmission of antimicrobial-resistant *Salmonella*. Investigations of U.S. outbreaks, 1971-1983. *Science* 1984;225:833-5.
2. Neal KR, Hebden J, Spiller R. Prevalence of gastrointestinal symptoms six months after bacterial gastroenteritis and risk factors for development of the irritable bowel syndrome: postal survey of patients. *BMJ* 1997;314:779-82.
3. Annual report on zoonoses in Denmark, 2000. (<http://130.226.165.6/annualreport2000/index.html>)
4. Holmberg SD, Osterholm MT, Senger KA, Cohen ML. Drug-resistant *Salmonella* from animals fed antimicrobials. *N Engl J Med* 1984;311:617-22.
5. Mølbak K, Baggesen DL, Aarestrup FM, Ebbesen JM, Engberg J, Frydendahl K, Gerner-Smith P, Petersen AM, Wegener HC. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT 104. *N Engl J Med* 1999; 341:1420-5.
6. Walker RA, Lawson AJ, Lindsay EA, Ward LR, Wright PA, Bolton FJ, Wareing DR, Corkish JD, Davies RH, Threlfall EJ. Decreased susceptibility to ciprofloxacin in outbreak-associated multiresistant *Salmonella* 6 typhimurium DT104. *Vet Rec* 2000;147:395-6.
7. Angulo FJ, Johnson KR, Tauxe RV, Cohen ML. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Microb Drug Resist* 2000;6:77-83.
8. Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999;5:607-25.

---

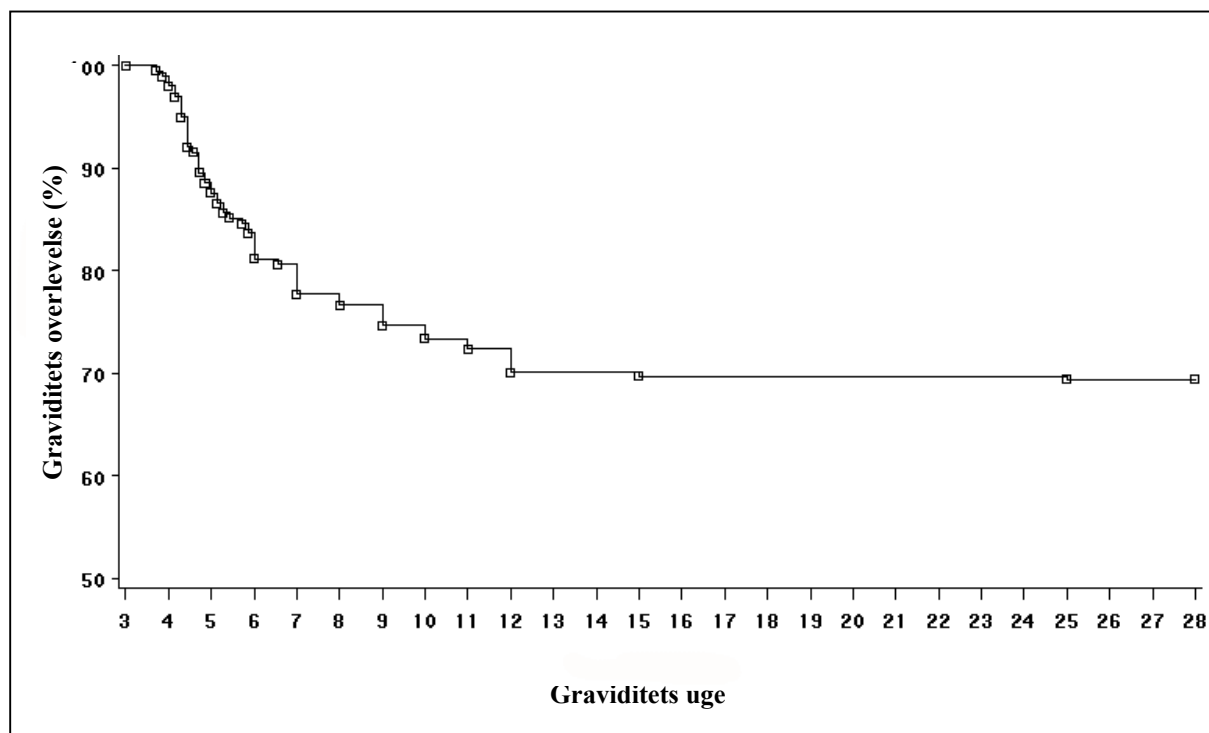
## Miljø og abort

*Af Henrik Hjøllund, Aarhus Universitetshospital*

---

Ufrivillig abort er et af de hyppigste uønskede graviditetsudfald. Cirka 10% af alle graviditeter ender med en abort, som kræver hospitalsindlæggelse, mens et endnu større antal aborter sker på et så tidligt tidspunkt, at hospitalsbehandling ikke er nødvendig; ja, ofte er kvinden ikke engang selv klar over, at hun har været kortvarigt gravid. Det er nu muligt at følge gra-

viditeterne helt fra begyndelsen ved at følge kvinder mens de prøver at blive gravide. Hvis kvinden opsamler urinprøver hver morgen, kan man med følsomme analysemetoder påvise selv de helt tidlige aborter, og danske undersøgelser viser, at den samlede aborthyppighed er ca. 30% (se figur).



Den sikreste viden om årsager til spontan abort opnås, hvis man kan følge graviditeten helt fra begyndelsen. I hidtidige studier har man kun kunnet se på ufrivillige aborter i graviditeter, som i forvejen var konstateret af kvinden, og mange studier har yderligere afgrænset sig til aborter, som har medført hospitalsindlæggelse. Disse studier medtager kun mellem halvdelen

og en tredjedel af samtlige aborter og medfører vanskeligt tolkelige fund, da alle kvinder ikke opdager deres graviditet på samme tidspunkt. Hvis der er forskel på dette tidspunkt mellem eksponerede og ueksponerede individer, kan man få meget upålidelige resultater (selektionsbias).

---

Der er derfor brug for studier baseret på tidlig og pålidelig verificering af svangerskabet, og den nu udstrakte brug af *in vitro* fertilisation (IVF) behandling åbner for forbedrede muligheder for at undersøge årsager til ufrivillig abort. Med væksten i IVF behandling er det nu for første gang blevet praktisk gennemførligt at undersøge risikofaktorer for tidlige fostertab i en større målestok. I Danmark har vi specielt gode forudsætninger for at lave denne type undersøgelse, idet samtlige landets IVF klinikker ifølge loven skal indberette behandlingerne til Sundhedsstyrelsen.

Bortset fra kvindens alder er årsagerne til ufrivillig abort i vid udstrækning ukendte. En andel af tidlige aborter udviser alvorlige abnormiteter i arveanlæggene. Man regner med at disse aborter er et resultat af naturens egen kontrolmekanisme, hvor fostre med alvorlige misdannelser sorteres fra. Såvel tidlige som senere aborter af tilsyneladende normale fostre kan skyldes genotoksisk påvirkning af såvel moderen som faderen.

Idet kvindens forhold p.g.a. IVF behandlingen adskiller sig markant fra hendes hverdag, kan denne type undersøgelse næppe bidrage med sikre oplysninger om risikofaktorer i kvindens arbejdsmiljø, og undersøgelsen retter sig derfor i første række mod mandens miljø- og livsstilsforhold. Det står klart, at mandens miljø- og arbejdsmiljøpåvirkninger kan have betydning for frugtbarheden, og en række fag og arbejdsmiljø eksponeringer er sat i forbindelse med øget risiko for spontan abort, om end resultaterne ikke altid stemmer overens. Der er fra dyreforsøg solid dokumentation for, at påvirkning af handyret forud for parringen kan øge frekvensen af efterfølgende fosterresorptioner (tidlige aborter). Dette er tilfældet for visse medicinske præparater, kemiske bekæmpelsesmidler og metaller, men også for mere almene påvirkninger, så som alkohol. Det er ønskeligt at få afprøvet disse resultater i humane studier, og fra et forebyggelsessynspunkt har det derfor betydelig interesse at afdække miljø- og individrelaterede årsager til tidlige fostertab.

Vi er nu i gang med et nyt projekt, hvor vi vil udarbejde den første systematiske oversigt over risiko for ufrivillig abort fordelt på faderens fag og branche\*. Endvidere vil vi se på en række specifikke hypoteser om mandens arbejdsmiljø og livsstilsforhold, nemlig:

*Svejsning på rustfrit stål.* I en tidligere mindre undersøgelse viste det sig, at partnere til rustfrit stål svejsere havde en flerfold øget risiko for abort. Indtil videre er dette det tydeligste eksempel på, at faderens erhvervseksposering kan spille en rolle. Vi mener, at det kan skyldes luftbåren udsættelse for hexavalent krom, hvilket er i overensstemmelse med studier med forsøgsdyr. Det er vigtigt at få undersøgt dette nøjere.



*Det aromatiske opløsningsmiddel styren.* Styren ser ikke ud til at påvirke sædkvaliteten, men måske kan det ændre strukturer inde i sædcellen. Det er derfor vigtigt at sikre, at udsættelsen ikke øger risikoen for abort.

*Bekæmpelsesmidler i landbrug og gartnerier.* Pesticider ser ikke ud til at forårsage nedsat frugtbarhed hos landbrugere, men blandt væksthusholdere giver nye undersøgelses-

---

resultater mistanke om nedsat sædkvalitet og længere ventetid til graviditet, og flere udenlandske resultater støtter disse fund. Dyreforsøg har vist øget frekvens af fostertab blandt par, hvor handyret var behandlet med visse ældre pesticider før parringen.

*Livsstilsforhold.* I dyreforsøg har behandling af dyr med almindelig alkohol forud for parringen vist at øge risikoen for abort hos rotter og mus. Vi ved ikke sikkert, hvad det betyder for mennesker. Betydningen af moderens livsstilsforhold vil tilsvarende blive belyst.

Undersøgelsen er en historisk opfølgingsundersøgelse af par, der opnår graviditet ved IVF behandling for infertilitet. Hyppighed af fostertab fra 14 dage efter ægoplægning undersøges i forhold til faderens eksponeringer. Vi venter, at undersøgelsen kan omfatte cirka 5000 graviditeter, så selv ret sjældne eksponeringer som rustfrit stål svejsning og styrenarbejde kan undersøges.

Oplysninger om arbejdsmiljø og livsstil indhentes med et spørgeskema. For mænd beskæftiget inden for udvalgte områder udsendes et mere detaljeret spørgeskema. Studiet forventes afsluttet i slutningen af 2002.

\* Projektets fulde titel: Risiko for tidlige embryonaltab. En follow-up undersøgelse af miljø- og livsstilsrelaterede determinanter for abort i et dansk IVF klientel.

Projektet støttes af SMF og Statens Sundhedsvidenskabelige Forskningsråd.

## **AMI dokumentationsrapporter**

*AMI dokumentationsrapport nr. 5 – Kvalitetskrav for rengøring i kontorer, skoler og daginstitutioner. Pris kr. 48,-.*

Rapporten indeholder en beskrivelse af et målesystem til vurdering af rengøringskvalitet samt en strategi til gennemførelse af en sådan vurdering for hårde overflader i kontorer,

hårde overflader i skoler og daginstitutioner, samt tekstile gulvoverflader i kontorer. Målesystemet kan anvendes i forbindelse med arbejdspladsvurderinger eller tilsynsarbejde.

*AMI dokumentationsrapport nr. 6, Interventionsundersøgelser i indeklimaet. Pris kr. 32,-*

Rapporten giver en bred introduktion til centrale problemstillinger og beskriver de grundlæggende forhold om interventionsundersøgelser i indeklimaet. Endvidere indeholder den forslag til fremtidige interventionsundersøgelser på indeklimaområdet. Målgruppen for rapporten er personer, som vil være med til at initiere interventionsundersøgelser.

*AMI dokumentationsrapport nr. 7 - Tunge løft og lænderygbesvær - belysning af forværende faktorer. Pris kr. 120,-.*

Rapporten er en opdatering af dokumentationsrapporten ”Lænderygbesvær og belastning ved tunge løft” fra 1987.

Rapporterne fås hos At-salg, tlf.: 3915 2526, e-mail: [atsalg@arbejdstilsynet.dk](mailto:atsalg@arbejdstilsynet.dk). Priserne er eksklusiv moms og forsendelse. Kan desuden downloades fra Arbejdsmiljøinstituttets hjemmeside [www.ami.dk](http://www.ami.dk).

## **Temarapport fra DMU**

*Minedrift og miljø i Grønland, TEMArapport fra DMU nr. 38, 56 sider. Pris kr. 50,-.*

Rapporten beskriver, hvordan miljøet bliver påvirket af minedrift og mineralefterforskning og hvordan disse aktiviteter kan foregå på en miljømæssig forsvarlig måde.

Rapporten kan købes i boghandelen og hos Danmarks Miljøundersøgelser, telefon 4630 1200 eller i Miljøbutikken, telefon 3395 4000. Kan desuden ses på DMUs hjemmeside [www.dmu.dk](http://www.dmu.dk).

---

# Identifikation og detektion af bakterier fra *Bacillus cereus* gruppen

Af N. Bohse Hendriksen, B. Munk Hansen og S. Binnerup, Danmarks Miljøundersøgelser

---

Bakterieslægten *Bacillus* består af op imod 200 forskellige arter. De er alle karakteriserede ved at være grampositive stave, der kan danne endosporer. Endosporerne er yderst resistente over for ekstreme påvirkninger som varme og tørke. Bakterier fra slægten findes vidt udbredt i naturen og er blevet isoleret fra så ekstreme steder som basiske varme kilder og den antarktiske indlandsis. De er traditionelt blevet isoleret på selektive agarmedier efter pasteurisering af prøverne. Pasteuriseringen slår de fleste ikke sporedannende bakterier ihjel. Efterfølgende er isolaterne blevet identificeret ved hjælp af forskellige morfologiske karakterer og biokemiske analyser.

*Bacillus cereus* gruppen er en gruppe inden for slægten, som er karakteriseret ved at have elipsoide sporer i et ikke opsvulmet sporangium og ved at producere lecithinase. Gruppen består af arterne *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. mycoides* og *B. thuringiensis* samt de nybeskrevne arter *B. pseudomycoides* og *B. weihenstephanensis*. Bakterier fra gruppen er meget almindelige i miljøet, og det vil typisk være muligt at finde cirka  $10^5$  *B. cereus* og *B. mycoides* sporer per gram jord, og de er også ganske almindelige i fødevarer som mælk, grøntsager, melprodukter og krydderier.

Differentieringen mellem *B. cereus* og de øvrige arter i gruppen beror på følgende karakterer: Bevægelse og hæmolytisk aktivitet (*B. anthracis*), bevægelse og ikke-rhizoid-vækst (*B. mycoides*), fravær af krystallinske  $\delta$ -endotoksiner (*B. thuringiensis*) og vækst ved temperaturer under  $7^{\circ}\text{C}$  (*B. weihenstephanensis*) mens *B. pseudomycoides* formodes at være en genetisk distinkt art, som måske kan adskilles fra de øvrige arter ved dens fedtsyresammen-

sætning. I de allerseneste år er der dog blevet sat et stort spørgsmålstegn ved validiteten af denne arts inddeling. Dette skyldes, at en række forskellige genetiske analyser sandsynliggør, at stammer inden for den enkelte art er nærmere beslægtet med stammer fra andre arter end med andre stammer fra den samme art. Dette betyder, at den enkelte art muligvis ikke har en monofyletisk oprindelse, men snarere er opstået flere af hinanden uafhængige gange. Dette illustreres nemmest ved at se på forskellen mellem *B. cereus* og *B. thuringiensis*. Forskellen mellem disse to arter er som nævnt *B. thuringiensis* produktion af  $\delta$ -endotoksiner; generne, der koder for disse toksiner, er placeret på et eller flere store plasmider. Hvis en *B. thuringiensis* taber sit plasmid, så kan den ikke kendes fra en *B. cereus*, og hvis en *B. cereus* optager et sådant plasmid, så vil den ikke kunne kendes fra en *B. thuringiensis*, ja, den vil faktisk skulle kaldes *B. thuringiensis*. Såvel plasmidtab som optagelse er blevet påvist eksperimentelt.

*B. anthracis* og *B. cereus* kan forårsage sygdom. *B. anthracis* den meget sjældne, men ofte fatale, miltbrand. En sygdom, som er blevet aktualiseret af debatten om biologisk krigsførelse og bioterrorisme. *B. cereus* kan primært forårsage opkastninger eller diarræer, men er dog også kendt fra en række andre somatiske lidelser, som øjen- og sårinfektioner.

Opkastningerne skyldes et emetisk toksin, som er et lille varmestabilt cyklisk peptid, der dannes i fødevarer under bakteriernes vækst. Denne infektion er især kendt fra pasta og ris, som efter kogning er blevet henstillet ved stuetemperatur i længere tid og derefter blevet spist. Symptomerne kommer nogle få timer efter

---

spisningen, og varer typisk et døgn tid. Det er kun et begrænset antal *B. cereus* stammer, som ser ud til at kunne producere det emetiske toksin.

Diarreerne tilskrives forskellige grupper af enterotoksiner, som produceres under bakteriens vækst i tarmen. Denne infektion er ikke begrænset til nogen speciel gruppe af fødevarer, men er dog ofte set i forbindelse med dårligt opbevarede frikadeller, mælkesovse og desserter. Symptomerne kommer 8 til 16 timer efter spisningen af det inficerede produkt og varer typisk et par døgn.

Der er beskrevet fire forskellige enterotoksiner fra *B. cereus*; de to er proteinkomplekser, mens de to andre er enkeltproteiner. De to proteinkomplekser er et hæmolytisk (HBL) og et ikke-hæmolytisk enterotoksin (NHE); begge komplekserne består af tre proteiner med forskellige funktioner. Generne, der koder for proteinerne, er for begge komplekser kendte og sekventerede. De to enterotoksiner, som består af et enkeltprotein, er vidt forskellige. Det ene (CytK) er isoleret fra en stamme, som forårsagede et meget alvorligt tilfælde af fødevarerforgiftning på et hospital i Frankrig, mens det andet (bc-D-ENT) endnu ikke er sat i forbindelse med infektioner hos mennesker. Generne, der koder for de to proteiner, er kendte og sekventerede.

Ved hjælp af PCR analyser, med primere designet ud fra gensekvenserne, er forekomsten af generne, som koder for disse fire enterotoksiner inden for *B. cereus* gruppen, blevet undersøgt. Undersøgelserne viser, at de to proteinkomplekser, samt bc-D-ENT er vidt udbredte i stammer fra alle arter, og meget ofte er alle tre enterotoksiner til stede. Det synes at være væsentligt mere almindeligt, at stammer potentielt set kan producere disse enterotoksiner end at de ikke kan. Derimod synes CytK at have en meget begrænset udbredelse, idet det hidtil ikke har været muligt at finde nye stammer, som besidder generne. Der er desuden en række andre mindre kendte virulensfaktorer, som

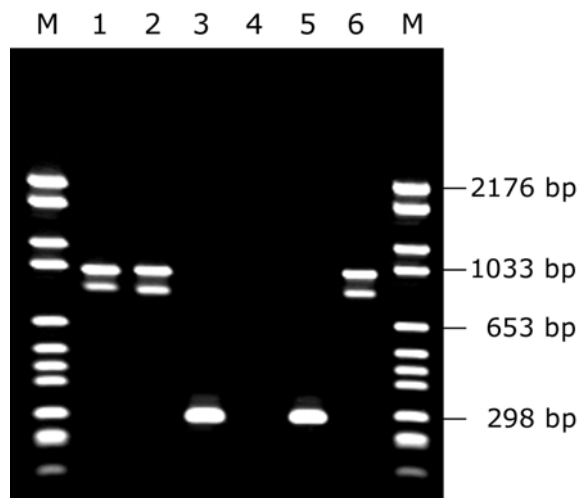
f.eks. en række hydrolytiske enzymer, kendt fra *B. cereus* gruppen.

Dette betyder, at det er yderst relevant at udvikle teknikker, som på en sikker og enkel måde kan benyttes til at identificere, karakterisere, detektere og kvantificere celler fra *B. cereus* gruppen i miljø- og fødevarerprøver. Vi har derfor med støtte fra SMF udviklet en DNA baseret teknik, som kan benyttes til at identificere *B. cereus* gruppe celler isoleret fra miljøprøver og fødevarer. Denne analysemetode kan også benyttes til en direkte kvantificering af bakterierne i fødevarer. Vi er desuden ved, med udgangspunkt i analysen, at udvikle en metode, der kan benyttes til direkte, mikroskopibaseret detektion og kvantificering af *B. cereus* gruppe celler i jord og fødevarer.

Vi valgte, som udgangspunkt for en gruppespecifik detektionsteknik, at koncentrere os om generne, som koder for 16S rRNA. Disse gener er kendt for at være særdeles konserverede inden for den enkelte art, og vi forventede, at det ville være muligt at identificere regioner inden for genet, som var specifikke for gruppen. Vi benyttede derfor et computerprogram, som ud fra en database, som indeholder alle kendte sekvenser af 16S rRNA gener, kan finde områder inden for genet, som er specifikke for en art eller en gruppe af bakteriearter. På denne måde fandt vi to områder, på hver 18 nukleotider inden for genet, som sandsynligvis var specifikke for hele *B. cereus* gruppen. Databasen viste, at der i relation til det ene område var fuldstændig homologi inden for de 28 kendte *B. cereus* gruppe sekvenser, mens der for det andet område var en sekvens, som varierede med hensyn til et nukleotid. Databasen viste også, at forskellen fra disse to områder til andre bakteriearter i et tilfælde var på tre nukleotider ellers på fire eller flere.

Vi forsøgte herefter at benytte oligonukleotider, syntetiseret ud fra disse to områder, som primere i en PCR reaktion til identifikation af typestammerne af *B. cereus* og *B. subtilis*. PCR reaktionerne burde resultere i dannelse af et





Figur 1. PCR analyse af en *B. cereus* eller en *B. subtilis* med enten et universelt, et *B. cereus* gruppe specifikt primersæt eller de to sæt i kombination. Spor 1: *B. cereus* med et universelt primersæt. Spor 2: *B. subtilis* med et universelt primersæt. Spor 3: *B. cereus* med et *B. cereus* gruppe specifikt primersæt. Spor 4: *B. subtilis* med et *B. cereus* gruppe specifikt primersæt. Spor 5: *B. cereus* med et universelt og et *B. cereus* gruppe specifikt primersæt i kombination. Spor 6: *B. subtilis* med et universelt og et *B. cereus* gruppe specifikt primersæt i kombination.

288 nukleotider langt produkt ved tilstedeværelse af *B. cereus* DNA, mens *B. subtilis* DNA ikke burde resultere i dannelse af produkt. På figur 1 kan man i spor 4 og 5 se resultatet af disse reaktioner; med *B. cereus* dannes der et produkt med den korrekte størrelse, med *B. subtilis* ses intet produkt.

Et af problemerne med PCR baseret identifikation af bakterier er falske negative resultater, hvor man altså ikke får dannet et PCR produkt, på trods af at den rigtige bakterie er til stede. Falske negative resultater kan f.eks. skyldes en forfejlet DNA oprensning eller tilstedeværelse af PCR reaktion hæmmende stoffer. Vi valgte derfor at forsøge at inkludere et universelt primersæt, altså et primersæt, der burde give en reaktion med alt bakterielt DNA, i vores PCR reaktion. Resultaterne af PCR reaktioner med

dette primersæt fremgår af fig. 1, spor 1 og 2; såvel *B. cereus* som *B. subtilis* giver ophav til produkter. Til vores overraskelse gav reaktionen med det universelle primersæt øjensynligt ophav til to produkter; sekvensanalyser af disse to produkter viste dog, at produkterne var identiske, og det, som ses på vores geler, er altså to forskellige konformationer af det samme produkt. Til sidst forsøgte vi at kombinere de to primersæt i den samme reaktion (fig. 1, spor 5 og 6) og fandt, at *B. cereus* gav ophav til et produkt, som svarer til det specifikke primersæt, mens *B. subtilis* gav ophav til et produkt svarende til det universelle primersæt. Det var altså øjensynligt lykkedes os at designe en PCR analyse med to udvalgte primersæt, som ved tilstedeværelse af *B. cereus* gruppe DNA giver ophav til et specifikt produkt, mens tilstedeværelse af andet bakterielt DNA giver ophav til et universelt produkt.

Vi afprøvede herefter PCR analysen, for at teste specificiteten af PCR proceduren, med 15 *B. cereus*, 20 *B. thuringiensis*, 4 *B. mycooides*, 1 *B. pседomycooides* og 1 *B. weihenstephanensis* stammer. Alle disse stammer gav ophav til et produkt svarende til det specifikke primersæt. Desuden testede vi proceduren med DNA fra 34 forskellige, ikke *B. cereus* gruppe, *Bacillus* arter og de få, ikke *Bacillus* arter, som ifølge database analysen havde størst homologi med primerne, og fandt, at de alle gav ophav til produkt dannelse med de universelle primere, men ikke med de specifikke. Dette betyder, at den designede PCR analyse med stor specificitet identificerer *B. cereus* gruppe celler.

Vi har siden brugt analysen på en lang række stammer isoleret fra mennesker, fødevarer og miljøprøver, hvilket yderligere har konfirmeret analysens anvendelighed. Analysen kan anvendes, i kombination med en karakterisering af det enkelte isolat med hensyn til potentiel produktion af virulensfaktorer, hvortil vi har udviklet en større samling af primersæt, til at vurdere risikoen for *B. cereus* gruppe infektioner ved spisning eller anden form for indtagelse, f.eks. via luften af celler fra gruppen.



Figur 2. Fotografi af en koloni af *B. cereus* celler hybridiseret med en fluorescerende *B. cereus* gruppe specifik oligonukleotid.

Herefter prøvede vi at benytte PCR analysen til detektion af *B. cereus* gruppe celler direkte i fødevarer uden forudgående dyrkning af bakterierne. Vi inficerede kogt ris med *B. cereus* celler og forsøgte så at oprense DNA direkte fra risene og benytte analysen på dette DNA. Analyserne viste, at vi kunne detektere *B. cereus* celler i ris, som blev inficeret med 1-5 *B. cereus* celler pr gram og derefter efterladt ved stuetemperatur i 12-16 timer; på dette tidspunkt indeholdt risen ca. 150 celler/g. Dette betyder, at analysen er anvendelig til en direkte detektion af *B. cereus* gruppe celler i fødevarer under forudsætning af, at det er muligt at oprense DNA fra fødevarer på en reproduktiv måde.

I dag prøver vi at benytte sekvenserne af de specifikke primere til mikroskopi-baseret *in situ* detektion af *B. cereus* celler. Sekvenserne er blevet benyttet til at syntetisere to fluorescerende prober rettet mod 16S rRNA. Disse to prober har vi så benyttet til hybridiserings-eksperimenter med forskellige vegetative *B.*

*cereus* celler. Eksperimenterne viser, at begge prober binder sig til cellernes rRNA og derefter giver mulighed for at detektere cellerne i et fluorescens mikroskop (Fig. 2). Vi har derefter afprøvet probernes specificitet og fundet, fuldstændig svarende til resultaterne med de specifikke primere, at proberne er specifikke for *B. cereus* celler.

Vi forsøger nu at videreudvikle denne detektionsteknik til at kvantificere og adskille vegetative celler og sporer i jordprøver og fødevarer. Desuden håber vi, at metoden vil være anvendelig til direkte at studere cellernes vækst og morfologi i naturlige prøver.

## Litteratur

Hansen BM, Leser TD, Hendriksen NB. Polymerase chain reaction assay for the detection of *Bacillus cereus* group cells. FEMS Microbiology Letters, 2001; 202,209-213.

Hansen BM, Hendriksen NB. Detection of Enterotoxic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* Strains by PCR Analysis. Applied and Environmental Microbiology, 2001; 67,185-189.

Hansen BM, Salamiou S. Virulence of *Bacillus thuringiensis*. In J.F. Charles et al. (eds) Entomopathogenic Bacteria: From laboratory to Field Applications. 2000; 41-64.

Hansen BM, Winding A, Johansen JE, Jacobsen BL. De gode, de onde og de grusomme bakterier. Temarapport fra DMU, 2000.

Hendriksen NB, Hansen BM. Phylogenetic relations of *Bacillus thuringiensis*: implications for risks associated to its use as a microbiological pest control agent. IOBC Bulletin 1998; 21,221-224.

---

## Center for Miljørelateret Kræft (CEMIK)

*Af Steffen Loft, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet*

---

I år 2000 blev der i forbindelse med kræft-handlingsplanen udbudt "Nye midler til intensiveret miljømedicinsk forskning på kræftområdet" via Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter. En del af midlerne kunne anvendes til dannelse af et center, der kunne bidrage væsentligt med ny erkendelse om sammenhæng mellem miljø og kræft og med forskeruddannelse på dette område. På denne baggrund blev Center for Miljørelateret Kræft (CEMIK) dannet efter to ansøgningsrunder og international evaluering. CEMIK er et samarbejde mellem en række institutioner på området. CEMIK ledes af professor i miljømedicin Steffen Loft og af en bestyrelse, der derudover består af Finn Gyntelberg, Ole Hertel, Anne Tjønneland, Ole Raaschou-Nielsen, Herman Autrup og Ulla Vogel (se box).

CEMIK har valgt at fokusere på lunge- og brystkræft, som er de to væsentligste kræftformer i den vestlige verden, herunder Danmark. Betydelige medvirkende årsager og modificerende faktorer for udvikling af disse kræftformer skal sandsynligvis findes i det omgivende miljø og visse livsstilsfaktorer, herunder kostens sammensætning. Trafikgenereret luftforurening kan meget vel være det væsentligste ydre miljøproblem i Danmark. For at kunne forebygge optimalt gennem regulering og rådgivning er det afgørende at identificere risikofaktorer, dosis-respons sammenhænge og interaktioner. Bryst- og lungekræft ser ud til at have flere fælles mekanistiske forhold og risikofaktorer, herunder følsomhedsforhold knyttet til metabolisme og individuel evne til DNA reparation.

Danske registre, befolkningsundersøgelser og nye metoder til vurdering af eksponering og individuel følsomhed giver optimale betingel-

ser for at undersøge sammenhænge mellem miljøfaktorer og kræft. CEMIK kan udnytte disse muligheder gennem en stærk samlet tværfaglig indsats fra forskere inden for kræft-epidemiologi, biomedicin/kræftmekanismer og måle- og modelleringsteknik, hvilket vil give betydelige synergieffekter.

### Deltagere i CEMIK

Arbejdsmedicinsk Klinik, *Bispebjerg Hospital og Hovedstadens Prospektive Befolkningsundersøgelser*: prof., dr. med. Finn Gyntelberg.

Arbejds miljøinstituttet (AMI): seniorforskere Ulla Vogel og Håkan Wallin.

Danmarks Miljøundersøgelser, *Afd. for Atmosfærekemi (DMU)*: seniorforsker, dr. scient. Ole Hertel, ph.d. Steen Solvang Jensen.

Fødevarer direktoratet, *Inst. for Fødevarer sikkerhed og Toksikologi (FD)*: sektionsleder, ph.d. Lars Dragsted, ph.d. Bahram Daneshvar.

Kræftens Bekæmpelse, *Inst. for Epidemiologisk Kræftforskning*: seniorforsker, ph.d. Anne Tjønneland, seniorforsker, ph.d. Ole Raaschou-Nielsen, ph.d. Johnni Hansen, ph.d. studerende Anja Olsen og Helle Bak.

Københavns Universitet, *Inst. for Folkesundhedsvidenskab, Afd. for Miljø- og Arbejdsmedicin*: prof., dr. med. Steffen Loft, lektor, ph.d. Lisbeth Knudsen, adjunkt, ph.d. Peter Møller, Mette Sørensen, Anja Wellejus.

Aarhus Universitet: *Inst. for Miljø og Arbejdsmedicin*: prof., ph.d. Herman Autrup.

Aarhus Universitet: *Inst. for Epidemiologi og Socialmedicin*: lektor, ph.d. Kim Overvad.

Aarhus Universitet: *Inst. for Human Genetik*: lektor, lic.scient. Bjørn A. Nexø.

---

## CEMIKs formål er:

1. at identificere miljørelaterede risikofaktorer for udvikling af brystkræft. De centrale hypoteser er:
  - a) oksidativt stress, som følge af energirig kost, udsættelse for hormonforstyrrende stoffer og/eller andre miljøfaktorer, som opløsningsmidler og forbrændingsprodukter (PAH), øger risikoen for brystkræft;
  - b) evnen til omsætning af østrogen og fremmedstoffer og til DNA-reparation modificerer risikoen knyttet til disse faktorer;
  - c) kost, der er rig på frugt og grønt, beskytter mod brystkræft gennem styrkelse af organismens antioxidative forsvar.
2. I relation til lungekræft er det formålet at belyse hypoteserne,
  - a) udsættelse for trafikgenereret luftforurening øger risikoen for lungekræft,
  - b) kost, der er rig på frugt og grønt, beskytter mod lungekræft og
  - c) måling af biomarkører for eksponering i kombination med bestemmelse af genetisk betingede evner til metabolisme af fremmedstoffer og DNA-reparation kan anvendes til at identificere følsomme personer med høj risiko for senere at udvikle lungekræft.

Til belysning af risikofaktorer for brystkræft er baggrundspopulationen de ca. 30.000 kvinder, der blev indrullet i Kræftens Bekæmpelses Kost Kræft og Helbreds-undersøgelse i 1993-97. Deltagerne besvarede detaljerede spørgeskemaer og interview om kost, livsstil, vægt, reproduktion, amning og hormonbehandlinger. De fik endvidere foretaget antropometriske målinger og fik taget forskellige biologiske prøver, bl.a. blod, urin og fedtbiopsier.

Til belysning af risikofaktorer for lungekræft benyttes baggrundspopulationerne i Befolkningsundersøgelserne i København (HCPB: Glostrup, Østerbro og Copenhagen Male Study) i alt ca. 30.000, som har afgivet livsstils- (bl.a. ryge-) og delvise kost- og erhvervsoplysninger og er observeret i op til 30 år, samt fra Kost Kræft og Helbreds-undersøgelsen med ca. 57.000 deltagere med observation i op til 7 år. Eksponering for luftforurening vurderes ved hjælp af en etableret model, som er under stadig udbygning: OSPM (Operational Street Pollution Model - se Miljø og Sundhed nr. 17, september 2001).

For begge problemstillinger vurderes eksponeringer, respons og individuel følsomhed ved brug af biomarkører i Kost, Kræft og Helbreds-kohorten. Der fokuseres på den genetisk betingede evne til at omsætte fremmedstoffer (metabolisme enzymer) og til reparation af skader på arvematerialet (DNA reparations enzymer - se også figuren side 32 vedr. helbredseffekter af trafikgenereret luftforurening).

CEMIKs arbejde er kommet godt i gang. Der arbejder to ph.d. studerende i projekterne. Foreløbigt er alle kræfttilfælde og kontrolpersoner identificeret og de tilhørende biomarkørprøver er fundet frem. Der forestår nu et spændende analysearbejde. Det er givet, at der i løbet af de tre år, bevillingen varer, vil fremkomme væsentlig viden om sammenhænge mellem miljøfaktorer og lunge- og brystkræft, der vil vække international opmærksomhed.

Udover de direkte bidrag med viden til risikovurdering og forebyggelsesstrategier vil CEMIK bidrage med forskeruddannelse og etablering af et tværfagligt forskningsmiljø, som vil være veludrustet og motiveret til at adressere andre betydelige miljømedicinske problemer på et fagligt højt niveau.

---

## Abstracts fra SMFs jubilæumsmøde 9. november 2001

---

### Modeller for human eksponering

Af Ole Hertel,  
Danmarks Miljøundersøgelser

Danmark ligger placeret i et område med generelt koldt, blæsende og fugtigt kystklima. Blandt andet derfor er koncentrationerne af luftforurening typisk moderate sammenlignet med Syd- og Østeuropa, som samtidig har højere emissionstætheder og mere intens foto-kemi. Imidlertid giver effekter af luftforurening i Danmark fortsat anledning til bekymring, bl.a. i relation til helbredseffekter af specielt fine og ultrafine partikler.

Overvågning af luftkvaliteten i Danmark finder sted inden for Det Landsdækkende Luftkvalitetsmåleprogram (LMP) og inden for Det Landsdækkende Danske Baggrundsovervågningsprogram (BOP). DMU forestår disse programmer, og data herfra er tilgængelige på internettet:

[www.dmu.dk/AtmosphericEnvironment](http://www.dmu.dk/AtmosphericEnvironment)

Målinger fra overvågningsprogrammerne er helt afgørende ved vurdering af udviklingen i luftkvalitet samt i forbindelse med vurdering af overskridelser af grænseværdier og varsling af luftforureningsepisoder. Måleprogrammerne suppleres med modelberegninger med henblik på at bestemme niveauer og belastninger på de steder, som ikke omfattes af målingerne. Det omfatter for eksempel beregninger for andre gader end de, hvor målestationerne er placeret. Overvågningsprogrammerne giver således meget værdifuld information, som kan anvendes til at belyse den aktuelle miljøtilstand samt udviklingstendenser. Modelberegningerne medvirker til at generalisere resultaterne og derved opnå et detaljeret billede af den geografiske og tidsmæssige fordeling af forureningen.

Ét er imidlertid spørgsmålet om fordelingen af forureningsniveauer i tid og sted, et andet er spørgsmålet om, hvilken eksponering folk udsættes for.

Befolkningens eksponering for luftforurening kan bestemmes ved en grov klassifikation, baseret på forskellige indikatorer, anvendelse af biomarkører (se indlæg ved Steffen Loft), registrering med bærbare måleinstrumenter samt ved anvendelse af matematiske modeller. På DMU har vi igennem en årrække arbejdet med matematiske modeller for luftforurening, og det er anvendelsen af disse og deciderede eksponeringsmodeller til bestemmelse af human eksponering med luftforurening, som er emnet for dette paper.

I Danmark og mange andre industrialiserede lande er trafikken i dag den vigtigste kilde til befolkningens eksponering med luftforurening. Eksponeringen er størst i byerne, hvor trafikken oftest er tæt og spredningen af forurening langsom p.g.a. tilstedeværelsen af bygninger. Modeller for forurening fra trafikken er derfor vigtige værktøjer i forbindelse med bestemmelse af befolkningens eksponering. DMUs Operational Street Pollution Model (OSPM) er et eksempel på en model for forurening i bygader. Sammenligninger med måledata fra danske og en lang række udenlandske gader har vist, at modellen giver en god beskrivelse af spredningen af forurening fra trafikken i en bygade.

Inden for en række danske forskningsprojekter har luftkvalitetsniveauet ved bopælen været anvendt som indikator for eksponeringen af en forsøgsperson. OSPM har været anvendt til at beregne luftforurening ved bopælen. I flere tilfælde har målinger været foretaget ved et udvalgt antal adresser og anvendt til validering af modellens beregninger. For at foretage bereg-



Figur 1. Øverst: Placering af 204 adresser i hovedstadsområdet, hvor der er gennemført målinger og beregninger af luftforurening i forbindelse med Børnecancerprojektet ledet af Ole Raaschou-Nielsen, Kræftens Bekæmpelse. Nederst: de 103 gader i København. AirGIS systemet er ved at blive sat op for hele Københavnsområdet, og beregninger for adressepunkterne kan derfor fremover foretages automatisk.

---

ninger med OSPM kræves en række informationer om gadens konfiguration – d.v.s. gadens bredde og orientering i forhold til nord, højden af bygningerne langs de to sider af gaden m.m. I de første projekter blev disse informationer manuelt bestemt og indtastet – en fremgangsmåde, som er meget ressourcekrævende, når mange beregninger skal gennemføres. Derfor blev AirGIS systemet udviklet i forbindelse med et PhD projekt på DMU. AirGIS er opbygget i et Geografisk Informations System (GIS) og genererer automatisk inddata til OSPM, baseret på fortolkning af digitale kort og registerdata. Det mest springende punkt for at kunne gennemføre beregninger af koncentrationen ved bopælen er derfor informationer om trafikken i gaden, som endnu ikke er til rådighed digitalt.

Koncentrationen uden for bopælen er en meget grov indikator for eksponeringen. Ofte anvendes en indirekte metode til bestemmelse af eksponeringen. Ved denne metode opdeles de områder, hvori folk færdes, i såkaldte mikromiljøer. Forureningen i disse mikromiljøer kan så enten måles eller beregnes. I hvert mikromiljø antages det, at koncentrationen af forurening enten er konstant eller følger et kendt karakteristisk mønster. Et af de springende punkter i denne forbindelse er bestemmelsen af forholdet mellem inde- og udekonzentrationer. Derfor er der i forbindelse med et nyt SMP forskningsprogram iværksat et studie af forholdet mellem luftforurening med partikler i en lejlighed på Jagtvej og de tilsvarende koncentrationer på den nærliggende målestation under LMP programmet.

I foredraget vil resultater fra eksponeringsmålinger under SMP projektet i Center for Miljø og Luftveje blive præsenteret. Herunder de supplerende kulbrintemålinger, som blev finansieret af Sundhedsministeriets Miljømedicinske Forskningscenter. Endvidere vil en række analyser af partikelmålinger foretaget på DMU blive beskrevet. Endelig vil foreløbige resultater fra studierne af inde – ude forhold for en lejlighed på Jagtvej blive præsenteret.

## Helbredseffekter af trafikgenereret luftforurening

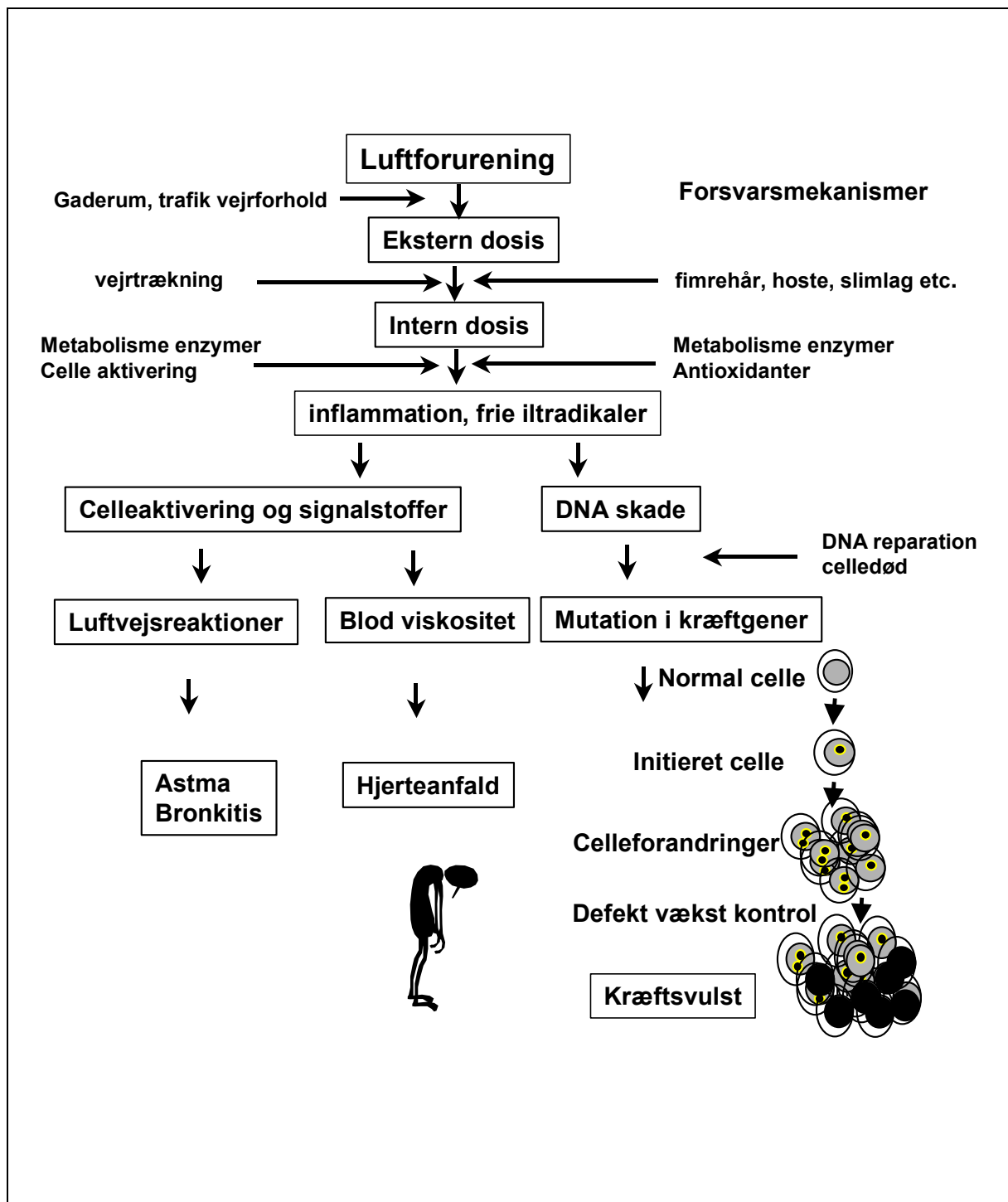
*Af Steffen Loft, Institut for Folkesundhedsvidenskab, Københavns Universitet*

I de fleste storbyer, inkl. København, formodes den væsentligste luftforurening at være partikler fra diesel- og benzindrevne køretøjers udstødning. Disse partikler er initialt ultrafine (under 100 nm), men kan kondenseres til fine partikler (PM<sub>2,5</sub>, <2,5 µm), som ellers overvejende stammer fra regional forurening med NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub> og NH<sub>3</sub>. Herudover er der irriterende gasarter, især kvælstofoksider, og dampe af bl.a. benzen.

Deponeringen af inhalerede partikler i luftvejene er bestemt af partiklernes størrelse, anatomi af luftvejene og vejrtrækningen (Sarangapani et al., 2000). Grove partikler afsættes hovedsagelig i de øvre luftveje. Partikler under 10 µm kan afsættes længere nede i bronkierne, hvor de fjernes af fimrehår på cellernes overflade. Fine og ultrafine partikler kan nå helt ud i alveolerne (Donaldson et al., 2001), hvor der ikke er fimrehår, og de må derfor fjernes af særlige betændelsesceller eller trænger ind i lungevævet. Jo mindre partikler og jo dybere vejrtrækning, jo større andel af partiklerne afsættes i lungerne (Jacques et al., 2000). Hos lungesyge afsættes en endnu større andel.

Epidemiologiske undersøgelser har sammenkædet niveauet af PM<sub>2,5</sub> og PM<sub>10</sub> (under 10µm) i storbyer og mortalitet og morbiditet, især relateret til hjertekarsygdomme (Kunzli et al., 2000; Pope et al., 1995; Dockery et al., 1993). Enkelte nye undersøgelser har vist, at sammenhængen med lungesygelighed hos voksne og mortalitet er stærkest for ultrafine partikler (Wichmann & Peters, 2000).

De fleste af komponenterne i luftforurening, inklusive partikler, menes at virke helbreds-skadelige ved at forårsage betændelsesreaktioner og dannelse af såkaldte frie iltradikaler (se figur). Disse reaktioner giver reaktioner i



Figur. Virknings- og forsvarsmekanismer i forhold til fine og ultrafine partikler i luftforurening. Partiklerne kan via inflammations (betændelses) reaktioner og dannelse af frie iltradikaler forårsage forværring af astma og bronchitis, blodpropper hos hjertesyg og lungekræft.



---

lungevævet med forværring af astma og bronkitis og menes at kunne fremprovokere blodpropper hos hjertesygge. De frie iltradikaler kan også skade arvematerialet (DNA) og derved medvirke til kræftudvikling. Udsættelse for partikler menes at øge risikoen for lungekræft. Benzen kan forårsage leukæmi, som man mener skyldes DNA skade i knoglemarven.

I tæt samarbejde med Danmarks Miljøundersøgelser er der under Center for Miljø og Luftveje ([www.ami.dk/CML](http://www.ami.dk/CML)), finansieret af Det Strategiske Miljøforskningsprogram 1998 (SMP98) og SMF, og i forbindelse med det Europæiske MACBETH (Measurement of Ambient Concentrations of Benzene in European Towns and Homes; Cocheo et al., 2000) gennemført projekter om udsættelse for luftforurening. Der er i 5 kampagner målt udsættelse, individuelt og på gadeplan, for fine partikler (48 timer opsamling af PM<sub>2.5</sub> på filter), kvælstofoksider og dampe, inklusive benzen) blandt omkring 50 beboere i København (Hertel et al. 2001). Der er samtidigt taget urin og blodprøver, hvori der er målt biomarkører, som belyser intern dosis af farlige stoffer og bl.a. skade på DNA samt betændelsesreaktioner.

De foreløbige analyser af målingerne viser sammenhæng mellem personlig eksponering for PM<sub>2.5</sub> og niveauer i soveværelse og i varme perioder også med målinger uden for boligen. Der er sammenhæng mellem personlig PM<sub>2.5</sub> eksponering og DNA skade i lymfocytter, hvilket støtter, at eksponeringen er biologisk relevant. MACBETH projektet om benzeneksponering i København har vist sammenhæng mellem biomarkører for intern og biologisk effektiv dosis, køn og genotyper for relevante enzymer, der er med til at omsætte benzen til farlige eller ufarlige forbindelser.

I fremtidige undersøgelser vil der blive målt kontinuerligt individuel eksponering for ultrafine og fine partikler samt kumuleret eksponering for fine partikler. De indsamlede data vil belyse mulighederne for som noget helt nyt at måle individuel eksponering for ultrafine partikler og hvilke faktorer, der har størst be-

tydning, herunder indendørs og udendørs kilder og geografisk fordeling i København. Belysning af sammenhæng mellem individuel eksponering for ultrafine og fine partikler målt som PM<sub>2.5</sub> vil være af stor værdi for tolkning af mange tidligere undersøgelser, hvor PM<sub>2.5</sub> er benyttet som eksponeringsmål. De indsamlede data vil være nødvendige for at kunne videreudvikle og validere modeller for eksponering for fine og ultrafine partikler. Sådanne modeller vil være særdeles værdifulde i epidemiologiske undersøgelser knyttet til registre og store kohorteundersøgelser.

En række epidemiologiske undersøgelser er sat i gang m.h.p. at vurdere sammenhæng mellem helbredseffekter og eksponering for luftforurening ved hjælp af de etablerede luftforureningsmodeller. Effekterne omfatter selvrapporterede helbredsforhold og gener i den nationalt repræsentative undersøgelse af sundhed og sygelighed 2000 foretaget af Statens Institut for Folkesundhed ([www.si-folkesundhed.dk](http://www.si-folkesundhed.dk)); risiko for død og akut indlæggelse af hjertekarsygdom og lungesygdom og for udvikling af astma og bronkitis med udgangspunkt i de københavnske befolkningsundersøgelser; risiko for udvikling af astma blandt 400 højrisikobørn og risiko for lav fødselsvægt undersøgt i dele af Den Nationale Fødselskohorte. Disse studier foretages under SMP centeret Transport Research on environmental and health Impacts and Policy (TRIP; [www.akf.dk/TRIP](http://www.akf.dk/TRIP)). Luftforureningsmodellen vil endvidere blive brugt til at undersøge sammenhængen med risiko for lungecancer i de københavnske befolkningsundersøgelser under Center for Miljørelateret Kræft, finansieret af programmet ”Miljømedicinsk forskning på kræftområdet”, der udbydes via SMF.

Mulighederne for at kunne vurdere eksponering for alle komponenter i luftforurening, inklusive fine og ultrafine partikler, og sammenhænge med sygdomsrisici vil have stor samfundsmæssig betydning til prioritering og vurdering af effekten af tiltag til reduktion af emissionen.

---

## Referencer

Cocheo V, Sacco P, Boaretto C, De Saeger E, Ballesta PP, Skov H, Goelen E, Gonzalez N, Caracena AB. Urban benzene and population exposure. *Nature* 2000;404:141-2

Dockery DW, Pope AC, III, Xu X et al. An association between air pollution and mortality in six U.S. cities. *N Engl J Med* 1993;329:1753-9.

Donaldson K, Stone V, Clouter A et al. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001;58:211-6.

Hertel O, Solvang Jensen S, Andersen HV, Palmgren F, Wåhlin P, Skov H, Nielsen IV, Sørensen M, Loft S, Raaschou-Nielsen O. Human exposure to traffic pollution. Experience from Danish studies. *Pure Appl Chem*, 2001;73:137-145.

Jaques PA, Kim CS. Measurement of total lung deposition of inhaled ultrafine particles in healthy men and women. *Inhal Toxicol* 2000;12:715-31.

Kunzli N, Kaiser R, Medina S et al. Public-health impact of outdoor and traffic-related air pollution: a European assessment. *Lancet* 2000; 356:795-801.

Pope CA, III, Thun MJ, Namboodiri MM et al. Particulate air pollution as a predictor of mortality in a prospective study of U.S. adults. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:669-74.

Sarangapani R, Wexler AS. The role of dispersion in particle deposition in human airways. *Toxicol Sci* 2000;54:229-36.

Wichmann HE, Peters A. Epidemiological evidence of the effects of ultrafine particle exposure. *Phil Trans R Soc Lond A* 2000;358:2751-69.

## Østrogenhypotesen og mandlig reproduktion. Hvad siger epidemiologien?

*Af Lone Storgaard og Jens Peter Bonde, Arbejdsmedicinsk Klinik, Århus Kommune-hospital*

### Baggrund

Rapporter vedrørende et fald i sædkvaliteten(1) samt en stigning i forstyrrelser i de mandlige reproduktionsorganer inspirerede Sharpe og Skakkebæk til formuleringen af østrogen hypotesen (2). Hypotesen postulerer, at udsættelse for stoffer med kønshormon(østrogen)lignende virkning i fostertilværelsen kan forstyrre den normale udvikling af de mandlige kønsorganer og medføre nedsat sædkvalitet efter puberteten. I løbet af de senere år er der fremkommet flere foruroligende rapporter om menneskeskabte kemikalier med kønshormonlignende effekt, også kaldet xenohormoner (eks: dioxin, phthalater og organochlorider). Dette har selvsagt skabt bekymring, ikke blot i videnskabelige kredse, men også industrielt, politisk og folkeligt. Hypotesen betød, at fokus blev flyttet fra at man tidligere havde set på miljøeksponerings reproduktionsskadelige virkning hos den voksne mand til den gravide og ammende kvinde.

### Epidemiologiske studier i dag

Viden i dag vedrørende xenohormoners prænatale reproduktionsskadelige virkning er for langt størstepartens vedkommende indhentet fra dyrestudier, fra humane brystcancer-celle forsøg og rapporter fra dyrelivet. Det er velkendt, at ekstrapolering til mennesker er forbundet med vanskeligheder. Da eksperimentelle humane studier i sagens natur ikke er en mulighed, er det fra de epidemiologiske studier, der skal indhentes viden. De epidemiologiske studier, der foreligger i dag, omhandler for hovedpartens vedkommende, følger efter prænatal eksponering for diethylstilbestrol (DES), et østrogen med en potens, som er en

---

million gange højere end de xenoøstrogener, der er evalueret i dag (3). DES blev brugt til behandling af truende abort og til forebyggelse af abort hos kvinder, der tidligere havde oplevet graviditetstab. Samtidig mente man at kunne reducere en lang række graviditetskomplikationer, hvilket betød, at 2 til 3 millioner gravide kvinder blev behandlet i årene mellem 1940 til 1971. Rapporter om en øget forekomst af vaginal cancer hos yngre kvinder, udsat for DES i fosterlivet, førte til, at stoffet blev taget af markedet. Sædkvalitetsstudier af det mandlige afkom af DES eksponerede mødre har vist modstridende resultater, men to af studierne, hvor dosis og tidspunkt i graviditeten for eksponeringen er sikker, har vist en lavere sædkvalitet hos de DES udsatte (91 mill/ml versus 115 mill/ml) (4;5) samt en øget hyppighed af forskellige misdannelser af de mandlige kønsorganer (urethral stenose, microphallos og testikulære forandringer som hypoplasi og kapsel induration). Selvom DES eksponering prænatalt påvirker sædtallet, tyder det ikke på, at det har indflydelse på fertiliteten målt som et pars ventetid til graviditet (Time To Pregnancy, TTP) (6).

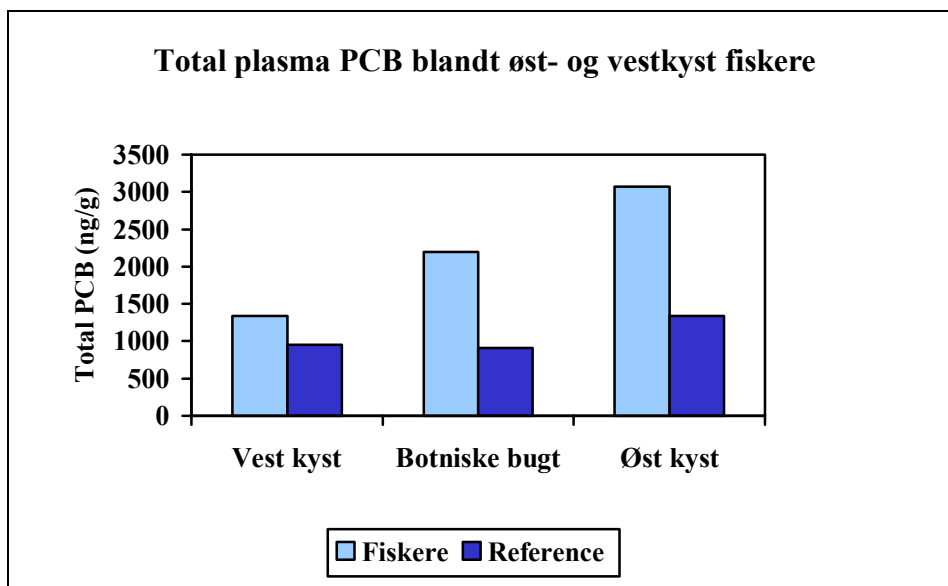
Det er således stadig uklart, om en prænatal eksponering for xenoøstrogener, der forekommer i en langt mindre mængde og lavere potent i forhold til DES, har nogen indvirkning på den mandlige reproduktion. Indtil videre har man ikke kunnet forklare et tilsyneladende fald i sædkvaliteten. Det kan, som nævnt, skyldes det forhold, at der er så få studier, og der er derfor et stigende behov for flere epidemiologiske studier til at af- eller bekræfte hypotesen.

### Sædkvalitet hos tvillinger

Et fælles vilkår i fostertilværelsen for tvilling graviditeter er et højere kønshormonspejl i forhold til enkelt graviditeter. Flere undersøgelser viser, at plasmakoncentrationen af østriol- og døgnurinudskillelsen af østrogener er fra 1,7 til 3 gange forhøjet fra graviditetsuge 24 til fødsel ved tvilling graviditeter (7-9). Østrogen koncentrationen i de første graviditetsuger er min-

dre undersøgt, men i et studie er der påvist en forhøjet plasmakoncentration af østradiol så tidligt som i graviditetsuge 4 til 14 (10), hvilket netop betegnes som den vulnerable periode for eksponering for xenohormoner (2). Det er ikke alene den totale mængde af østrogener hormoner, der er væsentligt højere ved tvilling graviditeter, men også den ubundne bioaktive "koncentration", der er forhøjet. I denne periode i fostertilværelsen (graviditetsuge 5-7) anlægges testiklerne, og skader så tidligt på reproduktionsorganer frygtes at være uoprettelig. Det kan betyde, at manden får en medfødt ringere evne til at producere sæd efter puberteten.

På Arbejdsmedicinsk Klinik ved Århus Kommunehospital har man udnyttet dette unikke forhold under en tvilling graviditet og undersøgt 104 enæggede tvillingebrødre og 107 tveæggede tvillingebrødre og sammenlignet disse mænds sædkvalitet med 105 enkeltfødte brødre. Vi forventede at finde den ringeste sædkvalitet blandt tvillingebrødrene og den bedste hos de enkeltfødte brødre. De foreløbige resultater viser til vores overraskelse ingen forskel i sædkvaliteten mellem de tre grupper, skønt både mængden og potensen af de østrogener, der er til stede under en tvilling graviditet er meget højere end de xenoøstrogener, der er evalueret i dag (3;11). Studiet har ydermere til formål at estimere, hvor stor en del henholdsvis arv og miljø kan forklare variationen i sædkvaliteten hos mennesker. En høj grad af lighed blandt genetisk ens tvillinger (enæggede tvillinger) er et udtryk for en genetisk komponent, mens en forskel blandt de enæggede tvillinger vil være et udtryk for en miljøeffekt. Ved at sammenligne enæggede og tveæggede tvillinger vil man få et udtryk for miljøets betydning. Den prænatale miljøeffekt kan vurderes ved at sammenligne tveæggede tvillinger med enkeltfødte brødre, idet den sidste gruppe ikke deler præ- og perinatalt miljø. Et sådant estimat er af stor interesse, da østrogenhypotesen er centreret omkring det prænatale miljø. Disse analyser er endnu under udarbejdelse.



Figur 1. Lipid-relaterede plasma niveauer af PCB (polychlorerede biphenyler) hos svenske fiskere fra henholdsvis Vestkysten, Østkysten (Baltiske hav) og den Botniska bugt. Figuren er baseret på data fra Svenson BG et al, Scand J Work Environ Health. 1995 Apr;21(2):81-3

Gennem de senere år er der fremkommet modificeringer af den oprindelige østrogenhypotese, som kan forklare de negative fund i tvillingstudiet. En nyt dyrestudie har vist, at en ubalance i androgen/østrogen forholdet i fostertilværelsen forårsager en skadelig virkning hos rotter (12) og under en tvilling graviditet er androgen niveauet forøget i samme grad som østrogen niveauet.

### Fremtidsperspektiv

Fremtidige studier bør undersøge reproduktion hos befolkningsgrupper, hvor man a priori kender til en høj xenoøstrogen eksponering. Biopersistente organochlorider (POC), som f.eks. visse pesticider (DDT), bioakkumuleres i fødekæden p.g.a. en lipofil struktur (13). Et højt indhold i fedtvæv i maritime fødeemner er blevet påvist, og hos en del af Inuit befolkningen i Grønland er det hovedbestanddelen af diæten. Dyreforsøg har vist, at prenatal eksponering for POC er associeret med en reduktion af den mandlige fertilitet og at virkningsmekanismen

er via en hormoneffekt (androgen receptor blokering og svag østrogen effekt) (14). Analogt har man hos svenske østkystfiskere, der konsumerer maritime fødeemner fra det forurenede Baltiske hav, fundet 3 gange højere POC værdier i vævet i forhold til vestkystfiskere (se figur 1). Dette forhold udnyttes i et epidemiologisk multicenterstudie i EU-regi, der er under planlægning udgående fra Arbejdsmedicinsk Klinik på Århus Kommunehospital. Projektet vil indsamle data vedrørende ventetid til graviditet, sædkvalitet og kvantitet samt kønshormonkoncentrationen, hos inuitter på Grønland, fiskere ved øst- og vestkysten i Sverige og hos befolkningsgrupper i Polen og Ukraine.

Studier af denne art er omkostningstunge og organisatorisk svære, men set i lyset af de omkostninger, der er ved en usikkerhed om kemikaliers reproduktionsskadelige effekt på mennesker, er det også her vægten af fremtidig forskning bør ligge.

---

## Referencer

1. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years [see comments]. *BMJ* 1992; 305(6854):609-613.
2. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? [see comments]. *Lancet* 1993; 341(8857):1392-1395.
3. Safe SH. Environmental and dietary estrogens and human health: is there a problem? [see comments]. *Environ Health Perspect* 1995; 103(4):346-351.
4. Bibbo M, Gill WB, Azizi F, Blough R, Fang VS, Rosenfield RL et al. Follow-up study of male and female offspring of DES-exposed mothers. *Obstet Gynecol* 1977; 49(1):1-8.
5. Gill WB, Schumacher GF, Bibbo M, Straus FH, Schoenberg HW. Association of diethylstilbestrol exposure in utero with cryptorchidism, testicular hypoplasia and semen abnormalities. *J Urol* 1979; 122(1):36-39.
6. Wilcox AJ, Baird DD, Weinberg CR, Hornsby PP, Herbst AL. Fertility in men exposed prenatally to diethylstilbestrol. *N Engl J Med* 1995; 332(21):1411-1416.
7. Kappel B, Hansen K, Moller J, Faaborg-Andersen J. Human placental lactogen and dU-estrogen levels in normal twin pregnancies. *Acta Genet Med Gemellol (Roma)* 1985; 34(1-2):59-65.
8. Ikeno N, Takahashi K. [Studies on changes in serum estrone, estradiol, estriol, DHA-S, and cortisol and urinary estriol excretion]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1985; 37(1):99-106.
9. TambyRaja RL, Ratnam SS. Plasma steroid changes in twin pregnancies. *Prog Clin Biol Res* 1981; 69A:189-195.
10. Johnson MR, Bolton VN, Riddle AF, Sharma V, Nicolaidis K, Grudzinkas JG et al. Interactions between the embryo and corpus luteum. *Hum Reprod* 1993; 8(9):1496-1501.
11. Daston GP, Gooch JW, Breslin WJ, Shuey DL, Nikiforov AI, Fico TA et al. Environmental estrogens and reproductive health: a discussion of the human and environmental data. *Reprod Toxicol* 1997; 11(4):465-481.
12. McKinnell C. Suppression of androgen action and the induction of gross abnormalities of the reproductive tract in male rats treated neonatally with diethylstilbestrol. McKinnell C, Atanassova N, Williams K, Fisher JS, Walker M, Turner KJ et al., editors. *Androgen-estrogen interactions*. J. Androl in press. 2001. Ref Type: Generic.
13. Bjerregaard P, Dewailly E, Ayotte P, Pars T, Ferron L, Mulvad G. Exposure of Inuit in Greenland to organochlorines through the marine diet. *J Toxicol Environ Health A* 2001; 62(2):69-81.
14. Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kempainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 1995; 375(6532):581-585.

## Hormonlignende stoffer og effekter på hjernens udvikling: Hvad sker der med adfærsforskelle mellem hanner og hunner?

Af Ulla Hass, Institut for Fødevarerikkerhed og Toksikologi, Fødevedirektoratet.

### Baggrund

En række kemiske stoffer, der er mistænkt for at have hormonlignende virkning, som bl.a. visse phthalater, anvendes i stort omfang i samfundet og forekommer udbredt i miljøet.

Hormoner, inkl. kønshormoner, har en væsentlig betydning under hjernens udvikling, hvor de fungerer som signalstoffer, der påvirker udviklingen og medfører kønsdifferentiering af hjernen. Kønsforskelle i adfærd inkluderer en række funktioner udover de, der er direkte relaterede til reproduktionsfunktionen. I dyremodeller er

---

det for eksempel vist, at de normalt sete kønsforskelle på aktivitetsniveau, social adfærd og rumlig indlæringssevne opstår under udviklingen af hjernen.

Årsagssammenhænge mellem kemiske påvirkninger og adfærdsændringer som følge af udsættelse under hjernens udvikling er vanskelige at udforske i befolkningsundersøgelser. Der er derfor behov for at undersøge, om eksponering for stoffer, der mistænkes for at have hormonlignende virkninger, medfører effekter på hjernens udvikling og på adfærdsforskelle mellem hanner og hunner i en dyremodel .

For en række kemiske stoffer, hvor der er påvist effekt hos mennesker og i dyremodeller, er der fundet en høj grad af sammenlignelige effekter hos dyr og mennesker. Disse eksempler støtter således den formodning, som også gælder for andre typer af fosterskader, at effekter i dyreforsøg kan modsvares af tilsvarende effekter hos mennesker. For PCB, der påvirker neuropsykologiske funktioner hos børn, er det for eksempel blevet konkluderet på en workshop i USA, at en dyremodel, der undersøger for effekter på aktivitetsniveau og indlæringssevne, ville have udpeget PCB som et stof, der påvirker nervesystemets udvikling og funktion.

Der eksisterer for tiden ikke internationalt accepterede guidelines for undersøgelser for hormonlignende virkninger, men bl.a. i OECD Test Guideline Programme er der stor aktivitet på området. I den kommende OECD Test Guideline 426 for Developmental Neurotoxicity Study er adfærdsundersøgelser af bl.a. aktivitetsniveau og indlæringssevne et væsentligt element, og det kan således belyses, om disse funktioner er påvirkede samt om der er kønsrelaterede forskelle. Testen indgår derfor også i OECDs teststrategiovervejelser om undersøgelser af miljøfremmede hormonlignende stoffers effekter.

## Projekterne

Formålet med projekterne var at udvikle og anvende en dyremodel til undersøgelser af hormonlignende stoffers effekter på hjernens udvikling. Derfor blev en dyremodel baseret på OECD TG 426 udvidet med flere adfærdstest, hvor der kunne forventes adfærdsforskelle mellem hanner og hunner. Herefter blev der undersøgt et kemisk stof med kendt østrogen virkning på hormonsystemet (diethylstilbestrol). Derefter er dibutylphthalat (DBP) blevet undersøgt, fordi stoffet var mistænkt for østrogenlignende virkning og har stor udbredelse i miljøet. Da nyere undersøgelser udført i USA efterfølgende tydede på, at DBPs hormonlignende virkning på kønsorganerne i højere grad kan skyldes antiandrogen end østrogen virkning, blev der herefter undersøgt et stof med kendt antiandrogen virkning, flutamid.

Projekternes resultater og den opnåede viden om adfærdstestning er blevet præsenteret på internationale konferencer og OECD-møder i løbet af projektperioden (se Formidling). I det følgende beskrives og sammenlignes effekterne af DBP og Flutamid på hjernens udvikling.

## Metoder

Drægtige rotter blev doseret med 500 mg/kg DBP, 15 mg/kg flutamid eller vehikel (kontrolgrupper), mens nervesystemet udvikles hos afkommet. Der blev anvendt grupper på mindst 14 dyr for at opnå en tilstrækkelig følsomhed i forsøgene. Tabel 1 giver en oversigt over effektmålene. Adfærdstestene var standardiserede, og testningen foregik uden kendskab til dyrenes doseringsgruppe (blindet). Testbatteriet dækkede de funktionelle områder, som indgår i den kommende OECD Test Guideline for undersøgelser for medfødte nerveskader. Derudover blev der undersøgt social adfærd (legeadfærd) og udført sweet preference test, fordi der normalt ses kønsforskelle i disse tests.

<i>Periode</i>	<i>Effektmål*</i>	<i>Effekter af DBP</i>	<i>Effekter af Flutamid</i>
Drægtighedsperiode	Kliniske observationer og vægt hos drægtige hunner	Ingen effekt	Ingen effekt
Fødsel	Fødselsvægt og kønsfordeling i kuld	Ingen effekt	Ingen effekt
Laktationsperiode	Anogenital afstand Brystvorter	Lidt kortere hos hanner Øget hos hanner	Hanner som hunner Meget øget hos hanner
Unge dyr	Aktivitetsniveau Legeadfærd Kønsmodning	Ingen effekt Maskulinisering af hanner? Ingen effekt	Ingen effekt Maskulinisering af hanner? Ingen effekt
Voksne dyr	Indlæring og hukommelse Aktivitetsniveau Sweet preference test	Maskulinisering af hanner Maskulinisering af hanner Feminisering af hunner?	Maskulinisering af hanner (og hunner) Maskulinisering af hanner Mindsket kønsforskel?

Tabel 1. Testbatteri og resultater

\* Registrering af vægt og kliniske observationer blev foretaget i hele perioden

## Resultater

En oversigt over resultaterne ses i Tabel 1. Både DBP og flutamid forårsagede de forventede effekter på udviklingen af hannernes kønsorganer, idet anogenital afstanden var kortere og der var en øget forekomst af brystvorter. Begge stoffer medførte også en række kønsspecifikke adfærdseffekter. Der var en tendens til øget legeadfærd hos hanungerne samt signifikant nedsat aktivitetsniveau og forbedret indlæringssevne hos de voksne hanner. Disse fund tyder alle på en maskulinisering af hannernes adfærd.

Generelt lignede adfærdseffekterne af DBP og flutamid hinanden, men effekterne af flutamid var mere tydelige end effekterne af DBP. Derudover forårsagede Flutamid tegn på maskulinisering af hunnernes indlæringssevne.

## Konklusioner

Projekterne har bidraget til den basale viden om hormoner og miljøfremmede hormonlignende stoffers effekter på nervesystemets udvikling og funktion og har hermed givet baggrund for en øget forståelse af problemets omfang.

Både DBP og Flutamid forårsagede effekter på hjernens udvikling, idet der var en række kønsspecifikke adfærdsændringer. Generelt tyder resultaterne på en maskulinisering af hannernes adfærd, d.v.s. en øgning af de normale adfærdsforskelle mellem hanner og hunner. Dette var ikke umiddelbart forventet ud fra stoffernes kendte effekter på udviklingen af kønsorganerne, og det kan derfor konkluderes, at det er vanskeligt at forudsige effekter på hjernens udvikling ud fra effekter på kønsorganernes udvikling. Projekternes resultater peger derfor på, at det er væsentligt at undersøge hormonlignende stoffers effekter på hjernens udvikling i dyremodeller for at kunne forebygge adfærdsændringer hos børn.

---

## Formidling

Nielsen AK, Hass U. Effects of prenatal DES on cognitive functions in rats (1999). Poster at 27<sup>th</sup> Conference of European Teratology Society, UK.

Hass U, Pedersen S, Nielsen AK (2000). Developmental neurotoxicity of dibutylphthalate in rats. Poster at 28<sup>th</sup> Conference of European Teratology Society, Italy.

Pedersen S, Hougaard KS, Hass U (2000). Behavioural effects in elevated plus-maze after pre- and postnatal exposure to dibutylphthalate. Poster at 28<sup>th</sup> Conference of European Teratology Society, Italy.

Hass U (2000). OECD Test Guideline proposal for Developmental Neurotoxicity: Issues for Discussion. Presentation at OECD/ILSI Workshop on Identifying and Characterizing Developmental Neurotoxicity for Human Health Risk Assessment, USA.

Hass U (2001). Behavioural testing in routine studies: Developmental neurotoxicity Guidelines. Presentation at 29<sup>th</sup> Conference of European Teratology Society, Hungary. *Reproductive Toxicology* 2001, 15, 450.

Hass U, Filinska M, Pedersen S (2001). Effects of prenatal exposure to the antiandrogen Flutamide on sexual dimorphic behaviour in rats. Short presentation at 29<sup>th</sup> Conference of European Teratology Society, Hungary. *Reproductive Toxicology* 2001, 15, 454.

## Øjen- og næseirritation i indemiljøet – fysiologiske sammenhænge og særligt følsomme grupper.

*Af Søren Kjærgaard, Institut for Miljø- og Arbejdsmedicin, Aarhus Universitet*

Irritationssymptomer fra næse og øjne kan være særdeles hyppige i indemiljøet, hvilket fremgår af en lang række epidemiologiske undersøgelser. Irritationssymptomernes aktuelle størrelse på landsplan er ikke veldokumenteret, men en nylig undersøgelse blandt tilfældigt

udvalgte raske ikke rygere i Århus har vist en 3 måneders periodeprevalens på omkring 33% for øjenirritation og på 58% for næseirritation, og af disse svarede henholdsvis 1,5% og 5,3%, at symptomet forekom ofte.

Årsager i miljøet er vanskelige at udrede, bl.a. på grund af det subjektive element i målingen af symptomerne, som kan bevirke skævvridning af sammenhængen med eksponeringen. Det er derfor vanskeligt at finde god dokumentation for årsager, som er det første og nødvendige skridt i en risikoanalyse, som igen er forudsætningen for forebyggelse. En måde at sandsynliggøre miljøbetingede årsagssammenhænge er at dokumentere den biologiske mekanisme, jævnfør Hills kriterier for årsagssammenhæng. Dette gør det nødvendigt med fortsat anvendelse og udvikling af non-invasive metoder til måling af (pato-)fysiologiske forandringer. En lang række metoder, som har været anvendt til måling af (pato-)fysiologiske forandringer i næse og øjne har i nogle tilfælde været relateret til symptomerne, men så ikke til egentlige eksponeringer i miljøet – eller omvendt.

Metoderne har især fokuseret på vurderinger af den inflammatoriske proces, udtrykt ved måling af ødem (slimhindetykkelse), blod flow, kardilatering (rødme), samt inflammatoriske celler og biokemiske markører for inflammation. Som noget nyt undersøges også expressionen af de gener, der er ansvarlige for disse markører. Ved disse teknikker er det påvist, at husstøv og organiske luftforureninger (VOC) kan reducere det nasale volumen og bevirke øget inflammation (celler og markører). Tilsvarende er der set effekter af VOC på inflammatoriske celler i øjnene, som var korreleret til irritationen, men med forsinkelse af responset.

Andre metoder omfatter mere direkte målinger relateret til markører for aktivitet i de sensoriske terminaler, der er ansvarlige for at signalere om irritation når hjernen, eksempler herpå er signalstoffer som Substance-P (SP) og Calcitonin Gene Related Peptide (CGRP). Direkte



---

vurdering af aktiviteten kan gennemføres ved måling af potentialer genereret af stimulerede nerver i slimhinden eller ved måling af trigeminale evoked potentials (hjernen). Der er dosis-respons sammenhæng mellem påvirkninger og potentialer (slimhinde og hjerne), og tilsvarende kan irriteranterne udløse frigivelse af SP, som er kendt for at medvirke til i gangsaetning af den inflammatoriske effekt. SP korrelerer endvidere med subjektive respons.

Måling af forskelle i beskyttelsesmekanismer hos forskellige persongrupper samt forandringer i disse mekanismer ved påvirkning er ligeledes et væsentligt område. F.eks. er der efterhånden gennemført en lang række målinger af øjets blinkfrekvens, tårefilmsfunktion, ligesom næsens rensningsfunktion har været undersøgt. På det biokemiske niveau er der nu undersøgelser, der fokuserer på, om den antioxidative kapacitet af slimhinderne har betydning for responset. Dette er særligt interessant i relation til hypoteserne om at de betydende stoffer i indemiljøet er relateret til oxidanter og radikaler dannet ud fra disse. Der er en lang række undersøgelser, der tyder på en sammenhæng mellem oplevet øjenirritation og nedsat tårefilms- og slimhinfefunktion i øjet, og på at dette kan fremprovokeres ved eksperimentelle eksponeringer.

De senere år er der gennemført en række undersøgelser af, om der er forskel på følsomheden hos forskellige persongrupper f.eks. astmatikere, allergikere, når de provokeres med kendte irriteranter, henholdsvis i klimakamre og ved lokaleksponering af øjne og næse. Tilsvarende søges den psykosociale belastning (stress) relateret til følsomheden. Forskelle i respons kan således forsøges relateret til de specifikke karakteristika for disse persongrupper. Der er indtil nu påvist forskelle i følsomheden hos allergikere og personer, der oplever stress, men der er begrænset indikation på egentlige forskelle i det fysiologiske respons.

Konklusionen på aktiviteterne er, at der langsomt, men sikkert, udvikles modeller, der kan

forklare mekanismerne og samtidigt giver anledning til en almen forståelse af sammenhænge mellem stimulus i indemiljøet, fysiologiske respons og forekomst af symptomer. Disse modeller vil samtidig kunne stimulere yderligere hypoteser og i den sidste ende føre til en generel forbedring af miljøet, idet de biologisk aktive påvirkninger identificeres. Disse kan så forhåbentligt fjernes fra miljøet.

## **Moulds and health – an epidemiological study**

A project under the Danish research programme “Moulds in Buildings” (DAMIB)

*Harald W. Meyer<sup>1</sup>, Helle Würtz<sup>2</sup>, Ole Valbjørn<sup>3</sup>, Torben Sigsgaard<sup>4</sup>, Finn Gyntelberg<sup>1</sup>, and the DAMIB-group.*

### **Objective**

The objective was to test the hypothesis that microbiological factors in school buildings are associated with Building Related Symptoms (BRS), asthma and allergy in users of the buildings.

### **Material and methods**

The study is based on a questionnaire study carried out in summer 1998, addressing the 274 Danish municipalities (Copenhagen excluded) about water damages and mould growth in their school buildings. Questionnaires were returned from 94 % of the municipalities, and from the results of these and a walk-through inspection by an experienced building engineer, eight water damaged and seven “dry” control schools were selected for further study.

---

<sup>1</sup> Dept. of Occupational & Environmental Medicine, Bispebjerg University Hospital, Denmark

<sup>2</sup> National Institute of Occupational Health, Denmark

<sup>3</sup> Danish Building and Urban Research, Denmark

<sup>4</sup> Institute of Environmental & Occupational Medicine, Aarhus University, Denmark

---

Ultimo 1999 1832 teachers and pupils from 8<sup>th</sup> and 9<sup>th</sup> grade received a questionnaire including questions about building related symptoms, psycho-social problems, asthma, allergy, upper airway infections, other doctor diagnosed illnesses, menstrual conditions, perceived indoor air quality, smoking, medication and water damages at home. Sufficient responses were returned from 581 teachers and 1053 pupils, giving a response rate of 89 %.

During a working day dust was sampled from floors and ventilation ducts. Parallel to sampling of airborne dust, measurements of temperature, relative humidity and CO<sub>2</sub> were performed. All dust samples were analysed for culturable fungi, actinomycetes and endotoxin. The floor and duct samples are also going to be analysed for allergens and glucans. The selected rooms were examined for extent of both visible and hidden moisture and mould growth, and moulds were sampled on agar plates for identification. A newly developed test for mould enzymes (Mycometer-test) was performed simultaneously.

## Results

Preliminary crude results suggest positive associations between BRS among teachers and pupils, and factors in sampled dust. Surprisingly the assessment of extent of moisture and mould growth seems to be inversely associated to BRS.

## Particulate air pollution and the heart

*By Anthony Seaton, University of Aberdeen Medical School*

The public health importance of air pollution came to world-wide attention following the great London smog of the winter of 1952 when it was estimated that some 4000 excess deaths occurred in one week. Of the two contributors to such episodes, weather conditions and com-

bustion of fossil fuel, one is controllable, and measures taken to reduce coal burning in major UK cities proved very effective. Particulate pollution concentrations have fallen some ten-fold since the 1960s and UK research activity in the area ceased in the 1980s. But shortly after, in the late 1980s and early 1990s, epidemiological studies in USA, notably by Schwartz, Dockery and Pope, began to show relationships between particulate pollution and death even at the relatively low concentrations then pertaining. It appeared that even at concentrations of a few tens of micrograms per cubic meter, excess deaths and hospitalisations were occurring. And now there is even evidence that long term exposure to a polluted urban environment increases risks of later development of heart disease.

Examination of the causes of pollution-related deaths suggested that though the relative risks were greatest for respiratory disease, the absolute risks were highest for heart disease. This immediately called the epidemiological results into question on the grounds of plausibility. Could such small doses of particles really cause death from disease of an organ distant from the lungs? Indeed, was it plausible that they could even cause death from lung disease? In order to put this into perspective, excess deaths appeared to be occurring at particle concentrations of as low as 50µg/m<sup>3</sup>. This implies inhalation of 1mg of particles over 24 hours, of which approximately half will be deposited on an alveolar epithelium with the area of a tennis court. Either the particles in air pollution are extremely toxic, or the lung reacts in an extraordinary way, or the epidemiology is pointing at the wrong culprit and some potent confounder lies undiscovered. This last possibility now seems very unlikely, so we need to address the other two possibilities.

With respect to toxicity, air pollution particles consist mainly of carbon generated in the combustion process (contaminated to greater or lesser extent by metals and organic molecules) and ammonium nitrate and sulphate formed by

---

photochemical activity. On the face of it, it seems unlikely that these would be acutely toxic in a chemical sense, especially when one considers that a fatal dose of arsenic, for example, is about 50mg. This led me to consider the physical as opposed to the chemical character of the particles; could there be something about air pollution particles that deceived the lung into reacting in an inappropriate way to their deposition?

In the early 1990s, Oberdörster and his colleagues had shown that very small particles, in the nanometer range, seemed to have different and more toxic effects when inhaled by rats than did larger particles of the same material. It had been known from the 1960s that urban air pollution contained large numbers of very small particles. I had spent some years studying asbestos and was aware that sometimes the physical properties of inhaled particles are more important than their chemistry. With colleagues, I therefore proposed that the cardiac and other toxic effects were due to inhalation of large numbers of ultrafine particles and that the lung responded to the number rather than to the mass. We suggested that the effects on the heart were a consequence of secondary changes in blood coagulability influencing the circulation through the coronary arteries in individuals already predisposed by the presence of atheroma. Specifically we hypothesised that ultrafine particles caused a form of lung inflammation that in turn increased the fibrinogen levels in blood and led to increased coagulability.

Since this hypothesis was published, a number of investigations have tested it. Our own study failed to support the fibrinogen part of it, but did find that exposure to particle mass was associated with falls in haemoglobin and platelet counts in the blood, a finding we interpreted as being due to sequestration of cells in capillaries. Interestingly, however, others have found changes in fibrinogen both epidemiologically and experimentally. On balance, my view of the current evidence is that inhalation of particles does indeed cause secondary

changes in the blood that could predispose susceptible individuals to infarction.

On the assumption that this is correct, three important questions remain. How do particles cause these effects? Why does this happen? Does it matter anyway? With respect to how, much work is now focussing on surface area of particles and transition metals on the surface, leading to initiation of local lung inflammation by free radical release. With respect to why, it does seem curious that the lung should react in such a way, and my teleological explanation is that it interprets particles as potential invading micro-organisms, each one of which is capable of invading the blood stream and dividing rapidly. Evolutionary survival would therefore depend on a local signal, triggered by number rather than mass of particles, amplified in order to initiate a systemic anti-microbial reaction. That reaction only becomes harmful when occurring in a large population containing vulnerable individuals who already have compromised hearts and lungs.

The third question is “Does it matter?”. I think it does. We need to protect populations from the effects of air pollution and in order to do so we need to have criteria on what to measure and how to measure it. With a simple chemical such as ozone, measurement is straightforward. But with particles we could conceivably measure total mass, PM<sub>10</sub> (Particulate Matter less than 10µm in aerodynamic diameter), PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>1</sub>, particle number count, surface area or even some chemical component such as metal content. Mass measurements will correlate closely with each other, so it is unlikely that better protection would be afforded by regulating one rather than another. But mass and number correlate less well and, for example, a vehicle manufacturer could design an engine system that reduced mass but coincidentally increased the number of particles in the exhaust gases. As much as the general population and regulators, designers need to know where the toxic components of particulate pollution lie.

---

## Allergens causing Allergy – State of the Art

By Henning Løwenstein, ALK-Abelló A/S,  
Denmark

The prevalence of allergic diseases increases with modern life style. At the same time, more and more symptomatic drugs are being developed and brought into use without affecting allergy incidence. Genetically, atopy is suspected to involve a large number of genes, leaving this field highly unlikely ever to advance simple solutions. The exposure to naturally occurring environmental allergens, on the other hand, cannot (and will hopefully never) be controlled.

### The nature of environmental, airborne allergens

These are best described as allergen extracts which ideally are complex mixtures of (ideally) all water extractable molecules from the relevant source materials. Provided that the extraction is performed optimally, this mixture is expected to represent all molecules towards which allergic individuals might raise IgE antibody producing clones, thereby establishing allergic conditions. The number of different molecules in the extract may be low (i.e. cat hair and dander, 15) or high (i.e. timothy grass pollen antigens, 35), but most of them are proteins. Many of these proteins are present in various isoforms, i.e. proteins differing in one, a few or a substantial number of amino acids (fig. 1). The number of inter species isoallergen amino acid substitutions may in some cases reach the level of difference observed when comparing homologous proteins from related species. Each amino acid substitution may give rise to differences in epitope structure resulting in a complex pattern of unique and common epitopes distributed over the isoallergens and variants. Some of these epitopes may be shared by homologous isoallergens and variants from related species, thus adding to the complexity (fig. 1) and explaining (see below) clinical cross-reactivity.

### The nature of allergic patients' responses

Experiments using either electrophoretically or otherwise separated antigens from allergen extracts have clearly shown, that allergic individuals develop unique IgE responses against various subsets of the molecules in the allergen extracts. Studies performed using panels of allergic patients' sera furthermore revealed, that some antigens (major allergens) have a high probability of raising IgE responses, whereas other antigens (minor allergens) have a much lower probability. It was concluded from these studies that all protein antigens were potential allergens. Since both electrophoretically separated isoallergens and variants and genetically engineered recombinant isoallergens revealed unique patterns of reactivity with allergic patients' IgE, each naturally occurring isoallergen and variant is a potential allergen. According to these experiments each individual allergic patient has a unique response with respect to allergen specific B- and T cells defining unique patterns of reactivity towards individual allergens, isoallergens and variants.

Based on current know-how, it can be concluded that any essential contribution to type I allergic reactions comes from allergenic protein molecules. These are mostly globular proteins with molecular weights mainly between 10 and 40 kilodalton; isoelectric points, carbohydrate content, solubility and acceptability for freeze drying as for other globular proteins. Analyses of primary, secondary and tertiary structure do not reveal any common structural features. Although allergy increases significantly in *most developed part of the world* it is still caused by the naturally occurring environmental allergens and so far no contribution has been found from synthetic molecules. However the change in modern life style which causes the increase in allergic type I reactions is not found. Present suggestions includes change in type of food, change in hygiene level, or various pollutants having immunoadjuvantive effect.

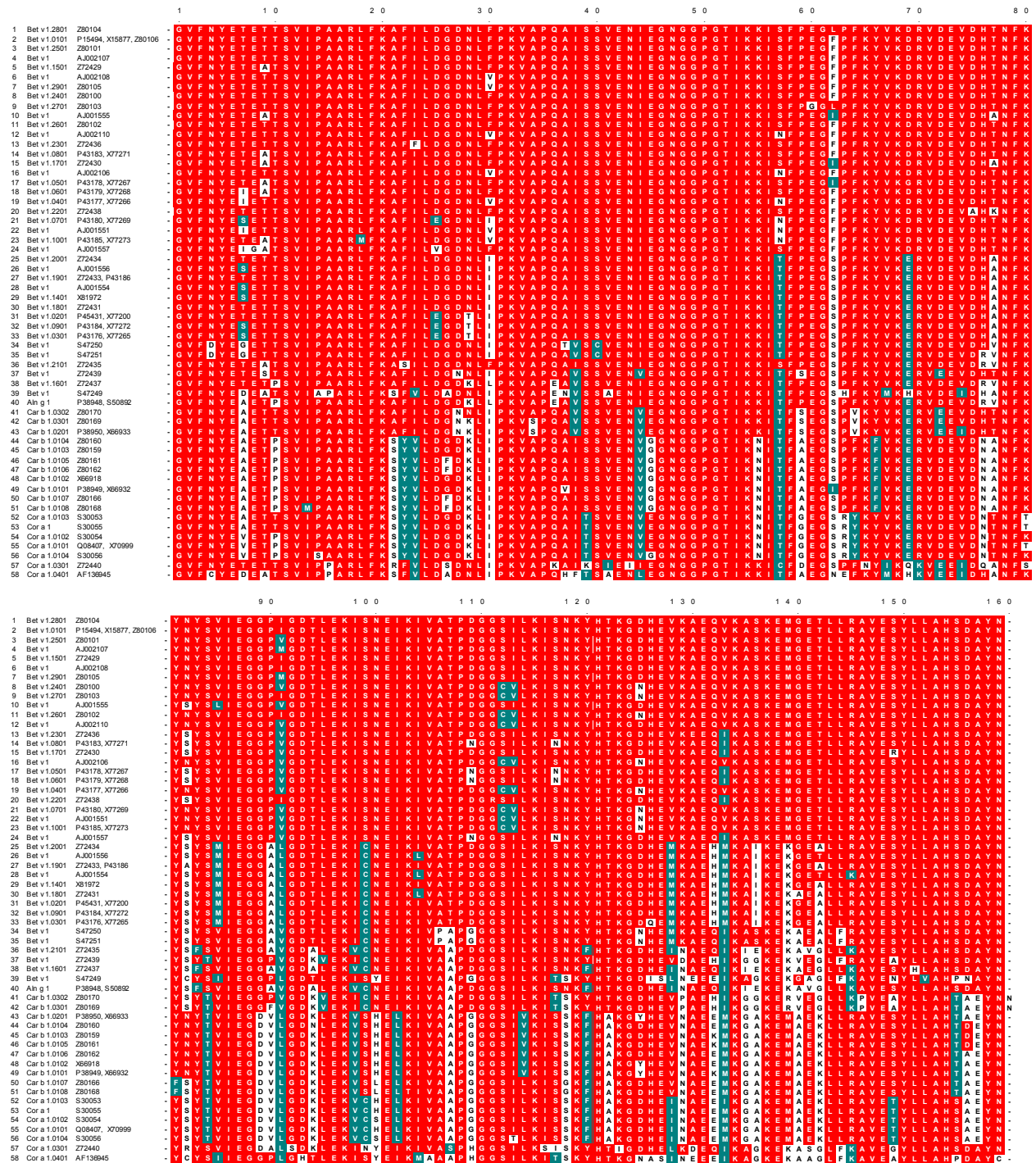


Fig. 1. Alignment of 58 *Faigales* major allergen sequences. Amino acids (single letter abbreviation) identical to Bet v 1.2801 (top line) are highlighted in red background and conservative substitutions in blue background. Other substitutions are shown by black letters on white background.

---

## Metabolic gene-environment interaction in human carcinogenesis

*Seymour Garte, Genetics Research Institute ONLUS, Milan Italy*

The issue of individual variations in response to environmental insult is of critical importance. Large inter-individual differences have been described for many acute and chronic toxicological endpoints in human populations, including rates of metabolic activation, macromolecular repair, and detoxification. While disease endpoints such as cancer exhibit enormous variability in individual sensitivity, even less complex endpoints such as the level of hydrocarbon-DNA adducts, a commonly used biomarker, also can show large differences among groups of exposed people.

Individual differences in susceptibility may be at least as important in determining the actual risk to human health from environmental toxicants as is the level of exposure. Even cancers with well known environmental risk factors, such as smoking induced lung cancer, have important genetic components in their etiology. In susceptible individuals a much lower level of exposure could produce the same adverse health effects seen with higher exposure in the average or non-susceptible population. Individual susceptibility to cancer may be partly explained by genetic variability in metabolic rates.

Increasing understanding of the role of genetic factors in determining human susceptibility to the carcinogenic effects of environmental agents has become a major research goal in molecular epidemiology. The identification of high frequency (>1%) genetic polymorphisms in genes associated with carcinogen metabolism, has allowed for the development of hypotheses that attempt to explain the high degree of individual variability in cancer susceptibility that has been observed.

Numerous studies using case control approaches have examined the association of one or a few polymorphisms with cancer risk. Reports during the past decade have suggested that certain alleles of xenobiotic metabolizing genes such as CYP1A1, CYP2D6, CYP2E1, GSTM1, GSTT1, NAT2 and EPHX may be associated with many of the more common sporadic epithelial cancers of the lung, bladder, colon, breast and skin. Because of the relatively high frequency of these allelic variants in the population (from 1 to 50%), the attributable risk for these genes could be quite high, even if their penetrance is low. While the precise penetrance of these genes is not known, it is clear that odds ratios of allelic variants rarely exceed 2 in the general population, which makes sample size a critical issue in case control studies assessing the role of these genes in cancer.

When one surveys the literature on metabolic gene variants as cancer risk factors, it is apparent that the most striking feature of the published studies is the heterogeneity of the results. Weakly positive and negative findings have been reported for almost every combination of allele and cancer type. Different laboratories working on the same gene and the same cancer often get different results using different case populations. Meta-analyses and pooled analysis have generally found certain gene variants such as GSTM1 deletion and NAT2 slow acetylation to be significantly associated with lung and bladder cancer respectively, but at a very low level of penetrance. Compared to many genetic and non-genetic risk factors, risks from these genetic variants are unexceptional, and it might be considered that the metabolic genes probably play little if any role in cancer susceptibility.

This is to be expected given the limited and specific biochemical role such genes play in the carcinogenic process. However, when particular groups of case populations are examined separately, the importance of these genetic polymorphisms may often become

---

quite clear. A useful view is that metabolic gene risk alleles should only be studied in sub-groups of large case control studies with sound biochemical hypotheses related to the action of the gene product as a function of demographic, environmental or other genetic variables. A theoretical basis has been established for changing the question from “Is this genetic variant a risk factor in the total population?” to “For whom in a population is this variant a risk factor?”

Examples of this approach from our laboratory include the CYP1A1\*2A/\*2A homozygous genotype as a risk factor for lung cancer in smokers under the age of 45, the CYP1A1\*3 allele as a risk factor in African Americans for lung adenocarcinoma, deletion of both GSTM1 and GSTT1 in parents as a risk factor for infant leukemia without MLL gene activation. Other examples have been published, including combinations of multiple genetic risk factors, and interactions with environmental and other host factors. The targeted population approach to genetic susceptibility to environmental carcinogens has promise to expand greatly as new candidate genes and allelic variants become known through studies on the human genome.

## Kalenderen

### 2002

21.-23. januar: AMAP Conference & Workshop: Impacts of POPs & Mercury on Arctic Environments and Humans. Polar Environmental Centre, Tromsø, Norway.  
<http://www.nilu.no/niluweb/services/amapconf/>

10.-15. februar: Gordon Research Conference: Oxygen Radicals, Ventura, Californien, USA.  
<http://www.grc.uri.edu/programs/2002/oxyrad.htm>

20.-22. februar: ORP'2002: Second International Conference on Occupational Risk Prevention, Gran Canaria, Spanien.  
Info: Natàlia Méndez,  
Tel: +34 93 401 1758, Fax: +34 93 334 02 55  
E-mail: [info@orp2002.com](mailto:info@orp2002.com)  
<http://www.orp2002.com>

20.-22. februar: Universitat Halle-Wittenberg: Risk Assessment and Management of Large Contamination Sites, Halle, Tyskland.  
Info: Heidi Foth,  
Tel: +49 345 5571630, Fax: +49 345 5571871  
E-mail: [heidi.foth@medizin.uni-halle.de](mailto:heidi.foth@medizin.uni-halle.de)

3.-8. marts: Gordon Research Conference: Mutagenesis and Carcinogenesis, Ventura, Californien, USA.  
<http://www.grc.uri.edu/programs/2002/mutacarc.htm>

16.-19. marts: INTERASMA 2002, XVII World Congress of Asthma, Firenze, Italien.  
Info: Organizing Secretariat  
Tel: +39 055 50351, Fax: +39 055 5001912  
E-mail: [interasma2002@oic.it](mailto:interasma2002@oic.it)  
<http://www.oic.it/interasma2002>

15.-19. april: NIVA: Fourth international course on: Occupational Skin and Airways Allergies – Exposure, Risk Assessment and Prevention, Lyngby, Danmark.  
Info: Gunilla Rasi, NIVA  
Tel: +358 9 4747 2498, Fax: +358 9 4747 2497  
E-mail: [gunilla.rasi@occuphealth.fi](mailto:gunilla.rasi@occuphealth.fi)  
<http://www.niva.org/courses/course15-19april2002.html>

20.-24. maj: IFEH: 7th World Congress on Environmental Health, San Diego, Californien, USA.  
<http://www.ifeh2002.org/>

22.-25. maj: XXII International Congress of the European Association of Poisons Centres and Clinical Toxicologists, Lissabon, Portugal.  
<http://www.eapcct.org/eaftc.htm>

26.-31. maj: XVIth World Congress on Safety and Health at Work, Wien, Østrig.  
Info: Kongressbüro  
Tel: +43 1 33 111-527, Fax: +43 1 33 111-469  
E-mail: [safety2002@auva.sazvers.at](mailto:safety2002@auva.sazvers.at)  
<http://www.safety2002.at/page.asp/index.htm>

3.-5. juni: Third International Congress on Women, Work and Health, Stockholm, Sverige.  
Info: Congress Secretariat: Britt Lindquist,  
Tel: +46 8 619 6820, Fax: +46 8 619 6805  
E-mail: [wwh@niwl.se](mailto:wwh@niwl.se)  
<http://www.niwl.se/wwh>

---

6.-9. juni: NIVA: First international and Baltic course on: Women, Work and Health, Riga, Letland.

Info: Gunilla Rasi, NIVA

Tel: +358 9 4747 2498, Fax: +358 9 4747 2497

E-mail: [gunilla.rasi@occuphealth.fi](mailto:gunilla.rasi@occuphealth.fi)

<http://www.niva.org/courses/course6-9june2002.html>

10.-13. juni: The New Workplace: 16th International Annual Occupational Ergonomics and Safety Conference, Toronto, Canada.

Info: Department of Industrial and Manufacturing Systems Engineering, University of Windsor, Windsor, Ontario, Canada.

Tel: +1 519 253 3000/2608, Fax +1 519 973 7062

E-mail: [sdutta@uwindsor.ca](mailto:sdutta@uwindsor.ca)

<http://www.uwindsor.ca/isoes>

11.-13. juni: International Conference on Non-Linear Dose-Response Relationships in Biology, Toxicology and Medicine, Amherst, Massachusetts, USA.

Info: Denise Leonard, Environmental Health Sciences, University of Massachusetts

Tel: +1 413-545-1239, Fax: +1 413-545-4692,

E-mail: [dleonard@schoolph.umass.edu](mailto:dleonard@schoolph.umass.edu)

<http://www.belleonline.com/2002confHome.html>

17.-21. juni: ISEAC 32. International Symposium on the Environment and Analytical Chemistry, Plymouth, UK.

<http://www.pml.ac.uk/iseac32/>

20.-22. juni: Molecular Epidemiology in Preventive Medicine. Achievements and New Challenges, Krakow, Polen.

Info: Conference Secretariat,

Jagiellonian University Collegium Medicum

Chair of Epidemiology and Preventive Medicine

Tel: (4812) 423 10 04, Fax: (4812) 422 87 95

E-mail: [myjedryc@cyf-kr.edu.pl](mailto:myjedryc@cyf-kr.edu.pl)

23.-26. juni: Eighth International Symposium on Neurobehavioural Methods and Effects in Occupational and Environmental Health, Brescia, Italien.

Info: Institute of Occupational Health and Industrial Hygiene, University of Brescia,

Tel: +39 30 396 496, Fax: +39 30 394 902

E-mail: [medlav@cci.unibs.it](mailto:medlav@cci.unibs.it)

<http://www.unibs.it/medlav>

30. juni - 5. juli: Ninth International Conference on Indoor Air Quality and Climate Monterey, Californien, USA.

Info: Conference Secretariat

Tel: +1 831 426 0148, Fax: +1 831 426 6522

E-mail: [secretariat@indoorair2002.org](mailto:secretariat@indoorair2002.org)

<http://www.indoorair2002.org/>

30. juni – 5. juli: 18th UICC International Cancer Congress, Oslo, Norge.

<http://www.oslo2002.org/>

7.-12. juli: XIVth World Congress of Pharmacology: The New Century of Pharmacology, San Francisco, Californien, USA.

Info: Congress Secretariat

Tel: +1 301 530 7010, Fax: +1 301 530 7014

E-mail: [wcp@faseb.org](mailto:wcp@faseb.org)

<http://www.iuphar2002.org/>

14.-19. juli: Gordon Research Conference: Environmental Endocrine Disruptors, South Hadley, Massachusetts, USA.

<http://www.grc.uri.edu/programs/2002/enviend.htm>

11.-15. august: ISEA/ISEE: Linking exposures and health: innovations and interactions, Vancouver, Canada.

Info: ISEA/ISEE 2002 Secretariat

Tel: +1 (604) 822-1050, Fax: +1 (604) 822-1069

E-mail: [registration@housing.ubc.ca](mailto:registration@housing.ubc.ca)

<http://www.conferences.ubc.ca/iseaisee2002/>

18.-22. august: XVI IEA World Congress of Epidemiology, Montreal, Canada.

<http://www.iea2002.com/>

9.-11. september: NEWEC 2002 - Northern European Working Environment Conference: New developments in working environment and health, København.

Info: Ole J. Teller, The Danish Working Environment Council.

Tel: +45 36 14 3162, Fax: +45 36 14 3180

E-mail: [NEWEC@OSH-Council.dk](mailto:NEWEC@OSH-Council.dk)

[http://www.asc.amr.dk/konferencer\\_og\\_rejser.php](http://www.asc.amr.dk/konferencer_og_rejser.php)

11.-13. september: 16th EPICOH Congress on Epidemiology in Occupational Health and 2nd Jack Pepys Symposium on Occupational Asthma and 3rd International Congress on Women's Health: Occupation, Cancer and Reproduction

<http://www.suportserveis.es/pdf/epicoh.pdf>



---

15.-18. september: EUROTOX 2002, Budapest, Ungarn.

Info: Dr. Alice Druga, Institute for Drug Research Ltd.

Tel: +36-1-339-3323, Fax: +36-1-399-3384

E-mail: [h13769dru@helka.iif.hu](mailto:h13769dru@helka.iif.hu)

28. - 29. oktober: Third European Conference on Pediatric Asthma, London, UK.

Info: Conference Secretariat: Castle House Medical Conferences.

Tel: +44 1892 539 606, Fax: +44 1892 517 773

E-mail: [asthma@castlehouse.co.uk](mailto:asthma@castlehouse.co.uk)

<http://www.castlehouse.co.uk/asthma3/index.htm>

4.-8. november: NIVA: First international course on: Biomarkers of Stress in Relation to Occupational Health, Vilvorde, Danmark.

Info: Gunilla Rasi, NIVA

Tel: +358 9 4747 2498, Fax: +358 9 4747 2497

E-mail: [gunilla.rasi@occuphealth.fi](mailto:gunilla.rasi@occuphealth.fi)

[http://www.niva.org/courses/course4-](http://www.niva.org/courses/course4-8november2002.html)

[8november2002.html](http://www.niva.org/courses/course4-8november2002.html)

## 2003

30. marts - 3. april: Global Asthma Conference-Interasma 2003, Tel Aviv, Israel.

Info: Israel Glazer, M.D.

Tel: +972 3 514 0000, Fax: +972 3 514 0077

E-mail: [asthma@kenes.com](mailto:asthma@kenes.com)

4.-8. maj: Fourth International Conference on Environmental Mutagens in Human Populations, Brazilien.

Info: 4th ICEMHP Secretariat: Lucia Regina Ribeiro

Fax: 55-41-233 5189

E-mail: [secretariat@4thicemhp.tmp.br](mailto:secretariat@4thicemhp.tmp.br)

<http://www.4thicemhp.tmp.br/index01.htm>

9.-12. juli: First Congress on Work-Related & Environmental Allergy – WOREAL, Helsinki, Finland.

Info: Congress Team/HTM OY

Tel: +358 9 5840 9200, Fax: +358 9 5840 9555

E-mail: [congressteam@hotelmarketing.fi](mailto:congressteam@hotelmarketing.fi)

7.-12. september: World Allergy Organization Congress - XVIII ICACI, Vancouver, Canada.

Info: Congress Secretariat

The World Allergy Organization

Tel: +1 414 276 1791, Fax: +1 414 276 3349

E-mail: [Congress@worldallergy.org](mailto:Congress@worldallergy.org)

<http://www.worldallergy.org/congresses/index.shtml>

28.-31. september: EUROTOX 2003, Firenze, Italien.

Info: Prof. Marina Marinovich, University of Milan,

Tel: +39-2-20488316/356, Fax: +39-2-20488.260,

E-mail: [Marina.Marinovich@unimi.it](mailto:Marina.Marinovich@unimi.it)

## 2004

11.-16. juli: ICT X: 10th International Congress of Toxicology, Tampere, Finland.

Info: Prof. Hanna Tähti, Univ. of Tampere, Finland.

Tel: +358-3215-6672, Fax +358-3215-6170,

E-mail: [blhata@uta.fi](mailto:blhata@uta.fi)

<http://www.ictx.org/>

## Bidrag til ”miljø og sundhed” 1995-2001

### Juni 1995

Gyntelberg F. Mennesket og indeklimaet, s. 3-4.

Larsen JC. Mandlig reproduktion og kemiske stoffer med østrogenlignende effekter, s. 5-7.

Gerner-Smidt P. Levnedsmiddelbårne bakterielle infektioner, s. 8-9.

Keiding L. Allergi og miljø, s. 10-11.

Joensen HD. SOP-ELI og Miljø-SOP, s. 11-13.

Rasmussen ES. Alternativer til dyreforsøg, s. 13-14.

### Januar 1996

Knudsen I. Leder om forskningsansøgninger, s. 3.

Knudsen I. Risikovurderinger. Hvad er SMF's rolle?, s. 4-5.

Ulbak K. Radon i boliger, side 6-7.

Ladefoged O, Østergaard G, Lam HR. Neurotoksikologi, s. 8-9.

### Juni 1996

Knudsen I. Leder om forskere og formidling, s. 2.

Simonsen L. Risikovurdering af kemiske stoffer, s. 4-6.

---

Bjerregaard P. Dansk professorat i arktisk medicin, s. 7-8.

Kjærgaard S. Master of Public Health, s. 9-10.

Knudsen I. Vintermødet i Toxicology Forum 1996, s. 11-13.

### December 1996

Rosdahl VT. Leder om mikrobiologisk risikovurdering.

Rosdahl VT. Hospitalshygiejne og klinisk mikrobiologi i Litauen – et dansk/litauisk udviklingsprojekt, s. 2-4.

Engholm G, Palmgren F, Lyng E. Lungekræft, rygning og miljøfaktorer, s. 5-7.

Knudsen I. Levnedsmiddeltoksikologiske udfordringer i det 21. århundrede, s. 8-10.

### April 1997

Knudsen I. Leder: Om begrundet tvivl og forsigtighedsprincippet, s. 2-3.

Lam HR, Østergaard G, Ladefoged O. HjerneÅret 1997 – neurotoksikologi, s. 4-6.

Guldager B. Golf-undersøgelsen, s. 7-8.

Keiding L. Miljømedicinsk viden og prioritering af forebyggelse, s. 9-10.

Knudsen I. SMF etablerer debatforum for miljø og sundhed, s. 11-12.

### August 1997

Gyntelberg F. Leder: Indeklimaet og skimmelsvampe, s. 2-3.

Gravesen S. Betydningen af skimmelsvampevækst for indemiljø og sundhed, s. 4-6.

Larsen PB, Jensen SS, Fenger J. Sundhedsskader fra små partikler i byluft, s. 7-12.

### Marts 1998

Lund M. Fornyelse og konsolidering af SMF, s. 2-4.

Guldager B. Amalgamfyldninger i tænderne, s. 9-11.

Schlundt J. Mikrobiologisk risikovurdering, s. 12-14.

Keiding L. Den internationale konference om miljømedicinsk epidemiologi, august 1997, s. 20-21.

### Juli 1998

Mølbak K. Leder: Antibiotikaresistens som miljømedicinsk problem, s. 2-3.

Sørensen TL. Resistensovervågning i Danmark: DANMAP, s. 4-8.

Guldager B, Ishøy T, Appleyard M. Første rapport fra Golfundersøgelsen, s. 9-11.

Gyntelberg F, Balling H. Miljømedicinsk risikooplevelse – temadag juni 1998, s. 28-30.

### November 1998

Gyntelberg F. Leder om SMF, s. 2-3.

Loft S. Miljøfaktorer og oksidativt stress, s. 4-7.

Midtgård U, Poulsen OM. Tværvideenskabelig forskning i affald og genanvendelse, s. 8-14.

Hertel O, Jensen SS. Modeller for luftkvalitetseksponering, s. 15-20.

Poulsen OM. Center f. Miljø og Luftveje, s. 21-28.

### Marts 1999

Gravesen S. Leder: Skimmelsvampevækst i bygninger – endnu et miljømedicinsk problem, s. 2-3.

Nielsen KF. Mykotoksiner og biologisk aktive stoffer i vandskadede bygninger, s. 4-9.

Christensen H. Computerarbejde, s. 10-13.

Keiding L, Brinck B. Referat fra det 5. Nordiske Miljømedicinske Møde, Soria Moria ved Oslo, den 19.-20. oktober 1998, s. 14-20.

Hertel O, Jensen SS. SOEH – konference i Washington DC, USA, s. 21-23.

### August 1999

Balling H. Leder: Miljømedicin og folkesundhed, s. 2-3.

Tjønneland A. Kost, kræft og helbred – en befolkningsundersøgelse og biologisk bank i Danmark, s. 4-7.

Fenger J, Skov H, Christensen CS, Essenbæk M, Larsen D, Sørensen L. Indendørs luftforurening i rekonstruerede jernalderhuse, s. 8-10.

---

Laursen E. Referat fra den 3. WHO ministerkonference om miljø og sundhed, London 16.-18. juni 1999, s. 12-18.

### December 1999

Gyntelberg F. Leder: Forskningsformidling – hvornår og hvordan? S. 2-3.

Suadicani P. Mulige årsager til sociale uligheder i risiko for iskæmisk hjertesygdom, s. 4-7.

Breck T. Risikokommunikation – fra ”public deficiency” til gensidig dialog, s. 8-12.

Johnsen K. Vinduer og dagslys, s. 13-17.

### Juni 2000

Knudsen I. Leder: Dagens Lottotal, s. 2-3.

Balling H, Knudsen I. Risikohåndtering – principper og muligheder, s. 4-8.

Meyer HW. Skoleundersøgelsen i København. Ph.d.-afhandling, s. 9-10.

Pedersen JC. Kort nyt fra Danmarks Miljøundersøgelser, s. 11-12.

Jørgensen M. International symposium om ”Environmental Endocrine Disruptors”, deember 1999 i Kobe, Japan, s. 14-16.

### Oktober 2000

Gyntelberg F. Leder: Indeklima i skoler, s. 2-3.

Johansen C. Elektromagnetiske felter og kræft – en status, s. 4-7.

Mølbak K. Status for zoonotisk bakteriel gastroenteritis i Danmark, s. 8-11.

Allermann L, Meyer HW. Imflammatorisk potentiale i støv og association til Bygnings Relaterede Symptomer, s. 12-17.

Jacobsen P, Gyntelberg F. Meeting of the Nordic Association of Poison Centres, May 26-27 2000, s. 18-19.

### December 2000

Balling H. Leder: Center for forebyggelse, s. 2-3.

Gyntelberg F. Synspunkt: Gyllespredning – en arbejds- og miljømedicinens synspunkter, s. 3-4.

Linneberg A. Udviklingen i forekomsten af luftvejsallergi i Danmark, s. 5-7.

Guldager B, Suadicani P. Hyppige mave-tarmsymptomer blandt danske golfkrigsveteraner – hvorfor? S. 8-11.

Vogel U, Dybdahl M. Kroppens forsvar mod DNA-skader påvirker kræfttrisikoen, s. 12-13.

Arnesen S, Nielsen JB, Jacobsen JA, Strand J, Grandjean P. Butyltin-forbindelser – en risiko for danskere? S. 14-16.

Guldager B, Wolff C. International Congress on Occupational Health (ICOH), s. 17-19.

Loft S. Third International Conference on Environmental Health (ICEH), Hannover, 1.-4. oktober 2000, s. 20-21.

### Maj 2001

Gyntelberg F. Leder: Mobiltelefoni og sundhed, s. 2-3.

Gyntelberg F, Balling H. Synspunkt: Miljømedicin i Danmark, s. 3-4.

Johansen C. Mobiltelefoner og kræft – en status, s. 5-7.

Jensen PH, Søgaard-Hansen J, Ulbak K. Bestemmelse af uranindtag, s. 8-14.

Meyer H. Forskningsprogrammet ”Skimmelsvampe i bygninger”, s. 15-16.

Ulbak K, Andersen CE. Ny landsomfattende dansk radon undersøgelse, s. 17-23.

### September 2001

Jacobsen P. Leder om børn og kemiske stoffer, s. 2-3.

Hertel O, Jensen SS, Brandt J, Fenger J. Hvor meget luftforurening udsættes vi for? S. 4-7.

Larsen PB. Børns og ufødtes udsættelse og følsomhed over for kemiske stoffer, s. 8-11.

Nash J. Air Pollution and Danish Society: What are the means for an understandable communication? S. 12-13.

Tidligere numre af ”miljø og sundhed” fås, så længe restoplag haves, ved henv. til SMFs sekretariat.