

Uvodnik

UDK 613.65:611.24:549.6

METODOLOGIJA OCJENJIVANJA PROFESIONALNE IZLOŽENOSTI VLAKNIMA AZBESTA*

F. Valić i Z. Skurić

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Škola narodnog zdravlja "Andrija Štampar", Zagreb

(Primljeno 4. IX. 1987)

Konvencija 162 i Preporuka 172 o azbestu Međunarodne organizacije rada iz 1986. godine zahtijevaju da nadležni organ odredi metodu kojom treba uzorkovati i određivati aerogena vlakna azbesta u svrhu ocjenjivanja ugroženosti radnika. Skupština Jugoslavije će vjerojatno ratificirati te dokumente u periodu 1987/88. Zato se u članku predlaže standardna metoda za određivanje azbesta u profesionalnoj ekspoziciji.

U članku se kritički razmatraju najnoviji pogledi na ekološku i biološku osnovu ocjene zdravstvenih opasnosti od aerogenih vlakana, a posebno azbesta. Analiziraju se faktori o kojima ovisi transport, depozicija i retencija vlakana u dišnom sustavu u ovisnosti o duljini i promjeru vlakna te mehanizmi dezintegracije i translokacije. Na temelju toga, a uzimajući u obzir najvjerojatnije lokacije fibrogenog i karcinogenog djelovanja vlakana azbesta u dišnom sustavu, definiraju se kritične dimenzije vlakana koje treba određivati da bi se odredile patogene frakcije i predlaže standardna metoda uzimanja uzoraka na membranske filtre uz evaluaciju optičkom mikroskopijom s faznim kontrastom.

Razmatra se i odnos mogućnosti analize optičkom i elektronskom mikroskopijom. Posebno se kritički analiziraju mogućnosti upotrebe alternativnih metoda konimetrije, termalne precipitacije i impakcije, ali samo uz korekciju dobivenih rezultata s izrazima dobivenim standardizacijom prema metodi membranske filtracije.

KONTROLIRANA UPOTREBA AZBESTA

Konvencija br. 162 o azbestu *Međunarodne organizacije rada* iz 1986. godine (1) zahtijeva u čl. 3 da nacionalno zakonodavstvo mora definirati mjere da se nadgleda i spriječi profesionalna ugroženost zdravlja radnika, u čl. 5 da se primjena tih mjera mora nadzirati odgovarajućim sistemom inspekcije, a čl. 15 da nadležni organ mora propisati granice ekspozicije do kojih radnik smije biti izložen azbe-

* Djelomično prikazano na II. radnom sastanku o bezbednosti kod korišćenja azbesta, Arandelovac, 24-25. rujna 1987.

stu ili druge kriterije za ocjenjivanje radne okoline. Preporuka br. 172 o azbestu *Međunarodne organizacije rada* iz 1986. godine (2) zahtijeva u čl. 24 da nadležni organ uprave utvrdi u kojim slučajevima mora poslodavac sistematski kontrolirati koncentraciju aerogenih čestica azbesta, u čl. 22 da granice izlaganja treba utvrditi uzimajući u obzir vaganu ekspoziciju u radnom danu od 8 sati i radnom tjednu od 40 sati uz upotrebu metode uzorkovanja i određivanja prihvaćene od nadležnog organa, te u čl. 30 da uzimanje uzoraka i mjerenje koncentracije azbesta treba povjeriti kvalificiranom osoblju koje će primjenjivati metode što ih je odobrio nadležni organ uprave.

U današnje vrijeme kad su neke zemlje (Švedska, Finska) zakonom zabranile upotrebu azbesta, a neke pripremile slične zakone (SAD), zbog fibrogenog a naročito karcinogenog djelovanja na čovjeka, jedini mogući način zadržavanja upotrebe azbesta je "kontrolirana upotreba" (Evropska ekonomska zajednica, Komisija evropske zajednice, Američka administracija za sigurnost na radu i medicinu rada, pa i Međunarodna organizacija rada).

Kontroliranom upotrebom treba u prvom redu tehnološkim i drugim postupcima postići da radnik na radnom mjestu ne bude izložen razini azbesta u zraku iznad "granice ekspozicije" koja se određuje prvenstveno na osnovi predviđenih zdravstvenih reperkusija metodom "ocjenjivanja rizika" (3). Sprečavanje izloženosti prekomjernoj razini azbesta jedina je moguća mjera prevencije, kao što piše *Murray*, predsjednik Međunarodne komisije medicine rada, za sastanak eksperata o sigurnoj upotrebi azbesta Međunarodne organizacije rada (4): "Nikakav medicinski pregled, bilo kako pažljiv i kompetentan, neće spriječiti bolesti uzrokovane azbestom. Jedini način sprečavanja bolesti je sprečavanje udisanja prašine." To dakako ne znači da medicinski pregledi nemaju svoje značenje u borbi protiv bolesti uzrokovanih azbestom, ali je teško zaustaviti jednom započete patološke promjene terapijskim postupcima.

Kako kvantitativno ocjenjivanje opasnosti od azbesta tako i analiza efikasnosti metoda za suzbijanje zapašenosti temelje se na određivanju azbesta u zraku radnog mjesta. Zato je kvantitativno određivanja azbesta najvažnija karika u lancu kontrolirane upotrebe.

EKOLOŠKA I BIOLOŠKA OSNOVA ZA OCJENU OPASNOSTI OD AEROGENIH VLAKANA

Prema do sada sakupljenim podacima, samo teško topljiva vlakna azbesta određene konfiguracije koja mogu biti udahnuta, deponirana u određenim dijelovima dišnog sustava i tamo zadržana određeno vrijeme mogu uzrokovati fibrogene odnosno karcinogene promjene. Samo takva vlakna ima smisla određivati u svrhu ocjenjivanja zdravstvenih opasnosti.

Lippmann (5) i *Lippmann, Yeates i Albert* (6) dali su kritički pregled glavnih mehanizama koji dovode do depozicije čestica, uključujući i vlakna, u dišnom sustavu. Pritom je prikladno podijeliti respiratorni sustav u tri dijela: nazofarinks, traheobronhalni trakt i alveolarni prostor. Depozicija čestica u nazofarinksu uglavnom je posljedica inercijske impakcije zbog velike brzine i nagle promjene smjera

strujnica zraka. Depozicija u traheobronhalnom dijelu određena je inercijskom impakcijom u većim dišnim putovima i gravitacijskom sedimentacijom u manjim.

Depozicija je naročito naglašena na račvanjima dišnih putova. Kako se na taj način u gornjim dijelovima dišnog sustava zadržavaju relativno veće čestice, samo se najmanje čestice deponiraju u alveolarnom dijelu. Čestice u alveolarnom prostoru deponiraju se uglavnom gravitacijskom sedimentacijom, a submikronske čestice i Brownovom difuzijom koja postaje to važnija što je čestica manja. Ponašanje čestica pri sedimentaciji i inercijskoj depoziciji određuje njezin aerodinamski promjer (promjer kugle specifične težine 1 g/cm^3 koja pada istom terminalnom brzinom kao čestica), a ne stvarna fizikalna dimenzija koja je vrlo mala u odnosu na dimenzije dišnih putova. U slučaju kompaktnih čestica samo čestice aerodinamskog promjera manjeg od 7 do $10 \text{ }\mu\text{m}$ imaju šansu da prodru kroz terminalne bronhirole u alveolarni prostor. Sumirajući, kada se udahnu kompaktne čestice, veće se pretežno deponiraju u nazofarinksu odnosno na traheobronhalnim stijenkama gravitacijskom sedimentacijom ili inercijskom impakcijom, a samo čestice manje od 7 do $10 \text{ }\mu\text{m}$ aerodinamskog promjera mogu prodrijeti u alveolarni prostor gdje se mogu deponirati sedimentacijom ili, ako su vrlo malih dimenzija ($< 0,5 \text{ }\mu\text{m}$), Brownovom difuzijom, ili mogu izbjeći depoziciju i biti izdahnute.

Teško topljive čestice koje su deponirane na stijenkama traheobronhalnog trakta bit će izbačene iz respiratornog trakta mukocilijarnim mehanizmom treptljivog epitela, dok će čestice deponirane na alveolarnim stijenkama biti fagocitirane i uklonjene ili mukocolijarnim mehanizmom ili kroz limfni sustav. Manji dio tako deponiranih netopljivih čestica ostaje u plućima u obliku žarišnih nakupina ili u limfnim čvorovima, gdje mogu uzrokovati patološku reakciju intenzivnost koje dobrim dijelom ovisi o vremenu zadržavanja na tim mjestima odnosno otporu nakupljenog materijala prema otapanju i kemijskim utjecajima.

Nešto je drugačija situacija u slučaju vlakana. Karakteristike depozicija vlakana i kompaktnih čestica razlikuju se uglavnom zbog depozicije vlakana intercepcijom kao dodatnim mehanizmom, kao i zbog povećane elektrostatske privlačnosti vlakana (7) u odnosu na čestice. Depozicija intercepcijom je uzrokovana kada jedan od krajeva vlakna nošenog strujnicom zraka dotakne bilo koju površinu u respiratornom traktu, uključivo i dlačice nosa. Depozicija intercepcijom veća je za dulja vlakna, jer je s većom duljinom vlakna veća vjerojatnost da će kraj vlakna dotaći površinu koju centar mase ne bi. Intercepcija postaje značajna kada duljina vlakna u odnosu na promjer dišnog puta postaje značajna.

Morgan i *Morgan i suradnici* (9) izlaganjem štakora azbestu i sintetskim fluoramfibolima aerodinamskog promjera $1,3\text{--}2,0 \text{ }\mu\text{m}$ našli su alveolarnu depoziciju od 10 do 13%. Alveolarna depozicija staklenih vlakana stvarnog promjera $1,5 \text{ }\mu\text{m}$ (aerodinamskog promjera oko $3,2 \text{ }\mu\text{m}$) bila je samo 2% za vlakna duljine 5 ili $10 \text{ }\mu\text{m}$, a manja od 0,5% za vlakna duljine $30\text{--}60 \text{ }\mu\text{m}$. Ti su pokusi pokazali da prodiranje vlakana u alveolarni prostor štakora naglo pada u ovisnosti o aerodinamskom promjeru iznad $2 \text{ }\mu\text{m}$, a da s povećanom duljinom vlakana raste depozicija u traheobronhalnim dišnim putovima. Već je ranije *Timbrell* ustanovio da je aerodinamski promjer amozita 3,5 puta, krocidolita 3 puta, a krizotila 2,5 puta veći od stvarnih promjera, pa je na temelju gornje granice respirabilnosti (depo-

zicija u alveolarnom prostoru) od 10 μm aerodinamskog promjera kuglastih čestica zaključio da su samo azbestna vlakna stvarnog promjera manjeg od 3,5 μm "respirabilna", što je mnogo kasnije potvrdio (11) analizom vlakana antofilita u plućima finskih rudara u kojima je najdeblje vlakno bilo stvarnog promjera oko 3,5 μm . U pomanjkanju pouzdanih eksperimentalnih podataka o regionalnim depozicijama vlakana u dišnom sustavu predviđanje depozicije se može izračunati na osnovi teorijskih modela. Najkompetentniji model izradili su *Harris i Fraser* (12) te *Harris i Timbrell* (13) kao proširenje poznatog modela Grupe za plućnu dinamiku *Međunarodne komisije za zaštitu od zračenja* (14) na individualne cilindrične štapove ili orijentirane paralelno s osi protoka ili orijentirane po zakonu slučaja. *Hwang* je proširio model na slučajno orijentirane skupine od dva ili tri štapa (15). Prognoze depozicije tim modelima zadovoljavajuće se slažu s rezultatima eksperimenata na životinjama.

Morgan i Holmes (16) su ustanovili da je uklanjanje fagocitiranjem makrofazima u štakora manje djelotvorno za vlakna duljine 10 μm a potpuno nedjelotvorno za vlakna 30 μm i dulja. *Timbrell* (11) je prije zaključio, na temelju ispitivanja pluća finskih rudara antofilita, da je kritična duljina vlakna za uklanjanje fagocitiranjem 17 μm , što je u skladu s kasnijim nalazima *Morgana i suradnika* (17) koji su ustanovili da su kritične duljine za staklena vlakna 10–30 μm .

EKOLOŠKI I BIOLOŠKI FAKTORI U OCJENI UGROŽENOSTI OD AZBESTA

S obzirom na činjenicu da je glavna opasnost za zdravlje od vlakana azbesta onih veličina koje mogu biti udahnute, deponirane i zadržane u dišnom sustavu, treba u ocjeni ugroženosti uzorkovati i kvantitativno odrediti upravo te frakcije.

Problem do danas još neriješen počinje s definicijom kritičnih dimenzija patogenih vlakana. Daleko najčešće se i regulativom mnogih zemalja i preporukama različitih međunarodnih tijela danas traži mjerenje vlakana azbesta promjera manjeg od 3 μm , duljine veće od 5 μm s time da se vlaknom smatra čestica omjera duljine i promjera većeg od 3 : 1.

Kao što je već prije spomenuto, dio udahnutih vlakana koja prodiru u alveolarni prostor pada s rastućim promjerom; mala je za vlakna stvarnih promjera oko 2 μm , a pada praktički na nulu za vlakna stvarnog promjera oko 3 μm (što za vlakna azbesta odgovara aerodinamskom promjeru od oko 10 μm). Ta se vlakna smatraju i nazivaju respirabilnim. Treba, međutim, naglasiti da su respirabilna vlakna odgovorna za zadebljanja i kalcifikaciju pleure, za reakciju na plućnom parenhimu (azbestoza) i za mezoteliom pleure, ali da to nisu vlakna koja mogu uzrokovati primarni karcinom bronha koji je najčešće lociran na račvanjima velikih bronha. Prema tome, ako se respirabilnim uzorkovanjem i određivanjem vlakana azbesta želi prognozirati i vjerojatnost nastajanja azbestom izazvanog karcinoma, onda je to nedovoljno obuhvatna metoda na što su upozorili *Valić i suradnici* (18) u nedavno objavljenom "Environmental Health Criteria" No. 53 Svjetske zdravstvene organizacije. Kritična duljina vlakana iznad 5 μm izabrana je na temelju rezultata eksperimentalnih istraživanja da su vlakna duljine 10–100 μm najopasnija (19). Kako depozicija intercepcijom u nazofarinksu i traheobronhalnom traktu

počinje igrati sve veću ulogu za vlakna duljine iznad približno 15 μm , malo vlakana duljih od 50 do 100 μm prodire u alveolarni prostor (mada su nađena i pojedina vlakna duljine do 300 μm (16). Osim toga deponirana kratka vlakna duljine do 5 μm efikasnije se uklanjaju iz pluća fagocitiranjem nego dugo vlakno koje ne može fagocitirati pojedini makrofag.

Što se tiče kriterija za razlikovanje vlakna od čestice, tj. minimalni omjer duljine i promjera $>3 : 1$, kriterij nije temeljen na znanstvenim podacima, dapače ima mnogo razloga za kritiku omjera $3 : 1$. Ustvari taj je omjer uveo 1958. godine Savjet za istraživanje azbesta, konzorcij triju britanskih industrija azbesta, da bi se standardizirale metode određivanja i da bi se rezultati učinili usporedivim (20). Rezultati pokusa *Stantona i Layarda* (21) i *Potta* (22) pokazuju da implantirana vlakna azbesta omjera duljine i promjera $<5 : 1$ nisu karcinogena, a da je karcinogenost vlakna omjera duljine i promjera $<10 : 1$ vrlo mala; tek vlakna omjera duljine i promjera $>10 : 1$ imaju značajna karcinogena svojstva. Uostalom, vlakna duljine $>10 \mu\text{m}$ neće biti respirabilna ako im je omjer duljine i promjera $<5 : 1$ (promjer postaje $>2 - 3 \mu\text{m}$).

Na temelju gore navedenog može se zaključiti da bi bilo opravdano prihvatiti *Waltonovu* preporuku (20) da bi za ocjenu ugroženosti trebalo mjeriti vlakna azbesta duljine između 5–10 μm i 100 μm i omjera duljine i promjera većeg od 5:1 do 10:1. Da li bi trebalo prihvatiti i njegovu sugestiju o maksimalnom promjeru od 1,5 do 2,0 μm ostaje dvojbeno ako se želi uzeti u obzir i rizik uzrokovanja karcinoma bronha.

Implikacije upotrebe optičke i elektronske mikroskopije

Daleko najveći broj suvremenih standarda i preporuka, kako nacionalnih tako i međunarodnih, predviđa optičku mikroskopiju s faznim kontrastom na uzorcima sakupljenim na membranske filtre za određivanje razine ekspozicije azbesta u radnoj okolini. Najveći broj predviđa brojenje vlakana promjera manjeg od 3 μm , duljine iznad 5 μm i omjera duljine i promjera $>3 : 1$. Pretpostavka je da su sva takva vlakna azbest. Kako optičkom mikroskopijom nije moguće razlikovati azbestna od drugih vrsta vlakana, rezultati analize biti će ispravni samo kad je ta pretpostavka ispunjena. Ako su prisutne druge vrste čestica koje također ispunjavaju uvjete definicije vlakna, rezultati analize bit će pogrešni. Prisutnost talka ili gipsa naprimjer može dati previsoke rezultate analize. Čak i u azbesttekstilu, gdje su u pravilu "najčišće" ekspozicije azbestu, nađena su neazbestiformna vlakna polimorfa antigorita i lizardita koja su dovela do ozbiljnog precjenjivanja razine ekspozicije na radnim mjestima (23).

Campbell i suradnici (24, 25) su pokazali da mnoga neazbestiformna vlakna ispunjavaju uobičajene uvjete nacionalnih standarda za vlakna (promjer $<3 \mu\text{m}$, duljina $>5 \mu\text{m}$, omjer duljine i promjera $>3 : 1$), da rijetko prelaze $5 : 1$ a pogotovo $10 : 1$ u omjeru duljine i promjera, dok veliki dio vlakana azbesta koja ispunjavaju nacionalne uvjete imaju omjer duljine i promjera $>5 : 1$, a mnoga i $>10 : 1$. To vodi do zaključka da bi upotreba omjera duljine i promjera $>5 : 1$, a još više $>10 : 1$ umjesto $>3 : 1$ dovela do bolje diskriminacije. *Wylie* (26) je pokazao da se upotrebom kritičnog omjera duljine i promjera $>20 : 1$ uključilo

najveći dio azbestnih vlakana a isključilo većinu nefibrogenih fragmenata. On zaključuje da je upotreba omjera 3:1 mineraloški neopravdana i da treba biti napuštena.

Dodatni je problem da veliki dio postojećih azbestnih vlakana nije vidljiv optičkom mikroskopijom jer se tanja vlakna mogu otkriti samo elektronskom mikroskopijom. Najtanje vlakno koje se još može razabrati optičkom mikroskopijom je promjera 0,2–0,4 μm . U ispitivanjima u rudnicima i tvornicama azbesta u Kanadi i Južnoj Africi transmisijskom elektronskom mikroskopijom (27) nađena su aerogena vlakna krizotila medijana promjera 0,06 μm , amozita 0,26 μm i krocidolita 0,09 μm , dakle ispod ili na granici rezolucije optičke mikroskopije. Dio vlakana duljine $>5 \mu\text{m}$ i promjera $>0,2 \mu\text{m}$ u odnosu na broj svih vlakana vidljivih pod elektronskim mikroskopom u postocima je samo 2% za vlakna krizotila i krocidolita, a 20% za amozit. Dio vlakana duljine $>5 \mu\text{m}$ i promjera $>0,2 \mu\text{m}$ u odnosu na sva vlakna duljine $>5 \mu\text{m}$ (svih promjera vidljivih pod elektronskim mikroskopom) je 25% za krocidolit, 85% za amozit, 50% za krizotil.

Iz svih tih podataka je vidljivo da se optičkom mikroskopijom može odrediti samo jedan dio prisutnih vlakana azbesta u zraku, i to u najvećem broju slučajeva mali dio. Drugim riječima, rezultat određivanja vlakana azbesta optičkom mikroskopijom je indeks ekspozicije, a ne kvantitativna razina ekspozicije vlaknima azbesta. Budući da je to tako, posebno je važno upotrebljavati strogo standardiziranu metodu za kvantitativnu analizu, jer u protivnom slučaju rezultati nisu usporedivi. Kako je metoda određivanja vlakana azbesta u radnoj okolini metodom optičke mikroskopije s faznim kontrastom uzoraka sakupljenih membranskom filtracijom preporučena od *Savjeta za istraživanja azbesta* (28) i *Međunarodne asocijacije azbesta* (29) i prihvaćena od *Međunarodne organizacije rada* (30) i *Evropske ekonomske zajednice* (31), pa u načelu i od *Međunarodne organizacije za standardizaciju* (32), mi je predlažemo kao obaveznu standardnu metodu za Jugoslaviju u skladu sa zaključcima I. radnog sastanka o problemima azbestoze u Jugoslaviji održanog 1985. godine. U slijedećem poglavlju dan je opis glavnih točaka, a u prilogu detalji metode u načelu kako ih razmatra Međunarodna organizacija za standardizaciju.

Mada smo u tekstu naveli niz prednosti definicije vlakna azbesta omjerom duljine i promjera $>5 : 1$ umjesto $>3 : 1$, ipak smo u ovdje predloženoj standardnoj metodi zadržali omjer $>3 : 1$, s obzirom na to da to još uvijek zahtijeva-ju propisi najvećeg broja zemalja i najveći broj međunarodnih preporuka.

Prijedlog standardne metode

Standardnom metodom ocjenjuju se vlakna azbesta kojima je omjer duljine i promjera $>3 : 1$, koja su duža od 5 μm i tanja od 3 μm . U praktičkoj izvedbi metode donja granica detekcije je oko 0,1 vl/cm^3 za osamsatne uzorke.

Uzorak se sakuplja na membranske filtre provlačenjem zraka baterijskom pumpom. Preporučena linearna brzina na površini membranskog filtra iznosi 4 cm/s pa će se protok, uz uobičajene dimenzije membranskih filtera, kretati od 1 – 1,98 L/min . Minimalno dopušteno opterećenje filtra iznosi 50 vlakana/ mm^2 , a maksimalno oko 650 vlakana/ mm^2 filtra. Uzimajući u obzir dopušteno opterećenje fil-

tra ocjenjuje se potrebno trajanje sakupljanja uzorka. Filtri s uzorkom obrađuju se acetonom i triacetinom. Indeks refrakcije medija iznosi 1,45. Uzorci su stabilni i bez migracije čestica.

Vlakna azbesta broje se optičkom mikroskopijom s faznim kontrastom uz ukupno povećanje 500 puta. Okularna mrežica je Walton-Beckettova s označenom kružnicom promjera $100 \pm 2 \mu\text{m}$ i ključnim dimenzijama 3 i 5 μm . Zbog razlika u performansama mikroskopa istih specifikacija i mikroskopičara preporučuje se rutinsko testiranje granica detekcije objektnim test stakalcima HSE/NPL. Metoda dopušta varijacije postupka ako se time ne smanjuje reproducibilnost ili se ne unose druge pogreške u određivanje. Metoda je detaljnije dana u Prilogu.

Mogućnost primjene alternativnih metoda analize

Različite metode određivanja azbesta upotrebljavale su se godinama. *Robock* (33) daje pregled upotrebljivanih metoda i godina kada su prvi put upotrijebljene (tablica 1).

Tablica 1*
Metoda određivanja azbesta u raznim zemljama

Instrument	Zemlja i godina uvođenja				
	SAD	Velika Britanija	Kanada	Njemačka	Južna Afrika
konimeter				1951.	1916.
termalni precipitator		1935.			1940.
midget impinger	1935.		1948.		
membranski filter	1965.	1965.	1974.	1976.	1970.

* Modificirano iz *Robock, K.* (33)

Kao što je vidljivo iz tablice 1, upotrebljavane su četiri različite metode za određivanje brojčanih koncentracija azbesta od kojih je metoda membranske filtracije uvedena posljednja. U Velikoj Britaniji je upotrebljavana i modificirana metoda termalne precipitacije »dugotrajna termalna precipitacija«.

Već je *Roach* 1965. godine (34) pokazao značajan utjecaj upotrijebljene metode i uvjeta mikroskopiranja na dobivene rezultate. Tablica 2 daje njegove rezultate dobivene na istoj lokaciji u jednoj tvornici amozita. Iz tablice je jasno vidljiva velika varijacija rezultata u ovisnosti o metodi i uvjetima analize.

Znanstvenici iz Južne Afrike, djelomično u suradnji s *Robockovom* grupom iz Njemačke, objavili su nekoliko radova o usporedivosti rezultata određivanja koncentracija azbesta metodama konimetrije, termalne precipitacije i membranske filtracije (35–38). Rezultati su pokazali veliko raspršenje, ali su autori ipak pokušali izvesti regresijske jednadžbe za preračunavanje rezultata dobivenih jednom metodom u rezultate koje treba očekivati drugom. *Walton* (20) je tim jednadžbama izračunao za niz uzoraka očekivane koncentracije azbesta uz upotrebu membran-

Tablica 2*

Broj aerogenih čestica i vlakana dobivenih raznim metodama

Instrument	Objektiv mikroskopa (mm)	Sve čestice (\checkmark/cm^2)	Vlakna $l > 5 \mu m$, $l:d > 3:1$ (vl/cm^3)
midget impinger	16	38	4
membranski filter	16	13	2
	4	21	13
	2	77	17
termalni percipitator	16	98	11
	4	195	19
	2	382	20

* Iz Roach, S. A. (34)

ske filtracije na temelju vrijednosti mjerenih konimetrom i termalnim precipitatorom. Ti su rezultati prikazani u tablici 3. Dobro ilustriraju razlike koncentracije koje se dobivaju primjenom različitih metoda na istim radnim mjestima.

I dva referata održana na I. radnom sastanku o problemima azbestoze u Jugoslaviji (39,40) ukazala su na iste probleme. Dok je u jednom nađeno da su rezultati određivanja vlakana azbesta konimetrom niži od rezultata dobivenih termal-

Tablica 3*

Očekivane koncentracije vlakana duljine $> 5 \mu m$ odnosa duljine i promjera $> 3:1$ membranskom filtracijom za koncentracije 1 i $5 vl/cm^3$ mjerene konimetrom ili termalnim precipitatorom

Membranska filtracija veličina pora	Tip azbesta	Vlakna u cm^3			
		konimetar		termalni precipitator	
		1	5	1	5
8 μm	krocidolit (Cape)	0,75	7,3	0,9	4
	krocidolit (Transvaal)	2,2	13	1,9	8,8
	krizotil	4,6	17	7,3	21
	amozit	4,4	21	5,7	49
0,8 μm	krocidolit (Cape)	4,3	9,8	4,5	7,6
	krocidolit (Transvaal)	6,8	13	5,7	11
	krizotil	8,1	14	9,8	16
	amozit	7,9	16	8,8	24
0,8 μm	krocidolit i amozit	1,0	5,0	0,5	3,5

* Walton (20) na temelju rezultata (35-38)

nim precipitatorom (39), u drugom se tvrdi da se konimetrom dobivaju povišeni rezultati (40), dok se iz tablice 3 može razabrati da se metodom membranske filtracije konsistentno dobivaju viši rezultati u usporedbi s konimetrijom i termalnom precipitacijom, a da nema sistematske jednosmjerne razlike između rezultata dobivenih termalnom precipitacijom i konimetrijom.

Iz svih tih podataka može se izvući zaključak da se na terenu u pomanjkanju standardne opreme za metodu membranske filtracije mogu upotrebljavati i druge metode za grubu ocjenu ugroženosti (termalna precipitacija, konimetrija), ali se svaki na terenu upotrebljavani instrument obavezno mora standardizirati prema standardnoj metodi membranske filtracije posebno za svaki zasebni dio tehnološkog procesa.

PRILOG
PREPORUČENA STANDARDNA METODA ZA ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE AZBESTNIH VLAKANA OPTIČKOM MIKROSKOPIJOM S FAZINIM KONTRASTOM

(prema prijedlogu Međunarodne organizacije za standardizaciju ISO/DIS)

Aparatura i tehnika izvođenja

Filtri. Membranski filtri veličine pora 0,8 ili 1,2 μm promjera 25 ili 37 mm.

Držać filtra. Plastični trodijelni držači filtra s celuloznom podlogom za membranski filter. Pri sakupljanju uzorka na držač se učvršćuje aluminijski zaštitni tuljac protiv nenamjernog oštećenja ili onečišćenja uzorka. Duljina tuljca je 1,5–2 puta veća od promjera filtra.

Transport. Uzorci se čuvaju i transportiraju u horizontalno postavljenim držačima osigurani protiv vibracija i udaraca.

Pumpa za uzorkovanje. Prenosiva baterijska pumpa. Protok bez pulsiranja, bez vidljivih vibracija priključenog rotametra.

Protok. Tražena linearna brzina zraka na površini filtra od 4 cm/s odgovara protoku od 1 L/min kroz filter promjera 25 mm odnosno 1,98 L/min za filtre promjera 37 mm.

Opterećenje filtra. Minimalno opterećenje filtra je 50 vlakana/mm² filtra, a u specijalnim slučajevima kad se može prihvatiti manja preciznost dopušta se i do 20 vlakana/mm² filtra.

Maksimalno dopušteno opterećenje načelno iznosi oko 650 vlakana/mm², ali gornja granica opterećenja ovisi o razini opće zapašenosti u prostoriji. Da se spriječi prekrivanje vlakana i čestica, treba u određenim slučajevima navedeno dopušteno opterećenje sniziti.

Slijepa proba. Za svaki niz od 25 membranskih filtera treba obraditi jedan filter kao slijepu probu uključujući učvršćenje u držač, montiranje na objektno staklo i brojenje. Ako slijepa proba ima više od 3 vlakna po mrežici, ispitati treba uzrok kontaminacije i adekvatno korigirati postupak.

Strategija uzorkovanja

Uzorci se sakupljaju u zoni disanja radnika. Osobni sakupljači učvršćuju se na rever radnog odijela sa zaštitnim tuljcem usmjerenim prema dolje. Statički uzorci, koji se sakupljaju također s tuljcem usmjerenim prema dolje, daju prihvatljive rezultate samo uz jednoliku zapašenost u prostoru. Uzorkovanje teba provoditi na način da se dobije reprezentativna ekspozicija radnika pod tipičnim radnim uvjetima kroz cijelu smjenu.

Uzorkovanje. Uzimaju se dva ili više uzoraka tokom cijele smjene. Na taj se način postiže najpouzdanija ocjena izloženosti. Jednostavno se uočavaju pogreške nastale npr. zbog onečišćenja uzorka, loše procjene trajanja uzorkovanja, pogreške u računu i sl.

Evaluacija

Priprema uzorka. Bitno je da je okolina u kojoj se uzorak obrađuje nezapašena. Za obradu se uzima 1/3 ili 1/4 filtra rezanog skalpelom. Učvršćivanje i bistrenje izvodi se parama acetona i triacetinom. Tikvica s acetonom i vodenim hladilom grije se na vodenoj kupelji u digestoru. Postrana cijev sa staklenim pipcem omogućuje kontrolirano ispuštanje para acetona. Dio filtra za brojenje stavi se na objektno staklo s uzorkom prema gore pa se približavanjem ispustu para acetona isječak prilijepi za staklo i postane transparentan. Radi bolje optičke veze s pokrovnim stakalcem na uzorak se kapne triacetin.

Mikroskop. Za rutinsku provjeru performanse mikroskopa i spremnosti mikroskopičara služi test staklo s kalibracijskim linijama za ocjenu granice detekcije (Detection limit test slide HSE/NPL).

Za brojenje se upotrebljava binokularni mikroskop s faznim kontrastom i Koelerovim osvjetljenjem. Objektiv za fazni kontrast je akromatični 40 x s numeričkom aperturom 0,65. Binokularni okulari odabiru se tako da se dobije ukupno povećanje 500 x. Testiranje koncentričnosti Bertrandovom lećom treba biti dnevna rutina. Okularna mrežica po Walton-Becketu uz objektiv 40 x ima promjer 100 μm a uključuje traženi kritični omjer duljine i promjera vlakna 3:1. Sva baždarenja izvode se objektnim mikrometrom s podjelom u intervale od 10 μm .

Brojenje. Jednolikost uzorka provjerava se pod manjim povećanjem. Uzorak se broji sistematski na slučajno odabranim presjecima i slučajno odabranim položajima u presjeku. Brojiti treba najmanje 100 vlakna i najmanje 20 polja mrežice. Više od 100 polja mrežice ne treba brojiti.

Vlakno koje se broji definirano je kao onaj objekt u vidnom polju mrežice koji ima maksimalni promjer $< 3 \mu\text{m}$, ukupnu duljinu $> 5 \mu\text{m}$ i omjer duljine i promjera $> 3 : 1$.

Vlakna koja se s oba kraja nalaze unutar mrežice broje se kao 1 vlakno, a vlakna koja samo jednim krajem ulaze u polje mrežice broje se kao 1/2 vlakna. Ras-cijepljena vlakna, vlakna nejednolike širine, nakupine vlakana i kombinacije vlakana s česticama broje se prema utvrđenim pravilima. Da se omoguće usklađene i nedvojbene odluke pri brojenju, spomenuta pravila treba u obliku crteža priložiti prihvaćenoj standardnoj metodi.

Izračunavanje koncentracije. Pojedinačni uzorci:

$$K = \frac{A}{a} \cdot \frac{N}{n} \cdot \frac{1}{r} \cdot \frac{1}{t}$$

gdje je:

- K = koncentracija (vl/cm³)
- N = ukupni broj izbrojenih vlakana u n mrežica
- n = broj mrežica
- A = efektivna površina filtra s uzorkom (mm²)
- a = površina mrežice (mm²)
- r = protok zraka kroz filter (cm³/min)
- t = trajanje uzorkovanja (min)

Vremenski vagana prosječna koncentracija. Kada se iz nekoliko uzoraka različitog trajanja uzorkovanja računa prosječna vremenski vagana vrijednost koncentracije, treba upotrijebiti formulu:

$$DVK = \frac{\sum k_i \cdot t_i}{\sum t_i} = \frac{k_1 t_1 + k_2 t_2 + \dots + k_n t_n}{t_1 + t_2 + \dots + t_n}$$

gdje je:

- DVK = dnevna vagana koncentracija (t_{1-n} = 8 sati)
- k_i = pojedinačna koncentracija (vl/cm³)
- t_i = trajanje pojedinačnog uzorkovanja

Prikazivanje rezultata

Za opisanu metodu membranske filtracije koncentracija od 0,1 vl/cm³ smatra se onom koncentracijom ispod koje je pouzdanost metode tako niska da rezultati nemaju smisla. Za koncentraciju ispod 0,1 vl/cm³ treba stoga pisati "manje od 0,1 vl/cm³". Sve koncentracije više od te vrijednosti treba zaokruživati na jednu decimalu.

Literatura

1. *International Labour Organisation*: Asbestos Convention, ILO Convention No. 162, Ženeva 1986.
2. *International Labour Organisation*: Asbestos Recommendation, ILO Recommendation No.172, Ženeva 1986.
3. *Valić, F.*: Asbestos in Construction, Maintenance and Use of Vehicles. United Nations Economic and Social Council, Economic Commission for Europe, 8th Meeting of Experts on Vehicle Construction, Ženeva 1986.
4. *Murray, R.*: Measures of Prevention and Protection. Meeting of Experts on the Safe Use of Asbestos, International Labour Office, Ženeva 1981.
5. *Lippmann, M.*: Respirable dust sampling. U: Air Sampling Instruments, ACGIH, Cincinnati 1978.

6. *Lippmann, M., Yeates, D.B., Albert, R.E.*: Deposition, retention and clearance of inhaled particles. *Br. J. Ind. Med.*, 37 (1980) 337–362.
7. *Vincent, J.H.*: On the practical significance of electrostatic lung deposition of isometric and fibrous aerosols. *J. Aerosol Sci.*, 16 (1985) 511–519.
8. *Morgan, A.*: Fibre dimensions: Their significance in the deposition and clearance of inhaled fibrous dust. U: *Dusts and Disease*, ur. Lemen, R., Dement, J.M., Pathotox Publishers Inc., Park Forest So., Ill, 1979. str. 128–141.
9. *Morgan, A., Black, A., Evans, N., Holmes, A., Pritchard, J.N.*: Deposition of sized glass fibres in the respiratory tract of the rat. *Ann. Occup. Hyg.*, 23 (1980) 353–366.
10. *Timbrell, V.*: The inhalation of fibrous dusts. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 132 (1965) 255–273.
11. *Timbrell, V.*: Deposition and retention of fibers in the human lung. *Ann. Occup. Hyg.*, 26 (1982) 347–369.
12. *Harris, R.L. Jr., Fraser, D.A.*: A model for deposition of fibers in the human respiratory system. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.*, 37 (1976) 73–89.
13. *Harris, R.L. Jr., Timbrell, V.*: The influence of fibre shape in lung deposition – mathematical estimates. U: *Inhaled particles IV*, ur. Walton, W.H., Pergamon Press, Oxford 1977, str. 75–88.
14. *International Commission for Radiation Protection*: Task Groups on Lung Dynamics, Committee II, Deposition and Retention Models for Internal Dosimetry of the Human Respiratory Tract. *Health Phys.*, 12 (1966) 173–208.
15. *Hwang, C.Y.*: Size and shape of airborne asbestos fibres in mining and measurement. U: *Mineral Dust Industry*, Department of Scientific and Industrial Research, 1981.
16. *Morgan, A., Holmes, A.*: Concentrations and dimensions of coated and uncoated asbestos fibres in human lung. *Br. J. Ind. Med.*, 37 (1980) 25–31.
17. *Morgan, A., Holmes, A., Davison, W.*: Clearance of sized glass fibres from the rat lung and their solubility in vivo. *Ann. Occup. Hyg.*, 25 (1982) 317–331.
18. *Valić, F., Muhle, H. (ur.)*: Asbestos and other natural mineral fibers. *IPCS Environmental Health Criteria 53*, World Health Organization, Ženeva 1986.
19. *Research Committee of the Asbestos Research Council*: Asbestos dust and its measurement. U: *Mineral Dust in Industry*. Department of Scientific and Industrial Research, HMSO, London 1963.
20. *Walton, W.H.*: The nature, hazards and assessment of occupational exposure to airborne asbestos dust – a review. *Ann. Occup. Hyg.*, 25 (1982) 117–247.
21. *Stanton, M.F., Layard, M.*: The carcinogenicity of fibrous minerals. U: *Proceedings of the Workshop on Asbestos: Definitions and Measurement Methods*, Special publication 506, US National Bureau of Standards 1978.
22. *Pott, F.*: Some aspects of the dosimetry of the carcinogenic potency of asbestos and other fibrous dust. *Staub- Reinhalt Luft*, 38 (1978) 486–490.
23. *Middleton, A.P.*: Visibility of fine fibres of asbestos during routine electron microscope analysis. *Ann. Occup. Hyg.*, 25 (1982) 53–62.
24. *Campbell, W.J., Blake, R.L., Brown, L.L., Cather, E.E., Sjöberg, J.J.*: Selected silicate minerals and their asbestiform varieties: mineralogical definitions and identification characterization. Bureau of Mines. IC 8751, US Department of the Interior, Washington DC, 1977.
25. *Campbell, W.J., Steel, E.B., Virta, R.L., Eisner, M. H.*: Relationship of mineral habit to size characteristics for tremolite cleavage fragments and fibers. Report of Investigations 8367, Bureau of Mines, US Department of the Interior, Washington DC, .
26. *Wylie, A.G.*: Fiber length and aspect ratio of some selected asbestos samples. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 330 (1979) 605–610.
27. *Hwang, C.Y., Gibbs, G.W.*: The dimensions of airborne asbestos fibers. *Ann. Occup. Hyg.*, 24 (1981) 23–41.
28. *Asbestos Research Council*: The measurement of airborne asbestos dust by the membrane filter method. ARC Technical note No.1, Asbestos Research Council, Rochedale 1971.
29. *Asbestos International Association*: Reference method for the determination of airborne asbestos fibre concentrations at work places by light microscopy (membrane filter method). AIA Health and Safety Publications RTM No.1, Asbestos International Association, London 1982.
30. *International Labour Organization*: Safety in the use of asbestos. ILO Code of Practice, International Labour Office. Ženeva 1984.

31. *European Economic Communities*: Council directive on the protection of workers from the risks related to exposure to asbestos at work. EEC, Bruxelles 1983.
32. *International Standards Organization*: Proposed analytical method for determination of asbestos fibres in air. International Standard Organization, Ženeva 1984.
33. *Robock, K.*: Analytical methods for airborne asbestos. VI convegno di igiene industriale, Roma 1983.
34. *Roach, S.A.*: Measurement of asbestos dust by instrument measuring different parameters. Ann. N.Y. Acad. Sci., 132 (1965) 306–315.
35. *Du Toit, R.S.J.*: Review of early results of comparative tests with the konimeter and the thermal precipitator in asbestos mines. Ann. Occup. Hyg., 20 (1977) 279–281.
36. *Du Toit, R. S.J., Gilfillan, T.C.*: Simultaneous airborne dust samples with konimeter, thermal precipitator and dosimeter in asbestos mines. Ann. Occup. Hyg., 20 (1977) 333–340.
37. *Du Toit, R. S. J., Gilfillan, T. C.*: Conversion of the asbestos fibre concentrations recorded by means of the konimeter and the thermal precipitator to that expected by means of the membrane filter method. Ann. Occup. Hyg., 22 (1979) 67–83.
38. *Du Toit, R. S., J., Lserow, L. W., Gilfillan, T. C., Robock, K., Teichert, U.*: Relationships between simultaneous airborne dust samples taken with five types of instruments at South African asbestos mines and mills. Ann. Occup. Hyg., 27 (1983) 373–387.
39. *Jablanov, Lj., Peruničić, B.*: Simultano merenje zapašenosti sa više metoda u fabrici azbestno-tekstilnih proizvoda. I. radni sastanak o problemima azbestoze u Jugoslaviji. Dubrovnik 1985. Knjiga sažetaka, str. 29–30.
40. *Kuljiš, V.*: Brza detekcija visokih koncentracija azbestne prašine konimetrom – metoda mjero-davna za ocjenu ugroženosti radnika. I. radni sastanak o problemima azbestoze u Jugoslaviji, Dubrovnik 1985. Knjiga sažetaka, str. 30.

Summary

EVALUATION OF OCCUPATIONAL HAZARDS OF AIRBORNE ASBESTOS FIBRES

Asbestos Convention No. 162 and Asbestos Recommendation No. 172 adopted at the General Conference of the International Labour Organization in 1986, stipulate that for the monitoring of workers' exposure to asbestos fibres methods are to be used which have been approved by a competent national authority. The Yugoslav Assembly is likely to ratify the above documents in the period 1987/88. It is for that reason that a standard monitoring method is proposed in this paper. The most recent views on the ecological and biological basis for the evaluation of occupational health hazards of airborne fibres, and particularly those of asbestos, are critically reviewed. Factors are analysed which influence the transport, deposition and retention of fibres in the respiratory tract as a function of the fibre length and diameter, as well as the mechanisms of fibre disintegration and translocation. Based on these factors, considering also the most probable sites of fibrogenic and carcinogenic action in the respiratory tract, critical dimensions are defined of fibres to be analysed in order to determine the pathogenic fibre fractions. A standard method is proposed of asbestos fibre sampling on membrane filters evaluated by phase contrast optical microscopy.

The relationships between the results obtained by optical and electron microscopies are reviewed. Particular attention is given to possible optional alternative methods using the thermal precipitator, the konimeter or the midjet impinger. The indispensability of standardization of these methods against the membrane filter is emphasized.

"Andrija Štampar" School of Public Health,
Medical Faculty, University of Zagreb, Zagreb

Received for publication
September 4, 1987