

## Nivel de níquel urinario en niños residentes en ciudades cercanas a megafuentes

Verónica Iglesias A<sup>1,2,a</sup>, Soledad Burgos D<sup>2,b</sup>,  
Nella Marchetti P<sup>2,c</sup>, Claudio Silva Z<sup>3,d</sup>, Paulina Pino Z<sup>2,a</sup>.

### *Urinary nickel in children exposed to petcoke pollution*

**Background:** *Petcoke is a remnant of the oil refining process that contains Ni and other heavy metals. Undesired human exposure to these compounds may result from petcoke combustion in plants located in the vicinity of the cities. Aim:* To compare levels of urinary Ni in schoolchildren residing in cities exposed and not exposed to petcoke pollution.

**Material and methods:** *A cross sectional study was done in schoolchildren aged 7 to 8 years old in two cities in northern Chile: Mejillones (n = 59), near to a petcoke plant and Tocopilla (n = 56) as the reference city. First, morning urinary samples were collected and urinary Ni was determined by Atomic Absorption Spectrometry. Socioeconomic and environmental exposure information of families was obtained applying a questionnaire to parents. Multiple linear regression was performed to identify other variables that may explain urinary Ni differences among the cities. Results:* Median level of Ni was higher in Mejillones (4.9 µg/L) than in Tocopilla (3.9 µg/L). Residing in the exposed city was the most important explaining factor ( $\beta = 0.26$ ; IC 0.107 - 0.428). Additionally, years of residency was associated with urinary Ni ( $\beta = 0.03$ ; IC 0.004 - 0.060). **Conclusions:** *Urinary Ni in schoolchildren is higher in the city exposed to petcoke emissions. The difference does not imply that there are concrete hazards for the population's health. However, it warns about the existence of a higher exposure in places where petcoke is used (Rev Méd Chile 2008; 136: 1039-46).*

**(Key words:** *Child welfare; Coke; Nickel)*

Recibido el 16 de agosto, 2007. Aprobado el 18 de abril, 2008.

Investigación financiada por la ONG Corporación Desarrollo Sustentable (CDS) que percibe fondos de empresas vinculadas al rubro energético. Ninguna de estas instituciones tuvo influencia sobre el diseño, la recolección, el análisis, ni la interpretación de los datos. Asimismo no participó en la preparación de este manuscrito.

<sup>1</sup>Escuela de Salud Pública, <sup>2</sup>División de Epidemiología y <sup>3</sup>División de Bioestadística, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Santiago de Chile.

<sup>a</sup>Ph.D

<sup>b</sup>MPH

<sup>c</sup>Ingeniero Químico

*Correspondencia a:* Paulina Pino Zúñiga. División Epidemiología, Escuela de Salud Pública. Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Independencia 939, Independencia, Santiago, Chile. Teléfono: 56 2 9786152. Fax: 56 2 7377121. E mail: ppino@med.uchile.cl

La presencia de plantas termoeléctricas en ciudades del norte de Chile suscita creciente preocupación en la población debido al potencial peligro que representan las emisiones generadas durante el proceso de producción. En Mejillones a partir de 2002, junto con el tradicional uso de carbón y gas, se comenzó a utilizar el petcoke, producto derivado de la refinación del petróleo que se caracteriza por contener altas concentraciones de metales pesados, entre ellos el níquel<sup>1</sup>.

A nivel ocupacional, el níquel ha sido asociado con efectos en la salud, principalmente a nivel respiratorio<sup>2,3</sup>. Otros estudios no han conseguido demostrar efectos debidos a este compuesto<sup>4-7</sup>, pero la evidencia científica sobre carcinogénesis en población humana ha sido suficiente para que diversos compuestos de Ni hayan sido incluidos en el Grupo 1 de la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (IARC)<sup>8</sup>.

Una de las etapas claves en el proceso de Evaluación de Riesgo Ambiental es la evaluación de la exposición, aunque es preciso destacar que la presencia del metal en el organismo no implica necesariamente daños en la salud. La mejor manera de determinar la existencia efectiva de exposición, es a través del uso de indicadores biológicos; en este caso, la concentración de Ni en orina, principal vía de eliminación de estos metales, constituye el biomarcador más apropiado.

A modo de referencia se cuenta con valores promedio de níquel registrados en estudios internacionales en población general. Templeton et al, utilizando criterios establecidos por el proyecto TRACY para el análisis de concentración de elementos traza en fluidos corporales, propusieron en 1994, valores de referencia tentativos de Ni a partir de la revisión de 39 estudios. Los valores promedio encontrados en orina fueron  $\leq 2$   $\mu\text{g/L}$ , con un límite superior  $\leq 6$   $\mu\text{g/L}$ <sup>9</sup>.

En Chile, no hay registro de la concentración basal de este metal en la población. Por ello, el objetivo de este estudio fue comparar la concentración de níquel, como indicador de la exposición a petcoke en los escolares de Tocopilla (ciudad no expuesta a la combustión de petcoke) y Mejillones (ciudad expuesta) al momento de realizar el estudio y explorar factores de riesgo asociados a tales concentraciones. Esta aproximación, constituye el primer paso para evaluar el riesgo en poblaciones expuestas del norte de Chile.

## MATERIAL Y MÉTODO

El año 2003 se realizó un estudio transversal en dos ciudades costeras de la II región de Chile: Mejillones ciudad expuesta a la combustión de petcoke y Tocopilla considerada como ciudad no expuesta a petcoke al momento del estudio. Ambas ciudades presentan características de tamaño, población, clima y nivel socioeconómico similares.

Se estudió a escolares entre 7 y 8 años de edad por su menor riesgo de tabaquismo activo, que es también una fuente de exposición a níquel.

A partir de un valor normal teórico<sup>10</sup> se calculó un tamaño de muestra suficiente para detectar diferencias equivalentes a 65% de la desviación estándar esperada, con un nivel de confianza de 95% y un poder de 90%. El tamaño de muestra calculado fue de 30 niños por ciudad. Considerando eventuales rechazos, se invitó a 60 niños en cada ciudad, obteniéndose en definitiva, 56 niños en Tocopilla y 59 en Mejillones.

Se solicitó a los apoderados el consentimiento informado para la participación de sus hijos. Se incluyó a niños sanos (evaluados por enfermera), residentes en la zona por un período superior a 6 meses, que no hubieran sido sometidos a una intervención quirúrgica en ese período (debido al esfuerzo requerido por la espirometría).

Encuestadores estandarizados y entrenados aplicaron un cuestionario estructurado a los padres, el que incluyó antecedentes generales (edad, sexo), sintomatología respiratoria, antecedentes socioeconómicos (escolaridad de los padres, ingreso, características de la vivienda), exposición ambiental (tiempo de residencia en la zona, ubicación de la vivienda respecto a fuentes contaminantes, tiempo de permanencia en diferentes ambientes) y exposición intradomiciliaria (tipo de combustibles utilizados, presencia de talleres al interior del hogar, tabaquismo). Se entregó a los padres un frasco estéril y un instructivo para la toma de muestras de orina. A su recepción, las muestras fueron acidificadas con ácido nítrico, rotuladas y mantenidas en refrigeración durante el transporte y hasta su posterior análisis en el Laboratorio de Química Ambiental del Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA). La determinación de níquel se realizó con el método de espectrofotometría de absorción atómica con hor-

no grafito, previa implementación de la técnica con motivo de esta investigación. Para determinar el límite de detección, se sometió a análisis convencional 10 muestras independientes de la misma orina y se determinó la desviación estándar ( $\sigma$ ) de las señales obtenidas para Ni en las 10 muestras de orina. El límite de detección calculado de acuerdo al criterio  $3\sigma$  fue  $0,12 \mu\text{g/L}$ .

Con el objetivo de determinar la distancia entre la residencia de los niños y la megafuente, se georeferenció cada domicilio en un plano urbano. Para el manejo de los datos se utilizó el software Mapinfo y Arcview.

El análisis de los datos se inició con la evaluación de la existencia de diferencias sociodemográficas y de exposición intra y extradomiciliaria entre ambas ciudades. Puesto que la concentración de níquel urinario no presentó distribución gaussiana, la comparación entre ambas ciudades se realizó con métodos no paramétricos (mediana, rango intercuartílico (RIC) y prueba Mann Whitney). Para explorar variables asociadas con la concentración de níquel urinario se utilizó regresión lineal múltiple, previa transformación logarítmica de la concentración de níquel. El análisis de los datos se realizó con el programa Stata 8.0.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

## RESULTADOS

*Descripción sociodemográfica.* Se analizó un total de 115 niños entre 7 y 8 años de edad provenientes de Tocopilla y Mejillones. No se detectó diferencias en edad, sexo y nivel socioeconómico medido por ingreso familiar, propiedad de la vivienda y escolaridad de los padres; sin embargo, las familias de Tocopilla presentaron mayor número de integrantes ( $p = 0,040$ ).

Se evaluó la posibilidad de encontrar diferencias de exposición intra y extradomiciliaria que pudieran influir las concentraciones urinarias de Ni en ambas ciudades. Entre las fuentes intradomiciliares se consideró el tabaquismo familiar como variable indirecta de la exposición a humo de tabaco, no encontrándose diferencias significativas entre las ciudades. En relación a la exposición

a fuentes contaminantes extramuros se consignó que los niños de Mejillones estaban expuestos a mayor tráfico vehicular ( $p = 0,003$ ), pero menos expuestos a calles sin pavimentar ( $p = 0,001$ ). De igual manera se consignó que los escolares de Mejillones residían al doble de distancia de la megafuente en comparación con los niños de Tocopilla (Tabla 1).

*Ni en orina.* La concentración mediana de níquel en los escolares de Mejillones fue  $4,9 \mu\text{g/L}$  (RIC 3,7-6,9) y en los de Tocopilla  $3,9 \mu\text{g/L}$  (RIC 2,9-4,9), siendo esta diferencia significativa ( $p < 0,001$ ) (Figura 1). En el análisis crudo, la ciudad, la educación materna, la exposición a humo de tabaco, medido por el número de cigarrillos fumados por la familia al interior del domicilio, el tiempo de exposición (años de residencia en la zona, el tiempo de permanencia en la escuela o tiempo empleado en el trayecto) y la distancia del domicilio a la megafuente se mostraron significativamente asociados con la concentración de Ni (Tabla 2). A fin de identificar el papel conjunto de estas variables se incluyeron en un modelo de regresión lineal múltiple. Para ello se asumió la existencia de una relación lineal que se expresa como un cambio de la concentración de Ni en función de una unidad de cambio en cada una de las variables constituyentes del modelo. Tal modelo identificó como determinantes más importantes a la ciudad y el tiempo de residencia en la zona (Tabla 3). Este modelo explicó 13% de la concentración urinaria de Ni, aunque es la ciudad el factor explicativo más importante.

Posteriormente, se incorporó en el modelo la distancia desde la residencia a la megafuente, bajo la hipótesis de que esta variable podría explicar en parte la concentración de Ni urinario. Sólo los años de residencia mantuvieron su significancia en el modelo. Al estratificar por ciudad, se perdió la asociación observada entre ambas variables, por lo que se optó por no incluir la distancia en el modelo.

## DISCUSIÓN

Dos aspectos se destacan de los resultados obtenidos: primero, que en ambas ciudades los niveles son elevados comparados con la literatura interna-

**Tabla 1. Exposición a fuentes contaminantes de escolares residentes en Tocopilla y Mejillones, 2003**

	Tocopilla <sup>1</sup> (n = 56) %	Mejillones <sup>2</sup> (n = 59) %	Valor p
Tabaquismo familiar			
Sí	21,4	20,4	ns
Tráfico vehicular cercano a domicilio			
Bajo	28,6	10,2	0,003
Medio	58,9	54,2	
Alto	12,5	35,6	
Distancia desde la casa a la avenida principal			
<1 cuadra	46,4	52,5	ns
1-4 cuadras	44,7	37,3	
>5 cuadras	8,9	10,2	
Porcentaje de escolares que viven en calles pavimentadas			
Sí	83,9	100,0	0,001
Percepción de existencia de fuentes de contaminación cercanas al domicilio			
Sí	21,4	15,3	ns
Distancia desde la casa a la fuente de exposición más cercana			
<1 cuadra	15,9	22	ns
1-4 cuadras	31,8	32	
5-9 cuadras	27,3	8	
>10 cuadras	25	38	
Años de residencia en la zona ( $\bar{x} \pm DE$ )	4,96 $\pm$ 2,99	5,03 $\pm$ 2,82	ns
Distancia a megafuente (km) ( $\bar{x} \pm DE$ )	1,77 $\pm$ 0,72	3,65 $\pm$ 0,33	0,001

<sup>1</sup>No expuesta; <sup>2</sup>expuesta.

\*Prueba Mann Whitney o prueba de chi cuadrado.

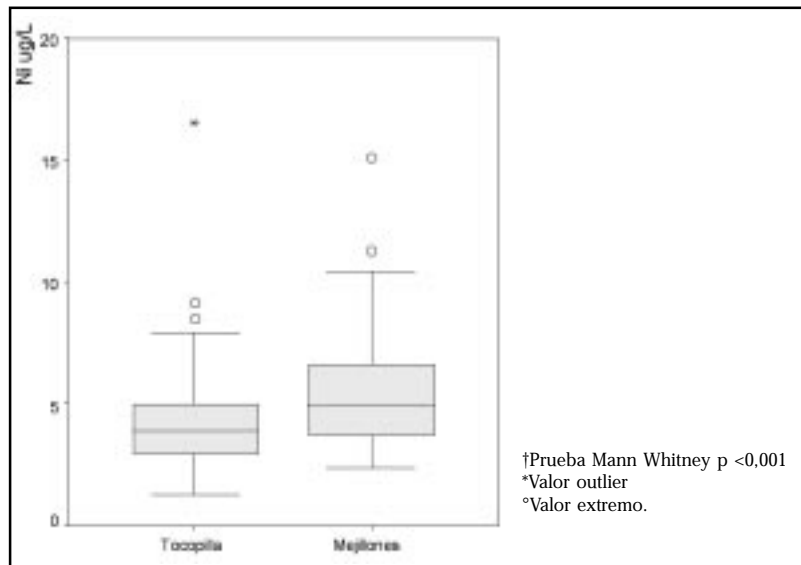


Figura 1. Comparación de la concentración de Ni urinario en niños de Tocopilla y Mejillones, 2003†.

**Tabla 2. Asociación (cruda) entre características sociodemográficas y de exposición ambiental con la concentración urinaria de níquel<sup>§</sup>**

	$\beta^{\text{¥}}$	Valor p
Características sociodemográficas		
Ciudad	0,270	0,001
Educación materna (años)	-0,034	0,037
Exposición intradomiciliaria		
Cigarrillos consumidos al interior del hogar por la familia (unidades)	-0,020	0,010
Tiempo de permanencia en escuela (horas)	-0,143	0,001
Exposición ambiental		
Trayecto (horas)	-0,379	0,049
Años de residencia en la zona expuesta	0,033	0,025
Distancia a megafuente (km)	0,13	0,001

<sup>§</sup>Escala logarítmica; <sup>¥</sup>Coefficiente no ajustado.

**Tabla 3. Asociación entre concentración de níquel urinario, ajustada por covariables**

Predictores	Concentración de Ni urinario <sup>§</sup>	
	$\beta$	IC 95%
Ciudad	0,26	0,107-0,428
Años de residencia	0,03	0,004-0,060
Constante	0,92	0,633-1,212

<sup>§</sup>Escala logarítmica.

cional<sup>11-15</sup>; segundo que la ciudad clasificada como expuesta (Mejillones) supera en 25% el nivel de Ni urinario de la ciudad no expuesta (Tocopilla). Efectivamente estos niveles son elevados en comparación con los valores reportados en niños en la escasa literatura disponible. El único estudio en niños –Alimonti et al (2000)– midió la concentración urinaria de níquel en 131 escolares entre 6 y 10 años del área urbana de Roma, en quienes se registró un promedio de 0,20-1,23  $\mu\text{g Ni/g creatinina}$ <sup>11</sup>. La mediana de concentración de Ni urinario no ajustada por creatinina fue de 0,71  $\mu\text{g/L}$  (comunicación personal); es decir, entre 5 y 7 veces menor que la registrada en nuestro estudio, tanto en la ciudad no expuesta como en la expuesta.

En población adulta, Smith-Sivertsen et al en Noruega, detectaron una concentración mediana de Ni de 0,6  $\mu\text{g/L}$ , siendo el tráfico vehicular el predictor más importante de la concentración de Ni. Así, ser residente de áreas con alto tráfico vehicular duplicaría el riesgo de niveles  $>2,5 \mu\text{g/L}$  de níquel urinario respecto a quienes viven en zonas de menor tráfico (RR 2,09; IC 95% 1,25-3,52). Más aún, los autores reportaron mayor riesgo de elevada concentración urinaria de níquel en áreas urbanas comparada con un área rural cercana a plantas de refinera de níquel (RR 2,93; IC 95% 1,67-5,12)<sup>12</sup>.

En nuestro estudio, el tráfico vehicular como explicación para los elevados niveles no es apropiado, dado que se trata de ciudades poco

pobladas con un parque vehicular limitado. De hecho, no detectamos asociación entre el nivel de Ni y la residencia cercana a una avenida principal con alto tráfico pese a que en Mejillones una mayor proporción de los domicilios se ubicaban cercanos a calles con tráfico vehicular más frecuente.

Otra fuente de exposición a níquel, evaluada por Smith-Sivertsen et al, es el humo de tabaco<sup>13</sup>. En nuestro estudio se encontró una asociación inversa entre una medida subrogante, el tabaquismo familiar intradomiciliario y la concentración de níquel en orina, sin embargo al incluirlo en el modelo no fue significativo.

La principal vía de ingreso del níquel es digestiva y sólo pequeñas cantidades son inhaladas del aire (menos de 1% del total ingresado)<sup>16</sup>. Productos con alta concentración de níquel como las nueces, derivados de soya, legumbres o cocoa son de bajo consumo en las poblaciones en estudio, por lo que es poco probable que este tipo de alimento explique los altos niveles urinarios detectados en ambas ciudades, o la diferencia encontrada entre Tocopilla y Mejillones. Por otro lado, se ha descrito que la ingesta puede ser mayor en poblaciones que viven cercanas a fuentes de níquel –natural o antropogénico– debido a las altas concentraciones del metal en el agua de bebida y suelo, secundarias a su concentración en el aire. En nuestro estudio no evaluamos la concentración en alimentos, por lo que no se puede descartar que eventuales diferencias en la ingesta de Ni en las ciudades expliquen las diferencias observadas en los niveles de níquel urinario de escolares. En caso de confirmarse estas diferencias en futuras evaluaciones se deberá considerar la contribución de todas las posibles vías de exposición.

Comparativamente, la contribución de la vía aérea al níquel urinario total es menor; sin embargo, Barceloux señala que ésta puede aumentar en presencia de combustión de petróleo, carbón y aceites pesados durante la generación de electricidad o calor<sup>17</sup>, situación que ocurre en ambas ciudades y particularmente en Mejillones, expuesta a un combustible que contiene mayor cantidad de Ni.

En nuestro estudio evaluamos el papel de los factores asociados a níquel urinario, siendo la ciudad el predictor más importante. Como se ha

sugerido, el papel determinante de la ciudad no apunta necesariamente a la vía aérea ni a la megafuente como explicación específica para tales diferencias. De hecho, estas diferencias podrían ocurrir incluso en situaciones en que la concentración aérea de Ni en Mejillones fuera inferior a la de Tocopilla. Esto no puede ser determinado sin una adecuada consideración de los niveles en aire y las condiciones meteorológicas locales (dirección y velocidad de vientos, humedad, temperatura), aspectos que este estudio no ha evaluado.

En ámbitos comunitarios no hay evidencias sobre efectos en salud asociado a la exposición a Ni<sup>18</sup>, pero en ambientes ocupacionales está bien asentada la relación de este metal con el cáncer nasal y pulmonar y con defectos congénitos<sup>19-21</sup>. Chashschin et al reportaron riesgos de 2,9 para defectos congénitos totales, 6,1 para defectos cardiovasculares y 1,9 para defectos músculo esqueléticos asociados a concentraciones urinarias de Ni entre 10 y 16 µg/L, dependiendo del sitio de trabajo<sup>21</sup>. No hay evidencia de una relación dosis-respuesta ni de un valor umbral que haga suponer riesgos en niveles más bajos. Consecuentemente, no se han propuesto valores de referencia basados en estudios comunitarios, aunque se consigna la existencia del proyecto europeo (TRACY) antes mencionado, que propone un valor promedio en orina de  $\leq 2$  µg/L, con un límite superior  $\leq 6$  µg/L.

En nuestro estudio la muestra se reclutó en escuelas municipales que, en estas ciudades, reciben niños provenientes de distintos sectores de la ciudad, lo que refuerza la representatividad de los escolares de la ciudad. La muestra de orina fue obtenida por la madre de la primera micción del día, previa entrega y explicación de un protocolo que apuntaba a disminuir el riesgo de contaminación de la muestra. Asimismo se realizaron procedimientos de manejo y conservación de las muestras en el traslado lo que reduce posibles sesgos debidos a la manipulación.

Un aspecto complejo en la determinación de niveles de metales, es el referente a las técnicas de laboratorio. En este caso se utilizó la técnica de espectrometría de absorción atómica, técnica estándar para análisis de metales en el país, pero que actualmente ha sido superada por técnicas de mayor precisión aunque mucho más onerosas, lo

que limita su aplicación en estudios epidemiológicos. Independientemente que las estimaciones obtenidas puedan diferir del valor verdadero, la comparabilidad entre las ciudades está asegurada, dado que las determinaciones fueron realizadas por el mismo laboratorio, de acuerdo a un protocolo estandarizado.

El propósito de esta investigación fue avanzar en el estudio de un potencial biomarcador de la exposición a Petcoke buscando, en última instancia, fortalecer las capacidades para la vigilancia ambiental centrada en indicadores de salud humana. Si bien una medición única es insuficiente para este fin, constituye una contribución para el establecimiento de una línea base de la exposición

al metal que permita posteriormente, comparar la situación y tendencias en diversas ciudades expuestas y no expuestas. Las exigencias que impone el nivel de desarrollo del país y sus necesidades energéticas hacen urgente la adecuación de las capacidades de investigación químico-analítica y epidemiológica.

#### Agradecimientos

Los autores agradecen a las autoridades del Servicio de Salud de Antofagasta, de la Corporación de Educación Municipal de Tocopilla y Mejillones y a los directores y profesores de las escuelas participantes. En especial, agradecen la participación de los escolares y apoderados, sin cuya colaboración este estudio no hubiera sido posible.

#### REFERENCIAS

1. Centro de Química Ambiental FdC, Universidad de Chile. Informe de auditoría N° 1. Naturaleza, propiedades y comercialización de petcoke. 1999.
2. ANDERSEN A, BERGE SR, ENGELAND A, NORSETH T. Exposure to nickel compounds and smoking in relation to incidence of lung and nasal cancer among nickel refinery workers. *Occup Environ Med* 1996; 53: 708-13.
3. ANTTILA A, PUKKALA E, AITIO A, RANTANEN T, KARIJALAINEN S. Update of cancer incidence among workers at a copper/nickel smelter and nickel refinery. *Int Arch Occup Environ Health* 1998; 71: 245-50.
4. MENVIELLE G, LUCE D, FEVOTTE J, BUGEL I, SALOMON C, GOLDBERG P, BILLON-GALLAND MA, GOLDBERG M. Occupational exposures and lung cancer in New Caledonia. *Occup Environ Med* 2003; 60: 584-9.
5. SORAHAN T, ESMEN NA. Lung cancer mortality in UK nickel-cadmium battery workers, 1947-2000. *Occup Environ Med* 2004; 61: 108-16.
6. SORAHAN T. Mortality of workers at a plant manufacturing nickel alloys, 1958-2000. *Occup Med (Lond)* 2004; 54: 28-34.
7. EGEDAHL R, CARPENTER M, LUNDELL D. Mortality experience among employees at a hydrometallurgical nickel refinery and fertiliser complex in Fort Saskatchewan, Alberta (1954-95). *Occup Environ Med* 2001; 58: 711-5.
8. IARC WGOTeOCrTH. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs, volumes 1 to 12. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 1987.
9. TEMPLETON DM, SUNDERMAN FW JR, HERBER RF. Tentative reference values for nickel concentrations in human serum, plasma, blood, and urine: evaluation according to the TRACY protocol. *Sci Total Environ* 1994; 148: 243-51.
10. World Health Organization W. Environmental Health Criteria 108. Nickel. Geneva, 1991; 383.
11. ALIMONTI A, PETRUCCI F, KRACHLER M, BOCCA B, CAROLI S. Reference values for chromium, nickel and vanadium in urine of youngsters from the urban area of Rome. *J Environ Monit* 2000; 2: 351-4.
12. SMITH-SIVERTSEN T, LUND E, THOMASSEN Y, NORSETH T. Human nickel exposure in an area polluted by nickel refining: the Sor-Varanger study. *Arch Environ Health* 1997; 52: 464-71.
13. SMITH-SIVERTSEN T, TCHACHTCHINE V, LUND E, BYKOV V, THOMASSEN Y, NORSETH T. Urinary nickel excretion in populations living in the proximity of two russian nickel refineries: a Norwegian-Russian population-based study. *Environ Health Perspect* 1998; 106: 503-11.
14. STOJANOVIC D, NIKIC D, LAZAREVIC K. The level of nickel in smoker's blood and urine. *Cent Eur J Public Health* 2004; 12: 187-9.
15. WILHELM M, EWERS U, SCHULZ C. Revised and new reference values for some trace elements in blood and urine for human biomonitoring in environmental medicine. *Int J Hyg Environ Health* 2004; 207: 69-73.

16. European Commission E. Environmental Working Group of Arsenic, Cadmium and Nickel compound. 2001.
17. BARCELOUX D. Nickel. *Clinical Toxicology* 1999; 37: 239-58.
18. MERZENICH H, HARTWIG A, AHRENS W, BEYERSMANN D, SCHLEPEGRELL R, SCHOLZE M ET AL. Biomonitoring on carcinogenic metals and oxidative DNA damage in a cross-sectional study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 515-22.
19. MORGAN LG, USHER V. Health problems associated with nickel refining and use. *Ann Occup Hyg* 1994; 38: 189-98.
20. GURIAR BR, MOHAN M. Potential health risks due to toxic contamination in the ambient environment of certain Indian states. *Environ Monit Assess* 2003; 82: 203-23.
21. CHASHSCHIN VP, ARTUNINA GP, NORSETH T. Congenital defects, abortion and other health effects in nickel refinery workers. *Sci Total Environ* 1994; 148: 287-91.