
Inflammatorisk potentiale i støv og association til

Af Leila Allermann, Arbejds miljøinstituttet og Harald W. Meyer, Arbejds- og Miljømedicinsk

Baggrund

Igennem mere end 20 år har der i ind- og udland været voksende bekymring over kvaliteten af indeklimaet i ikke-industrielle bygninger. Tætning af huse efter oliekrisen, gulvtæpper, nye byggeskikke med flade tage, installation af komplicerede ventilationsanlæg, forringet rengøring samt vandskader over længere tid var faktorer, som så ud til at øge frekvensen af slimhinde- og almensymptomer hos brugere af kontorer, skoler og andre institutioner.

Der er forskellige kilder til forurening af indeklimaet. Speciel fokus har ligget på biologiske faktorer som bakterier og svampe samt komponenter herfra som endotoxiner og glucaner. Støvmider, hår og skæl fra dyr kan også bidrage til puljen af forureningskilder. Organisk støv, som indeholder disse forureningskilder, er karakteriseret som en uspecifik samling af både levende og dødt materiale stammende fra planter, dyr og mikroorganismer. Sammensætningen kan variere afhængigt af omgivelserne, selv inde i én bygning. Det kan derfor være vanskeligt at pege på én, eller blot få kemiske faktorer eller mikrobielle komponenter som årsag til den vifte af symptomer, der kan findes i indeklimaet.

Inflammation observeres ofte hos personer med bygnings relaterede symptomer (BRS). Man kan derfor betragte inflammation som en generel parameter, der integrerer effekten af den totale eksponering fra indeklimaet. Interleukin 8 (IL-8) hører til gruppen af proinflammatoriske cytokiner og er et kemotaktisk og aktiverende protein, specielt over for neutrofile celler. Epitelceller og makrofager er en del af kroppens første forsvarssystem mod

fremmedstoffer og indtrængende organismer. Hvis en inflammatorisk agent, som f.eks. endotoxin, indåndes, vil en kaskade af proinflammatoriske cytokiner blive secerneret og igangsætte den inflammatoriske proces til bekæmpelse af fremmedlegemet.

I denne artikel ønsker vi at beskrive nogle af resultaterne af samarbejdet mellem vore to ph.d.-projekter. Formålet var at kunne samkøre resultaterne fra en spørgeskemaundersøgelse blandt elever og ansatte på de Københavnske kommunale skoler (1) med analyser af støv fra de lokaler, hvor deltagerne opholdt sig (2).

Spørgeskemaundersøgelse samt udvikling og anvendelse af epitelcelle assay

Spørgeskemaer blev uddelt til 11.978 ansatte og elever på 75 kommunale skoler og gymnasier i København. Vi opnåede en svarprocent på 66. Af disse skoler udvalgte de 10 skoler med højest gennemsnitlig symptomprævalens ("dårlige") og de 10 skoler med lavest gennemsnitlige symptomprævalens ("gode") som kontroller. I disse 20 skoler blev støv fra gulve, vandrette eller næsten vandrette overflader og fra udsugningskanaler opsamlet i udvalgte lokaler. Prøver fra overflader blev poollet til en prøve pr. skole for at få støv nok. Herudover blev luftkvaliteten undersøgt med måling af CO₂ og relativ luftfugtighed; desuden målt temperatur, luftskifte og baggrundsstøj. Udbredelsen af både synlig og skjult vandskade og skimmelsvampevækst blev bestemt, og med aftryks-agarplader blev skimmelsvampe identificeret efter opdyrkning. Til analyse af støvets inflammatoriske potentiale blev et bioassay på den humane lungeepithelcellelinie A549 udviklet og

Bygnings Relaterede Symptomer

Klinik, H:S Bispebjerg Hospital

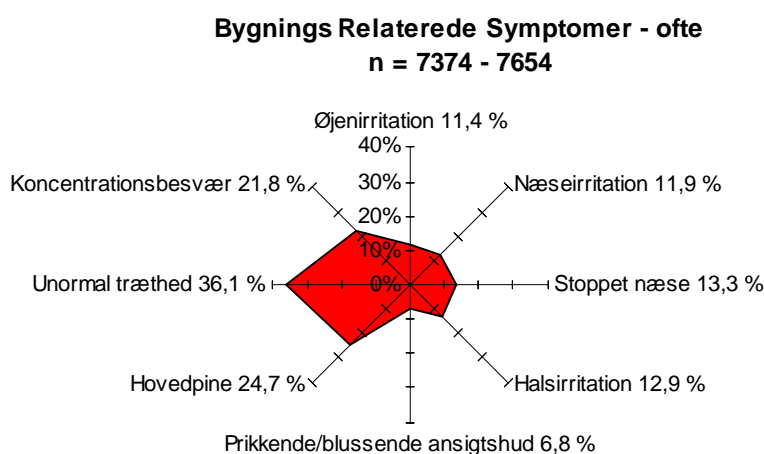
karakteriseret med forskellige biologiske og kemiske agens. Cellerne blev dyrket i 24-brøndsbakker og inkuberet med de forskellige teststoffer (eks. endotoxin, kendte allergener, irriteranter eller støv) ved 36,6 °C og 5% CO₂ i 24 timer. Cellernes secernering af IL-8 blev målt med ELISA (R&D systems). Støvetets potens (PF) blev udtrykt som den initiale hældning af dosis respons kurverne, d.v.s. det frigivne IL-8 versus den tilsatte støvkonzentration. Korrektion af PF med positive kontroller nedsatte dag til dag variation i metoden. Støvetets indhold af hunde-, katte- og allergener fra støvmider blev testet ved ELISA (ALK-Abelló), og indholdet af endotoxin blev analyseret ved Limulus amebocyte lysate metoden. Levende skimmelsvampe og bakterier, herunder Actinomyceter i støvet, blev

talt efter 7 dages inkubation ved 25 °C. Det organiske indhold i støvet blev analyseret ved glødning.

Til korrelationer af støvetets potens, målt med A549-bioassay, og organiske parametre i støvet anvendtes nonparametrisk Hotelling-Pabs rang korrelations test. Til analyse af forskelle i bygningsmålinger mellem “gode” og “dårlige” skoler anvendtes Mann Whitney U rang sum test.

Resultater

Figur 1 viser prævalenser af BRS fra spørgeskemaundersøgelsen på skolerne. Prævalensen af selvrapporiteret astma var 11 %, af høfeber 23 %. Følgende grupper havde øget forekomst



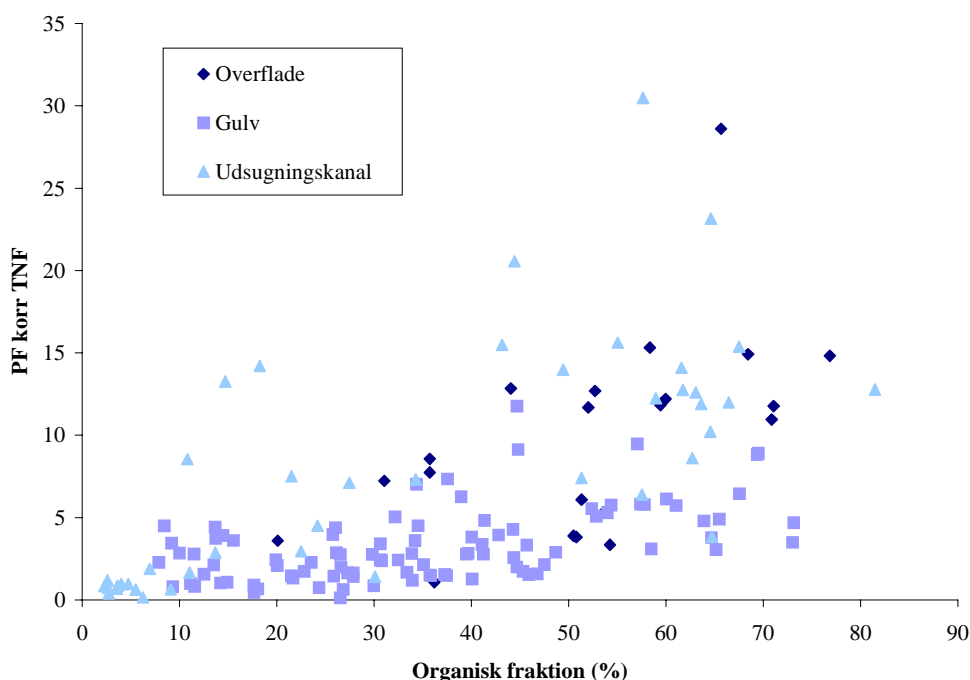
Figur 1 Radargraf over prævalensen i procent af 8 udvalgte Bygnings Relaterede Symptomer, som forekom ofte, Skoleundersøgelsen fase 1.

af både slimhinde- og CNS-symptomer: kvinder, rygere, deltagere med astma eller høfeber og deltagere, som på flere punkter følte sig generet af det psykosociale arbejdsmiljø.

Der fandtes ingen associationer mellem indeklimafaktorerne og astmaprævalensen og kun enkelte svage associationer til prævalensen af høfeber.

Potensen af støvet, målt i A549 bioassay, korrelerede med indholdet af organisk materiale i prøven (Figur 2). Mængden af endotoxin i støvet korrelerede signifikant med PF af overfladestøv, men ikke med PF af gulvstøv eller støv fra udsugningskanaler. Hvis støvets potens blev korrigeret med

mængden af organisk indhold fandtes en signifikant positiv korrelation for alle tre støvtyper. Den stærkeste sammenhæng mellem levende mikroorganismer og støvets PF blev fundet mellem skimmelsvampe og støv fra udsugningskanaler. Signifikant positiv korrelation blev observeret mellem katte- og hundallergen og PF fra udsugningskanaler. Ud fra disse resultater kan potensen af støvet betragtes som værende multifaktoriel i sin årsag. Korrektion af potenserne med indhold af organisk stof gav ikke bedre korrelationer til indholdet af mikroorganismer eller allergener, hvilket indikerer, at ingen af disse parametre er dominerende i støvet. Indholdet af disse enkelte parametre i støvet bidrager derfor meget lidt til den samlede opnåede potens af den totale støvprøve.



Figur 2: PF, korrigeret med den positive TNF (Tumor necrosis faktor) kontrol, af støvprøverne testet i A549 bioassay versus den organiske fraktion i støvet.

Den mediane værdi af de forskellige støvprøver er vist i tabel 1. Statistisk signifikant korrelation blev fundet mellem den gennemsnitlige potens af gulyprøver fra de 20 skoler og 20 poolede overfladeprøver, hvilket tyder på, at potensen af støvet fra gulve og

overflader afspejler hinanden med hensyn til støvets evne til at inducere IL-8 secerneret fra lungeepitelceller. Støv fra udsugningskanaler med mekanisk ventilation havde højere potens end støv fra kanaler med naturlig ventilation.

Støvprøver fra	IL-8 induktion ng IL-8/ μ g	TNF korrigeret IL-8 induktion ng IL-8/ μ g
Overflader	0.0083 (0.0008 - 0.0385)	0.0110 (0.0011 - 0.0286)
Gulv	0.0024 (0.0001 - 0.0083)	0.0028 (0.0001 - 0.0118)
Udsugningskanaler	0.0086 (0.0002 - 0.0285)	0.0074 (0.0002 - 0.0305)

Tabel 1. Potensen (PF) af de forskellige støvprøver testet i A549 bioassay. Median værdien er vist sammen med spredningen.

Associationer mellem BRS og støvanalyser samt andre bygningsfaktorer

I lokaler på de 10 symptomæssigt “dårlige” skoler fandtes signifikant højere middeltemperatur, mindre rumfang per person, og større

andel lokaler med mekanisk ventilation. I samme skoler fandtes signifikant højere niveau af hunde- og katteallergener i både gulvstøv og i støv fra udsugningskanaler. Herudover havde støvet et større inflammatorisk potentiale (tabel 2).

Skoler opdelt ved prævalens af Bygnings Relaterede Symptomer	Gennemsnitlig rumtemperatur (Celsius) median (min-max) n=50; p=0.01	Rumvolumen/person (m ³ /person) Median (min-max) n=76; p=0.04	Inflammatorisk potentiale af gulvstøv (ng IL-8/mg) median (min-max) n=58; p=0.0001	Inflammatorisk potentiale af støv fra udsugningskanaler (ng IL-8/mg) median (min-max) n=20; p=0.04
10 “bedste” skoler	20.9 (19.0 – 23.8)	7.1 (2.3 - 10.8)	1.7 (0.1 - 4.0)	0.9 (0.4 - 15.1)
10 “dårligste” skoler	22.0 (19.5 – 23.8)	5.9 (4.4 - 12.0)	3.7 (0.8 - 11.8)	8.9 (1.2 - 12.8)

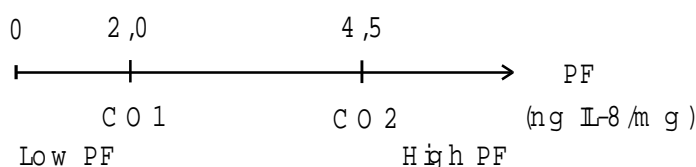
Tabel 2. karakteristika for udvalgte rum fra de 10 “bedste” og de 10 “dårligste” skoler (Statistik: Mann Whitney U rang sum test)

Bygninger med flade tage havde støv med statistisk signifikant højere potens end bygninger med tage, der havde hældning. I analyser af gulvstøvet var det variable katte- og hundeallergen samt støvets potens, som adskilte personer med og uden symptomer. Mindre volumen per person gav en højere potens i støvet. Positive associationer blev også fundet mellem potensen af gulvstøv og symptomer som øjenkløe, index for mindst 2 tilstedeværende symptomer ud af 5 fra slimhinderne og huden, og til hovedpine.

I multivariate logistiske regressionsanalyser

med BRS som udfald, var mekanisk ventilation den dominerende variabel, men også støvparametrene hundeallergen og støvets potens var signifikant positivt associeret med BRS.

I A549 bioassay'et blev "lavpotente" rum defineret som potenser under 2 ng IL-8/mg gulvstøv og "højpotente" som potenser over 4,5 ng IL-8/mg gulvstøv (Figur 3). Signifikant flere rum fra "gode" skoler blev fundet med potenser under 2 ng IL-8/mg gulvstøv og signifikant flere rum fra "dårlige" skoler med potenser over 4,5 ng IL-8/mg gulvstøv.



Figur 3: Grænseværdier (cut-off values) CO1 og CO2 er vist på en skala over potens faktorer (PF). $PF < CO1$ er defineret som prøver med en lav potens til at inducere en IL-8 sekretion fra lungeepitelceller og $PF > CO2$ er prøver med høj potens.

Den prædiktive værdi af A549 bioassay'et blev beregnet til 91% ud fra de 20 undersøgte skoler (sandsynligheden for at en støvprøve, som havde en potens større end 4,5 ng IL-8/mg støv, kommer fra en symptommæssigt "dårlig" skole).

Diskussion og konklusion

Udvikling af en hurtigmetode til vurdering af eventuelle problemer i indeklimaet kan være en værdifuld hjælp til klarlægning af problemets omfang samt til at give indikationer for, hvor man kan sætte ind med en eventuel intervention. Måling af støvets potens ved IL-8 sekretion fra lungeepitelceller *in vitro* ser ud til klart at kunne differentiere mellem "gode" og "dårlige" skoler. Dette A549-bioassay kan derfor være et værdifuldt screeningsredskab, eller supplement til eksisterende metoder, til evaluering af indeklimaet i ikke-industrielle bygninger.

PalMBERG et al. 1998 har vist, at humane alveolære makrofager, humane bronkiale epitelceller og A549 cellelinien giver en sekretion af IL-8 inden for 24 timer, når de stimuleres med støv fra svinestalde (3).

Støvets inflammatoriske potentiale kan i dette studie forklares ud fra den organiske fraktion i støvet. Dog giver de mikrobiologiske analyser og indholdet af allergener ikke noget entydigt svar, hvilket tyder på, at årsagssammenhænge mellem støvets sammensætning af biologiske faktorer og dets potens skal findes i flere forskellige parametre.

Ved opdeling i 10 "gode" skoler (lavt symptomniveau) og 10 "dårlige" skoler (højt symptomniveau) fandt vi følgende forskelle i støv-

analyser på rumniveau: I både gulvstøv og i støv fra ventilationskanaler fandtes signifikant flere allergener fra hund og kat på de "dårlige" skoler. Støvet fra samme lokalisationer på "dårlige" skoler frembød større inflammatorisk potentiale, målt som udskillelse af IL-8 fra humane lungeepitelceller *in vitro*. Desuden fandtes højere lokaletemperatur og mindre rumvolumen per person i de "dårlige skoler.

At støvet har en selvstændig effekt bestyrkes af, at mindst én støvparameter forblev inde som signifikant over for stoppet næse, hovedpine, unormal træthed, positivt CNS- og BRS-indeks i de multivariate logistiske regressionsmodeller indeholdende rumvariablerne temperatur, skimmeludbredelse og mekanisk ventilation. Sidstnævnte variabel var stærkest og mest konsistent associeret til BRS.

De fundne sammenhænge mellem støvfaktorer og BRS stemmer overens med flere tidligere undersøgelser: I Rådhusundersøgelsen fandt man sammenhæng mellem slimhindesyntomer og makromolekylær organisk del af støv (MOD), mellem almensyntomer og støvs evne til at udløse histamin i *in vitro* analyse, og mellem både slimhinde- og almensyntomer og Gram negative bakterier i støv (4). Teeuw et al (5) fandt signifikant øget koncentration af Gram negative bakterier og af endotoxin i luftanalyser fra "dårlige" skoler. Dette har vi dog ikke kunne genfinde i dette studie. I et tidligere studie af gulvstøv fra affaldssorteringsanlæg, fandt vi ligeledes ingen sammenhæng mellem indholdet af endotoxin i støvet og dets potens (6). Endotoxin kunne dog bidrage til den samlede pool af inflammatoriske agens og eventuelt virke som et proximål for andre ukendte faktorer i støvet. Meget tyder dog på, at biologisk materiale i luft eller i sedimenteret støv kan medføre symptomer hos bygningsbrugere, både atopikere og ikke-atopikere. Kemp et al. (7) bidrager med sit arbejde til denne hypotese. I et longitudinelt blindet interventionsstudie i en ældre kontorbygning forbedredes og intensiveredes rengøringsrutinerne. I for-

hold til baseline målinger opnåedes en reduktion i støvmængderne på 80 %, og der sås ved forsøgets afslutning signifikante fald i næsten alle spørgeskemarapporterede symptomprævalenser, tydeligst for øjen-, næse- og halsirritation samt for tør uproduktiv hoste.

Resultaterne fra vore to ph.d.-projekter bekræfter en del tidligere fund om indeklima-sammenhænge og påviser desuden nye sammenhænge mellem BRS, faktorer i støv og støvets inflammatoriske potentiale.

Referencer

1. Meyer, H.W. Skoleundersøgelsen i København - et indeklimastudie, ph.d.-afhandling 2000. Bispebjerg Hospital.
2. Allermann L. Development of *in vitro* models for hazard evaluation of dust from the indoor environment. Correlation to organic parameters and building related symptoms, ph.d.-afhandling 2000. Arbejds miljøinstituttet.
3. Palmberg L, Larsson B-M, Malmberg P, Larsson K. Induction of IL-8 production in human alveolar macrophages and human bronchial epithelial cells *in vitro* by swine dust. *Thorax* 1998;53(4):260-264.
4. Gyntelberg F, Suadicani P, Nielsen JW, Skov P, Valbjorn O, Nielsen PA, Schneider T, Jørgensen O, Wolkoff P, Wilkins CK, et al. Dust and the Sick Building Syndrome. *Indoor Air* 1994;4(4):223-38.
5. Teeuw KB, Vandenbroucke Grauls CM, Verhoef J. Airborne gram-negative bacteria and endotoxin in sick building syndrome. A study in Dutch governmental office buildings. *Arch Intern Med* 1994;154(20):2339-45.
6. Allermann L, Poulsen OM. Inflammatory potential of dust from waste handling facilities measured as IL-8 secretion from lung epithelial cells *in vitro*. *Ann Occup Hyg* 2000;44(4): 259-269.
7. Kemp PC, Dingle P, Neumeister HG. Particulate matter intervention study: A causal factor of building-related symptoms in an older building. *Indoor Air* 1998;8(3):153-71.