

Aus dem Institut und der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der

Ludwig- Maximilians- Universität München

Vorstand Prof. Dr. med. D. Nowak

**Untersuchung systemischer Entzündungsreaktionen nach standardisierter
Kompoststaubexposition**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig- Maximilians- Universität zu München

Vorgelegt von
Tim Müller
aus
München
2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. rer. biol. hum. Katja Radon

Mitberichterstatter:
Prof. Dr. F. Krombach
Prof. Dr. R.M. Huber

Mitbetreuung durch die
Promovierte Mitarbeiterin: Dr. E. Scharrer

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter

Tag der mündlichen Prüfung: 29.07.2004

| | |
|---|----|
| Einleitung | 5 |
| Kompostzusammensetzung | 6 |
| Beschwerden und Erkrankungen bei Beschäftigten in der Biomüllkompostierung .. | 8 |
| Entzündungsreaktion der Atemwege - akute Beschwerden | 9 |
| Änderung der Lungenfunktion | 9 |
| bei kurzer Expositionsdauer | 9 |
| Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) | 10 |
| Zytokine | 11 |
| Interleukin-1 (IL-1) | 11 |
| IL-6 | 12 |
| TNF-alpha | 12 |
| Zeitlicher Ablauf der Zytokinfreisetzung und Entzündungsreaktion | 12 |
| Pathomechanismus der Entzündungsreaktion durch organische Stäube | 13 |
| Zytokine in der Nasallavage und der bronchoalveolären Lavage | 13 |
| Zytokine im Serum | 14 |
| Zielsetzung | 15 |
| Material und Methoden | 16 |
| Untersuchungsablauf | 16 |
| Voruntersuchung | 16 |
| Kompoststaubexposition | 17 |
| Kontrollversuch | 19 |
| Studienprotokoll | 20 |
| Kollektiv | 20 |
| Ausschlusskriterien | 20 |
| Probanden | 20 |
| Anamnese und körperliche Untersuchung | 21 |
| Pricktest | 21 |
| Fragebogen | 21 |
| Spirometrie | 22 |
| Laboruntersuchungen | 23 |
| Hämatologische Untersuchungen | 23 |
| Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) | 23 |
| Bestimmung von Interleukin 1 beta (IL-1 beta) im Blutplasma | 24 |
| Bestimmung von Interleukin 6 (IL-6) im Blutplasma | 25 |

| | |
|---|----|
| Bestimmung von Tumornekrosefaktor alpha (TNF alpha) im Blutplasma | 25 |
| Bestimmung der Entzündungsparameter in der Nasallavage..... | 25 |
| Nasallavage | 26 |
| Zellzählung | 26 |
| Zelldifferenzierung | 27 |
| Endotoxinbestimmung..... | 28 |
| Statistische Methoden..... | 28 |
| Ergebnisse..... | 29 |
| Endotoxin | 29 |
| Akute und chronische Atemwegsbeschwerden..... | 29 |
| Lungenfunktionsuntersuchung | 29 |
| Differenzialblutbild | 31 |
| Zytokine im peripheren venösen Blut..... | 39 |
| Nasallavage | 43 |
| Diskussion | 44 |
| Diskussion der Methoden..... | 44 |
| Untersuchungskollektiv..... | 44 |
| Diskussion des Fragebogens | 44 |
| Diskussion der Lungenfunktion | 45 |
| Diskussion der Ergebnisse..... | 45 |
| Diskussion der Endotoxinwerte | 45 |
| Diskussion der Lungenfunktion | 46 |
| Diskussion der Befunde im Blutbild | 46 |
| Diskussion der Zytokinbefunde im Plasma..... | 47 |
| Diskussion der Nasallavage | 48 |
| Ausblick..... | 49 |
| Zusammenfassung | 50 |
| Anhang | 52 |
| Fragebogen..... | 53 |
| Einverständniserklärung zur Studienteilnahme | 56 |
| Danksagung | 59 |
| Literaturverzeichnis | 60 |
| Lebenslauf | 65 |

Einleitung

Seit Beginn der menschlichen Zivilisation entsteht Abfall. Eine geordnete Müllentsorgung wurde mit größer werdenden Siedlungen und Städten aufgrund hygienischer Probleme notwendig. Die durch die moderne Industrie und unseren Lebensstil wachsende Müllmenge machte neue Konzepte in der Müllbeseitigung erforderlich. Mit dem Ziel der Restmüllmengenreduzierung wurde eine immer bessere Mülltrennung eingeführt. So werden bereits seit längerem recycelbare Stoffe wie Papier und Glas getrennt vom Restmüll eingesammelt, später kamen Plastik, Metall und Verpackungsmaterial hinzu, schließlich wurde die Biotonne, die der Sammlung von kompostierbaren Abfällen dient, in vielen Gemeinden eingeführt, in München z.B. im Jahr 1997 (lt. Referat für Umwelt und Gesundheit der Stadt München). Auch das Bayerische Abfallwirtschaftsgesetz schreibt der Abfallwirtschaft eine getrennte Entsorgung von Biomüll vor: „*Ziele der Abfallwirtschaft sind, angefallene Abfälle, insbesondere Glas, Papier, Metall, Kunststoff, Bauschutt und kompostierbare Stoffe, weitestgehend in den Stoffkreislauf zurückzuführen (stoffliche Abfallverwertung)*“. (BayAbfG, 09.08.1996, Art.1 (1) 3.)

Die hohe Siedlungsdichte in den Städten erlaubt keine individuelle Kompostierung, die in ländlichen Gegenden weit verbreitet ist. Bioabfälle müssen in den Städten eingesammelt und in großen Kompostieranlagen zentral zu Kompost verwertet werden.

Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes wurden in der Bundesrepublik Deutschland 1996 44.390.000 Tonnen Hausmüll eingesammelt, davon waren 2.412.000 Tonnen Abfälle, die in der Biotonne gesammelt wurden. 1997 waren es bei 44.996.000 Tonnen Hausmüll 2.935.000 Tonnen Abfälle aus der Biotonne. Allein für Bayern lag die Menge an verwertetem Bioabfall im Jahr 1999 bei 542.000 Tonnen, im Jahr 2000 bei 564.000 Tonnen [3].

Mit der jetzt fast flächendeckend eingeführten Biotonne dürfte die Menge weiter gestiegen sein. So ist in Bayern nach der Statistik des Bayerischen Landesamtes für Umweltschutz eine zunehmende Menge der verwerteten Bioabfälle zu erkennen (siehe Abbildung 1), für das Bundesgebiet liegen derzeit keine vergleichbaren Zahlen vor. Es ist davon auszugehen, dass mit dem wachsenden Anteil von Biomüll auch die Anzahl der Beschäftigten in der Biomüllverwertung in Zukunft weiter steigen dürfte.

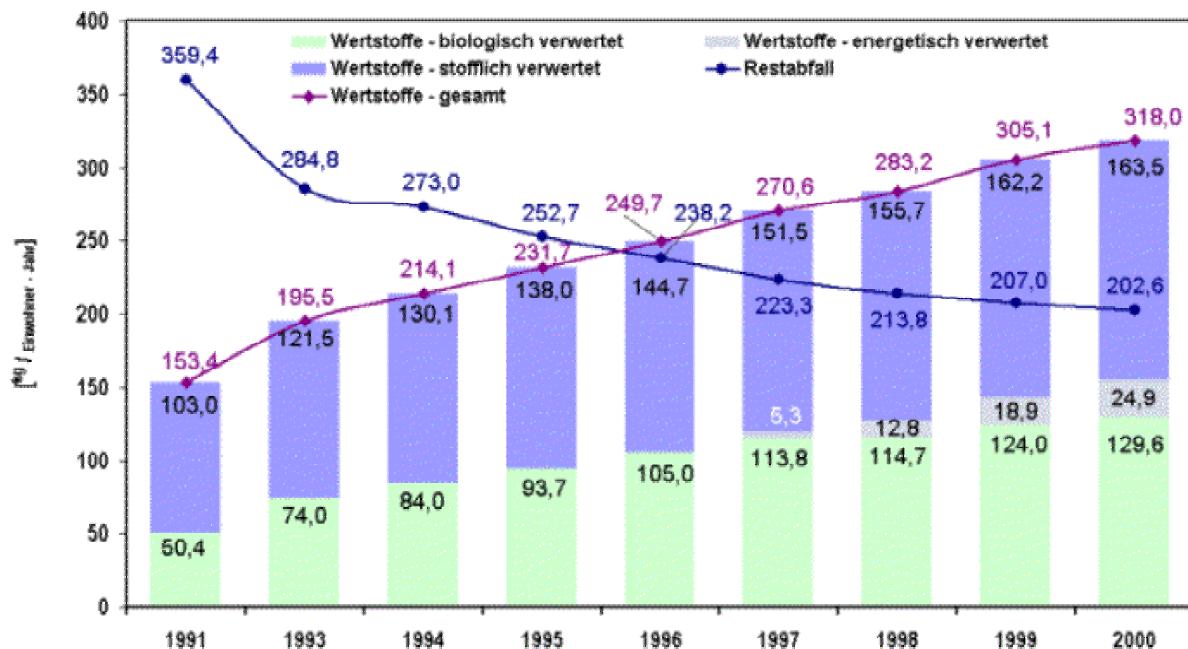


Abbildung 1: Abfallverwertung in Bayern (Quelle: Bayerisches Landesamt für Umweltschutz)

Aufgrund der beschriebenen Zusammenhänge ist eine Beschäftigung mit möglichen gesundheitlichen Problemen von Beschäftigten in der Biomüllkompostierung ein neuer und zunehmend relevanter Bereich der Arbeitsmedizin.

Kompostzusammensetzung

Die typischen Inhaltsstoffe einer Biotonne sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Typische Inhalte einer Biotonne [66]

| | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Brotreste - Obst-, Gemüse- und Salatreste - gekochte Speisereste pflanzlicher Herkunft - verdorbene Nahrungsmittel pflanzlicher Herkunft - Speisefette - Eierschalen - Kaffeesatz und Kaffeefilter - Teeblätter, Teebeutel | <ul style="list-style-type: none"> - Küchenkrepp, Servietten, Papiertaschentücher - Pflanzenteile, Fallobst - Schnitt- und Topfblumen - Wild- und Unkräuter - Laub, Reisig und Mähgut - Sägespäne - Stroh, Heu - Haare, Federn - Vogelsand, Kleintierstreu |
|---|---|

Während des Umgangs mit Kompost kommt es zur Exposition gegenüber verschiedenen Noxen, die eine potenzielle Gefahr für die Gesundheit darstellen.

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der durch Kompostierung entstehenden Gase sowie der Mikroorganismen und Kleinlebewesen.

| Tabelle 2: Potenziell gesundheitsbeeinträchtigende Noxen bei der Biomüllverwertung | |
|---|--|
| <p>Gase</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aldehyde - Alkohole - Amine - Ammoniak - Schwefelwasserstoff und Sulfide - Kresole - Mercaptane - Methan - Phenole - Schwefeldioxid | <p>Mikroorganismen – Pilze und Bakterien:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Schimmelpilze (Aspergillus fumigatus, etc.) - Thermophile Actinomyceten - Endosporenbildner - weitere Bakterien - Viren <p>Kleinlebewesen und deren Bestandteile</p> <ul style="list-style-type: none"> - Würmer - Spinnen - Milben - etc. |

Der wichtigste Atemwegssymptome auslösende Bestandteil des Kompostes sind die hier vorkommenden Mikroorganismen. Das Spektrum umfasst Pilze, Bakterien und Viren. Den größten Anteil haben Pilze, besonders *Aspergillus fumigatus*, gefolgt von gram-negativen Bakterien der *Actinomyces* spp [4, 7, 9, 50].

Tabelle 3 zeigt eine Übersicht über die Luftkeimbelastungen bei der Kompostverarbeitung. Besonders deutlich zeigt sich eine hohe Belastung der Luft mit Schimmelpilzsporen. Die Belastungen liegen im Bereich der Werte, die bei Arbeitern in der Landwirtschaft mit Symptomen einhergehen. Kontrollpersonen, bei denen durch die Exposition Symptome hervorgerufen wurden, arbeiteten durchschnittlich bei $0,12 \pm 0,2 \times 10^9$ Mikroorganismen/m³ Luft, Landwirte mit exogen-allergischer Alveolitis bei $2,6 \pm 1,8 \times 10^9$ Mikroorganismen/m³ Luft, für Symptome des Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) waren $13 \pm 13 \times 10^9$ Mikroorganismen/m³ Luft erforderlich [42]. Bei Arbeiten mit Kompost wurden auch bei geringerer Belastung Symptome des ODTD beschrieben [73].

Tabelle 3: Keimbelastung der Luft bei der Wertstoffsortierung und Kompostierung

| bei Kompostierung (Keimanzahl/m ³) | | |
|--|--|--------------|
| 6,0 x 10 ³ | Gesamtbakterien | Schmidt 1994 |
| 1,0 x 10 ⁵ | Gesamtbakterien | Scherer 1995 |
| 3,2 x 10 ⁵ | Gesamtbakterien | Jäger 1994 |
| 6,7 x 10 ⁴ | Pilzsporen | Fack 1994 |
| 2,5-3,8 x 10 ⁴ | Pilzsporen | Scherer 1995 |
| 3,3 x 10 ⁴ | Pilzsporen | Böhm 1995 |
| bis 10 ⁴ | Staphylococcus aureus | Fack 1994 |
| >10 ⁶ | Aspergillus fumigatus | Beffa 1994 |
| 2,3 - 3,1 x 10 ⁴ | Aspergillus fumigatus | Scherer 1995 |
| bei Kompostverarbeitung (Keimanzahl/m ³) | | |
| 1,0 x 10 ⁵ | Gesamtbakterien | Scherer 1995 |
| 4,6 x 10 ⁵ | Gesamtbakterien | Fack 1994 |
| 4,0 x 10 ⁵ | Gesamtbakterien | Böhm 1995 |
| >2,1 x 10 ⁴ | Pilzsporen | Jäger 1994 |
| 10 ² | Pilzsporen | Scherer 1995 |
| 10 ⁴ | Staphylococcus aureus | Fack 1994 |
| 2,7 x 10 ² | Aspergillus fumigatus | Scherer 1995 |
| 2,7 x 10 ⁸ | Aspergillus fumigatus | Lancey 1972 |
| 1,6 x 10 ⁸ | mesophile und thermophile Actinomyceten | Lancey 1972 |

nach Bünger (1999) [7]

Beschwerden und Erkrankungen bei Beschäftigten in der Biomüllkompostierung

Die in Tabelle 2 genannten potenziellen Noxen können über verschiedene Wege aufgenommen werden und Erkrankungen auslösen. In Frage kommt hauptsächlich ein Infektionsweg über die Haut, eine orale Aufnahme oder eine Inhalation der Noxen.

Mögliche Folgen sind [28]:

- Infektionen (Pilze, Bakterien und Viren)
- Allergische Reaktionen (Pilze, Aktinomyceten, Kleinlebewesen und deren Bestandteile, Kompostbestandteile)
- Toxische Reaktionen (Endotoxine, β -(1-3) Glucan)
- Kombinationen der genannten Mechanismen

Bislang liegen einige wenige Studien zu gesundheitlichen Folgen von Kompostexposition vor. So zeigten Bünger et al., dass Kompostarbeiter signifikant häufiger über Erkrankungen der Atemwege berichten als Beschäftigte eines

Kontrollkollektivs ohne Exposition gegenüber organischen Stäuben [6]. Eine Untersuchung an 538 Mitarbeitern von Kompostieranlagen konnte erhöhte IgG-Antikörperspiegel gegen häufig in der Kompostverarbeitung vorkommende luftgetragene Mikroorganismen nachweisen. Bei der Auswertung der anamnestischen Daten zeigte sich eine vermehrte Anzahl von Infektionen und Schleimhautirritationen der Augen, der oberen Atemwege sowie des Gastrointestinaltraktes im Vergleich zu einer Kontrollgruppe ohne Exposition gegenüber organischen Stäuben am Arbeitsplatz [7].

Recyclingarbeiter zeigten gehäuft Atemwegs- und gastrointestinale Symptome [70]. Bei Angestellten einer Kompostieranlage traten vermehrt Infektionen der Haut auf [73].

Die Belastung mit Endotoxinen und organischen Stäuben wurde hierbei als ein prädiktiver Wert für berufliche Symptome der oberen und unteren Atemwege beschrieben [74].

Die hier vorliegende Studie beschäftigte sich mit den akuten Auswirkungen der organischen Stäube aus der Kompostverarbeitung; somit werden Infektionen, die in der Regel nicht schon nach Stunden sondern erst Tage nach der Exposition auftreten, nicht weiter behandelt.

Entzündungsreaktion der Atemwege - akute Beschwerden

Änderung der Lungenfunktion

In der Landwirtschaft sind Atemwegsbeschwerden durch Exposition gegenüber organischen Stäben weit verbreitet [58, 76]. Ursache sind hier organische Stäube aus Futtermitteln sowie Fäkalien der Tiere. Besonders die durch Stäube aus Schweineställen hervorgerufenen Veränderungen und Erkrankungen wurden gut untersucht, da hier die höchsten Konzentrationen an Stäben auftreten und somit die meisten Symptome erwartet werden [56, 57].

bei kurzer Expositionsdauer

Eine fünfstündige Exposition von gesunden Probanden ohne berufliche Staubexposition im Schweinestall führte zu einer signifikanten Reduktion der Einsekundenkapazität (FEV₁) [10]. Nach einer vierstündigen Exposition in einem

Schweinestall bei Probanden ohne vorherige Exposition in Schweineställen zeigte sich ein signifikanter Abfall des FEV₁. Dieser Abfall konnte durch das Tragen einer Staubschutzmaske effektiv verringert werden [17].

Bei einer schwedischen Studie an 16 Probanden, die sonst nicht gegenüber organischen Stäuben belastet waren, zeigte sich nach einer dreistündigen Exposition im Schweinestall eine Abnahme des expiratorischen Spitzenflusses (PEF) [37]. Änderungen der Lungenfunktion bei gesunden Probanden nach mehrstündiger Anwesenheit in einem Schweinstall konnten auch in anderen Studien gefunden werden [11, 67].

Auch in anderen Berufen mit Exposition gegenüber organischen Stäuben konnten akute Änderungen der Lungenfunktionsparameter gezeigt werden, z.B. konnte bei Mitarbeitern einer Holzschnitzelanlage eine Abnahme des FEV₁ und der forcierten exspiratorischen Vitalkapazität (FVC) festgestellt werden. Diese war umso höher, je stärker die Belastung mit β -(1-3) Glucan (ein Oberflächenprotein von Bakterien, Pilzen und verschiedenen Pflanzen) war [44].

Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch für Belastung mit Baumwoll-, Getreide-, Tierfutter-, Papier- und Tabakstaub oder auch anderen Stallstäuben [56, 57, 65, 76].

Zur Lungenfunktion bei Exposition gegenüber Stäuben aus der Kompostverarbeitung liegen nur wenige Studien vor. In einer großen niedersächsischen Studie konnten keine signifikanten Unterschiede in der Lungenfunktion von Beschäftigten in der Kompostverarbeitung im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv gefunden werden [66]. In einer Studie mit 99 Kompostarbeitern konnte hingegen ein Abfall des Einsekundenvolumens (FEV₁) über die Arbeitsschicht gezeigt werden [71].

Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS)

Eine hohe Belastung mit Endotoxinen kann nicht nur eine lokale Entzündung der Atemwege auslösen, sondern kann auch eine systemische Reaktion, das „Organic Dust Toxic Syndrome“ (ODTS) auslösen. Endotoxine sind Bestandteile der Zellwand von gramnegativen Bakterien. Ca. vier bis sechs Stunden nach Exposition gegenüber organischen Stäuben entwickelt sich ein Krankheitsbild mit grippeähnlichen Symptomen; unter anderem kommt es zu Fieber und Leukozytose.

Es handelt sich um eine nicht-allergisch bedingte Erkrankung [16]. Verantwortlich sind vermutlich neben Endotoxinen auch β -(1-3) Glucane. Exposition gegenüber Endotoxinen führt zu einer Ausschüttung von Zytokinen, unter anderem IL-1 beta, IL-6 und TNF-alpha. Hauptmediator für ein ODTs ist anscheinend IL-1 [43, 68, 72, 81-83, 88].

Weber et. al. (1993) berichten über einen Fall, bei dem ein Mann nach Umsetzen eines Komposthaufens mit Atemnot, Fieber, Kopfschmerzen und Myalgie in die Notaufnahme eines Krankenhauses kam. Als Auslöser für diese Symptomatik wurde ein ODTs nach Exposition gegenüber Kompoststaub für wahrscheinlich gehalten. Ein experimentelles Nachstellen der Situation konnte eine hohe Belastung der Luft mit Pilzen, mesophilen, thermophilen und gramnegativen Bakterien nach Umsetzen des Kompostes nachweisen [85].

Zytokine

Zytokine sind kleine Protein- oder Peptidketten, sie bilden eine Gruppe von Botenstoffen, die ähnlich wie Hormone bereits in nano- oder picomolarer Konzentration ihre Wirkung zeigen. Sie dienen der Zell-zu-Zell Kommunikation, modulieren die Funktion von Zellen oder Geweben und können auch extrazelluläre Prozesse regulieren.

Interleukine gehören zu den Zytokinen, es sind kleine lösliche Peptide, die von verschiedenen Zellen des lymphozytären Systems gebildet werden. Sie sind an der Zell-zu-Zell Kommunikation der Lymphozyten beteiligt.

Darüber hinaus sind Interleukine an der Zell-Aktivierung, Zell-Differenzierung, Zell-Proliferation und an der Zell-zu-Zell Kommunikation beteiligt [32].

Interleukin-1 (IL-1)

Von Interleukin 1 sind zwei Subtypen bekannt: IL-1 alpha und IL-1 beta. Beide Formen sind auf verschiedenen Genen lokalisiert. Monozyten sind die wichtigste Quelle für Interleukin 1, wobei hauptsächlich IL-1 beta gebildet wird. Weiterhin sind aktivierte Makrophagen (Alveolarmakrophagen, Kupffer-Zellen), neutrophile Granulozyten, Endothelzellen, Fibroblasten, Keratinozyten und Langerhanszellen der Haut, Osteoklasten, Astrozyten, Epithelzellen des Thymus und der Kornea, T-Zellen, B-Zellen sowie NK-Zellen Produzenten von Interleukin 1.

Interleukin 1 spielt als proinflammatorisches Zytokin eine wichtige Rolle in der Regulation der akuten Entzündungsreaktion. Unter anderem regt Interleukin-1 die Freisetzung von Histamin aus basophilen Granulozyten sowie die Degranulation von eosinophilen Granulozyten an. Ein erhöhter Spiegel von IL-1 beta im Blut bewirkt eine Erhöhung des IL-6 Spiegels [14, 15, 23, 32, 54, 75].

Es wird vermutet, dass Interleukin 1 eine Schlüsselrolle für das Auftreten des ODTs nach Exposition gegenüber organischen Stäuben einnimmt [59].

IL-6

Interleukin 6 wird im Organismus von vielen verschiedenen Zellen gebildet.

Hauptquellen sind jedoch stimuliertes Monozyten, Fibroblasten und Endothelzellen.

IL-1, Endotoxine und TNF alpha regen die Bildung von IL-6 an.

Interleukin 6 ist einer der Hauptmediatoren für die akute Phase Reaktion der Entzündung [29, 30, 32, 34, 35].

TNF-alpha

TNF-alpha ist ein Zytokin der Tumornekrosefaktor-Gruppe (TNF). TNF wurde ursprünglich bei Mäusen entdeckt, denen bakterielle Endotoxine injiziert wurden.

Tumornekrosefaktor alpha wird im menschlichen Organismus wie IL-1 und IL-6 nach Exposition gegenüber Endotoxinen ausgeschüttet. Zellen, die TNF-alpha produzieren, sind Monozyten, neutrophile Granulozyten, T-Zellen sowie NK-Zellen. Ca. 15 % der peripheren Blut-Lymphozyten sind weder T- noch B-Zellen, sondern zytotoxische Lymphozyten, "natural killer cells" oder NK-Zellen genannt.

TNF-alpha vermittelt Zellzerstörung durch Zell-zu-Zell-Kontakte bei der Abwehr von Bakterien und Parasiten. Es wirkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und erhöht deren Adhärenz an Endothelien. Die Synthese von TNF wird durch hohe IL-6-Spiegel gehemmt [32, 41, 45, 78].

Zeitlicher Ablauf der Zytokinfreisetzung und Entzündungsreaktion

Die Freisetzung von Zytokinen nach Exposition gegenüber organischen Stäuben konnte vielfach nachgewiesen werden. Wang et al. untersuchten 1996 den zeitlichen Verlauf der Zytokine TNF-alpha und IL-6 im Serum nach Inhalation von Stäuben aus Schweineställen bei 15 gesunden Probanden, die vorher nicht beruflich gegenüber organischen Stäuben exponiert waren. Drei bis fünf Stunden nach einer

dreistündigen Exposition erreichte TNF-alpha das Maximum, für IL-6 fand sich das Maximum eine bis fünf Stunden nach dem Maximum des TNF-alpha [84]. Eine maximale Erhöhung der Leukozyten ist fünf bis sechs Stunden nach Exposition beobachtet worden, das CRP erreicht seinen höchsten Wert ca. 24 bis 48 Stunden nach Exposition [46].

Bei einer intranasalen Exposition fünf gesunder Probanden sowie von fünf Müllarbeitern gegenüber Stäuben aus der Biomüllverwertung fanden sich in der Nasallavage sechs Stunden nach Exposition die höchsten Werte für IL1-beta, IL-6 und IL-8 sowie für neutrophile Granulozyten. Auch im Blut der Probanden fand sich ein gleichzeitiger Anstieg dieser Zytokine. Die Untersuchung wurde 3, 6 und 11 Stunden nach Exposition durchgeführt [72].

Pathomechanismus der Entzündungsreaktion durch organische Stäube

Anfangs ging man von verschiedenen Pathomechanismen für die akuten Atemwegs- und Entzündungsreaktionen bei Beschäftigten in verschiedenen Bereichen mit Belastung durch organische Stäube aus, jedoch zeigte sich, dass allen ein ähnlicher Mechanismus zugrunde liegt. Für die akuten Veränderungen nach Inhalation von organischen Stäuben sind vermutlich die Endotoxine hauptverantwortlich, die eine Entzündungsreaktion auslösen [16, 31, 59, 62, 63, 79]. Durch Kontakt mit Endotoxinen schütten die Zellen, insbesondere Makrophagen und Epithelzellen in den Luftwegen, Zytokine aus und es kommt zu einer lokalen Schwellung der Mukosa [27] sowie zu einer systematischen Entzündungsreaktion (Anstieg des C-reaktiven Proteins (CRP) sowie von Zytokinen) [47, 60, 61, 68, 79, 83].

Zytokine in der Nasallavage und der bronchoalveolären Lavage

Die Wirkung einer Exposition gegenüber organischen Stäuben konnte vielfach durch Entzündungsreaktionen in der broncho-alveolären Lavage (BAL) nachgewiesen werden [39, 40, 51]. Bei Exposition gegenüber Getreidestäuben konnten in der BAL ein Anstieg von Zytokinen und eine Neutrophilie gezeigt werden. Inhalation von Stäuben aus Schweineställen führt zu erhöhtem IL-1 alpha, IL-1beta, IL-6 und TNF-alpha in der BAL und Nasallavage (NL) [82] und zu einem Anstieg von IL-8 [38].

Lungenepithelzellen und Alveolarmakrophagen schütteten in einer Zellkultur vermehrt IL-1 beta, IL-6 und TNF-alpha aus, wenn sie in Anwesenheit von

Schweinestaub gezüchtet wurden [83]. Lungenepithelzellen, die in Anwesenheit von Kompoststaub kultiviert wurden, sezernierten vermehrt IL-8 [1].

Anwesenheit in einem Schweinestall während der Reinigung führt zu einem Anstieg von IL-8 und neutrophilen Granulozyten bei gesunden, nicht vorbelasteten Probanden in der Nasallavage [37].

Bei Kompostarbeitern fanden sich erhöhte Konzentrationen der Myeloperoxidase (MPO) - ein Produkt der neutrophilen Granulozyten, IL-8, NO und Albumin nach der Schicht in der Nasallavage [21]. Eine experimentelle intranasale Exposition mit Kompoststäuben konnte erhöhte Werte für IL1 beta, IL-6 und IL-8 in der Nasallavage-Lösung bewirken [72]. Vergleichbare Ergebnisse konnten auch bei Müllarbeitern in der BAL sowie der NAL gefunden werden [26, 27, 89].

Eine Entzündungsreaktion der Atemwege kann bereits auftreten, ohne dass Änderungen in Lungenfunktion vorliegen [39, 79]. Die Nasallavage ist also ein empfindliches Instrument zum Nachweis einer Entzündungsreaktion der Atemwege.

Zytokine im Serum

Neben dem Anstieg von Zytokinen in der NL- oder BAL-Flüssigkeit konnte auch ein Anstieg der Zytokine im Serum, unter anderem TNF alpha, IL-1 beta, IL-6 und IL-8, nach Exposition gegenüber organischen Stäuben gezeigt werden [37, 46, 65, 72, 80].

Im Blutbild zeigte sich vor allem ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten.

Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, an freiwilligen gesunden Probanden zu prüfen, ob eine Exposition gegenüber organischen Stäuben aus der Biomüllkompostierung akute entzündliche Reaktionen der oberen Atemwege sowie systemische Entzündungsreaktionen auslösen kann.

Die vorliegenden Studie sollte mit Hilfe sensitiver Verfahren untersuchen, ob bereits eine kurzzeitige Exposition gegenüber organischen Stäuben aus der Biomüllkompostierung bei freiwilligen gesunden Probanden Auswirkungen auf die oberen Atemwege hat, die bei einer dauerhaften Exposition gegenüber diesen Stäuben zu chronischen Effekten bei Angestellten in der Biomüllverwertung beitragen könnten.

Um dies zu erreichen, sollte die vorliegende Studie folgende Kriterien erfüllen:

- 1) Simulation einer Arbeitsplatzsituation mit körperlicher Belastung.
- 2) Einmalige Exposition gesunder nicht-atopischer Nichtraucher gegenüber organischen Stäuben auf einer Kompostieranlage.
- 3) Erfassung akuter Symptome anhand eines Fragebogens.
- 4) Lungenfunktionsprüfung unmittelbar vor und nach der Kompostexposition als Indikator für eine Beeinträchtigung des Zielorgans Lunge.
- 5) Untersuchung des Differentialblutbildes.
- 6) Untersuchung der Entzündungsmediatoren Interleukin 1 beta (IL-1 beta), Interleukin 6 (IL-6) und Tumornekrosefaktor alpha (TNF alpha) im Probandenserum vor und nach der Kompostexposition.
- 7) Bestimmung und Differenzierung der Zellen im Nasensekret als Indikator für eine Entzündungsreaktion im Zielorgan Nase am Tag der Voruntersuchung sowie nach Kompostexposition.
- 8) Vergleich der Ergebnisse 2-6 mit einem Kontrollversuch mit vergleichbarer körperlicher Belastung aber ohne organische Staubexposition.

Material und Methoden

Untersuchungsablauf

Die Untersuchung gliederte sich in drei Abschnitte an drei Tagen:

- **Voruntersuchung**
- **Kompoststaubexposition**
- **Kontrollversuch**

Zwischen den einzelnen Untersuchungen betrug der Abstand mindestens drei Tage.

Die klinischen Untersuchungen fanden in der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München statt. Die Kompoststaubexposition sowie eine direkt nach der Exposition durchgeführte Lungenfunktionsuntersuchung wurden auf dem Gelände der Kompostieranlage in Zorneding, Kreis Ebersberg, Oberbayern durchgeführt.

Voruntersuchung

Die Voruntersuchung fand nachmittags gegen 15 Uhr in der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU München statt. Es wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Fragebogen zu Atemwegserkrankungen und Allergien (siehe Anhang)
- Anamnese und körperliche Untersuchung
- Hautpricktest
- Messen und Wiegen
- Lungenfunktionsprüfung
- Blutentnahme sowie
- Nasallavage

Kompoststaubexposition

In kleinen Biomüllkompostieranlagen wie der Kompostieranlage in Zorneding wird der Biomüll nach Anlieferung mit gehäckseltem Baumschnitt vermischt und in einer Dreiecksmiete aufgeschichtet. Diese wird während des mehrere Wochen dauernden Rotteprozesses mehrmals maschinell gewendet und bei Bedarf befeuchtet. Nach jedem Wendevorgang werden Störstoffe (nicht kompostierbare Abfallbestandteile wie Plastik, Glas, Windeln, etc.) per Hand von der Miete abgesammelt.

Nach ca. sechs Wochen wird der von Mikroorganismen zersetzte Biomüll zur Endmiete für ca. weitere vier Wochen in einer Halle gelagert. Zuletzt wird der Kompost nach Überprüfung des Schadstoffgehalts (Schwermetalle) auf Felder der ortsansässigen Landwirtschaft ausgebracht.

Um eine immer ähnliche Exposition der Probanden zu gewährleisten, wurde nach folgendem Schema vorgegangen:

| 8.30h | 10.00 bis 12.00h | 12.00h | 15.00h |
|---|-------------------------|-------------|---|
| Spirometrie Blutentnahme Fragebogen | Kompoststaub-exposition | Spirometrie | Blutentnahme Nasallavage Fragebogen |

Die Probanden trafen um 8.30 Uhr in der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU München ein. In der Poliklinik wurden Fragebogenangaben zu Atemwegserkrankungen im persönlichen Interview erhoben sowie

- eine Lungenfunktionsprüfung und
- eine Blutentnahme

durchgeführt. Anschließend begaben sich die Probanden zur Kompostieranlage Zorneding, hier wurde für eine Dauer von zwei Stunden (von 10 bis 12 Uhr) eine Exposition gegenüber Biomüll durchgeführt. Dazu mussten die Probanden für eine Dauer von zwei Stunden Kompost mit einer Schaufel umgraben. Es handelte sich hierbei um Biomüllabfälle aus Privathaushalten der Gemeinde Zorneding im Landkreis Ebersberg bei München, die mit Holzschnitzeln aus Baumschnitt aus dem Bereich der Gemeinde Zorneding versetzt wurden und jeweils seit drei Wochen auf der Kompostieranlage am Rotten waren. Drei Probanden mussten sich im Rhythmus von fünf Minuten mit dem Umgraben abwechseln. Somit waren die Teilnehmer während der zweistündigen Exposition für ca. 40 Minuten körperlich belastet.

Auf dem Gelände der Kompostieranlage wurde nach Abschluss der Exposition eine Überprüfung der Lungenfunktion mit einem portablen Spirometer vorgenommen.

Drei Stunden nach der Exposition wurden im Institut und der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU München folgende weitere Untersuchungen durchgeführt:

- Fragebogen zu akuten Symptomen
- Blutentnahme
- Nasallavage

Die Probanden wurden weiterhin gebeten, sich bei dem Versuchsleiter zu melden, falls bei ihnen irgendeine Art von Atemwegs- oder anderen Erkrankungssymptomen im weiteren Verlauf des Versuchstages auftreten sollten.



Abbildung 2: Probanden während der Kompostexposition

Kontrollversuch

Der Kontrollversuch wurde analog zu der Biomüllexposition nach dem folgendem Schema durchgeführt:

| 9.30h | 10.00 bis 12.00h | 12.00h | 15.00h |
|---|------------------|-------------|---|
| Spirometrie Blutentnahme Fragebogen | Kontrollversuch | Spirometrie | Blutentnahme Nasallavage Fragebogen |

Als Kontrollversuch fand auf dem Gelände des Klinikums der Universität München, Medizinische Klinik – Innenstadt, eine Untersuchung nach gleichem Schema wie auf der Kompostieranlage statt. Da der Kontrollversuch auf dem Gelände der Klinik stattfand, entfiel die Anfahrt zum Versuchsgelände, es ergab sich somit ein etwas späterer Beginn des Kontrolltages. Die Probanden trafen sich um 9.30 Uhr in der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU München. Vor Beginn der Belastung wurden folgende Untersuchungen mit den Probanden durchgeführt:

- Fragebogen zu Atemwegserkrankungen
- Lungenfunktionsprüfung sowie
- Blutentnahme

Es folgte nun der Kontrollversuch, wobei die Probanden anstelle von Kompost Rollsplitt vergleichbaren Gewichts umgraben mussten. Analog zum Komposttag wechselten sich die Probanden auch hier jeweils im Abstand von fünf Minuten mit dem Umgraben ab. Der Rollsplitt wurde befeuchtet, um eine Staubentwicklung zu unterbinden. Somit ergab sich auch hier eine körperliche Belastung von rund 40 Minuten pro Proband.

Direkt im Anschluss an den Kontrollversuch wurde bei den Probanden eine Überprüfung der Lungenfunktion durchgeführt.

Drei Stunden nach Ende der Exposition wurden wiederum folgende weitere Untersuchungen durchgeführt:

- Fragebogen zu akuten Symptomen
- Lungenfunktionsprüfung
- Blutentnahme
- Nasallavage

Die Probanden wurden nach Abschluss der Untersuchung gebeten, sich bei dem Versuchsleiter zu melden, falls sie im weiteren Tagesverlauf irgendein Zeichen von Atemwegserkrankungen oder sonstigen Erkrankungszeichen bemerken sollten.

Studienprotokoll

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt.

Kollektiv

Ausschlusskriterien

Von der Teilnahme an der Studie wurden ausgeschlossen:

- 1) Personen, die an akuten oder chronischen Atemwegserkrankungen litten
- 2) Personen mit anamnestisch bekannter Atopie
- 3) Personen mit beruflicher oder privater Staubexposition
- 4) Personen mit positivem Befund im Pricktest
- 5) Personen mit relevanten chronischen Erkrankungen
- 6) Personen mit relevanten pathologischen Befunden in der körperlichen Untersuchung
- 7) Personen mit positiver Raucheranamnese
- 8) Personen mit pathologischem Befund bei der Lungenfunktionsuntersuchung am Tag der Voruntersuchung oder am Beginn eines Versuchstages
- 9) Personen mit Infekten in den vergangenen 2 Wochen vor Versuchsteilnahme

Probanden

Die Probanden konnten durch Aushänge im Bereich der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU) gewonnen werden.

17 Probanden (10 Frauen, 7 Männer) unterzogen sich der Kompostexposition, 12 von ihnen nahmen auch am Kontrollversuch teil.

Das Alter reichte von 20 bis 35 Jahren, das durchschnittliche Alter lag bei 24,7 Jahren. Alle Probanden waren zum Zeitpunkt der Untersuchung Studenten oder Mitarbeiter an den Münchener Hochschulen.

| Proband | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|-----------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| Kompost | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Kontrollversuch | X | X | X | X | O | O | X | X | X | O | X | X | O | X | X | X | O |

Abbildung 3: Teilnahme der Probanden an den einzelnen Studienabschnitten;

x: teilgenommen; 0: nicht teilgenommen

Anamnese und körperliche Untersuchung

Die Anamnese und körperliche Untersuchung wurde bei allen Probanden durch die Ärzte der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München erhoben. Die Untersuchung folgte dem Formblatt zur Anamnese und Untersuchung der Poliklinik für Arbeits- und Umweltmedizin der Ludwig-Maximilians-Universität München. Zusätzlich wurden die Probanden nochmals gezielt nach Allergien, Rauchen und akuten Atemwegssymptomen befragt.

Pricktest

Allen Probanden wurden mit einem Pricktest mit Allergenextrakten (Firma Allergopharma, Reinbek) aus Baum-, Gräser-, Getreidepollen, Pilzsporen, Hausstaubmilben, Heumilben und Katzenhaaren auf eine eventuelle Sensibilisierung untersucht. Der Pricktest wurde vom Autor dieser Arbeit durchgeführt.

Auf die Innenseite des Unterarms wurde hierzu jeweils ein Tropfen des Allergenextraktes mit Hilfe einer Nadel in die Epidermis bis an das Stratum papillare eingebracht. Nach 15 Minuten wurde die bei einer vorhandenen Sensibilisierung entstehende Quaddel ausgemessen. Es wurde ebenfalls eine Positivkontrolle mit Histamin als Vergleich für eine eventuell vorhandene Sensibilisierung und eine Negativkontrolle mit Kochsalzlösung durchgeführt, um störende Einflüsse auszuschließen. Der Test wurde als positiv gewertet, falls die Quaddel mindestens genau so groß war, wie die durch Histamin hervorgerufene Effloreszenz.

Der Test dient dem Nachweis einer Immunsofortreaktion Typ I und somit einem Nachweis einer Sensibilisierung gegenüber ubiquitär vorkommenden Allergenen.

Gemäß den Ausschlusskriterien wurde kein Proband mit einem positiven Pricktest in die Studie aufgenommen.

Fragebogen

Alle Probanden wurden anhand eines Fragebogens (siehe Anhang 1) im persönlichen Interview vom Autor dieser Arbeit befragt. Der Fragebogen gliederte

sich in zwei Teile. Der erste Teil enthielt Fragen zu akuten und chronischen Atemwegserkrankungen, Asthma, Allergien, Rauchen und Medikamenteneinnahme, der zweite Teil konzentrierte sich auf Reizerscheinungen der Atemwege und befragte die Probanden zu akuten Beschwerden.

Der erste Teil des Fragebogens wurde jeweils im Rahmen der Voruntersuchung ausgefüllt, der zweite Teil wurde nach der Kompostexposition sowie nach dem Kontrollversuch bearbeitet.

Spirometrie

Am Tag der Voruntersuchung erfolgte in der Ambulanz des Instituts für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU eine Ganzkörperplethysmographie der Probanden. Der Bodyplethysmograph (MasterLab Pro, Jaeger, Würzburg) wurde automatisch geeicht und den aktuellen Umgebungsbedingungen (Temperatur, Luftfeuchtigkeit und -druck) angepasst.

Am Tag der Kompostexposition und am Tag des Belastungsversuches wurde vom Autor dieser Arbeit eine Bestimmung der Fluss-Volumen-Kurve vor und nach dem Versuch mit einem transportablen und akkubetriebenen Spirometer (Masterscope PC, Jaeger, Würzburg) durchgeführt. Die Umgebungsbedingungen (Temperatur, Luftdruck, relative Luftfeuchtigkeit) wurden jeweils vor den Messungen eingegeben und das Gerät wurde mit einer Pumpe mit einem Liter Volumen kalibriert.

Die durchgeführte Lungenfunktionsprüfung folgte der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin (DGAUM e.V.) [13], abweichend hiervon jedoch im Stehen.

Die Probanden wurden vor der Messung mit dem Ablauf der Untersuchung vertraut gemacht. Die spirometrischen Untersuchungen erfolgten mit Nasenklemme. Der Messkopf mit Mundstück wurde von den Probanden auf Mundhöhe gehalten. Es wurden pro Proband mindestens drei Fluss-Volumen-Kurven aufgezeichnet.

Die besten Werte für die forcierte Vitalkapazität (FVC) und das Einsekundenvolumen (FEV₁) wurden unabhängig davon, aus welcher Fluss-Volumen-Kurve sie stammten, ausgewählt. Der mittlere exspiratorische Fluss bei 50% der Ausatmung (MEF50) wurde aus der Kurve mit der höchsten Summe aus FVC und FEV₁ verwendet.

Die Sollwertberechnung der spirometrischen Parameter richtete sich nach den von Quanjer et al. [55] veröffentlichten Formeln. Die Körpergröße der Probanden wurde zur Berechnung der Sollwerte am Tag der Voruntersuchung gemessen.

Laboruntersuchungen

Hämatologische Untersuchungen

Von allen Probanden wurde am Tag der Voruntersuchung, vor und nach der Kompostexposition sowie vor und nach dem Kontrollversuch durch den Autor dieser Arbeit peripheres venöses Blut entnommen. Aus der Blutprobe wurde ein Blutbild mit Differenzierung der Leukozyten im Routinelabor des Klinikums der Universität München – Campus Innenstadt, Medizinische Klinik, angefertigt. Am Tag der Voruntersuchung sowie vor der Kompostexposition und vor dem Kontrollversuch wurde zusätzlich die Blutsenkungsgeschwindigkeit bestimmt.

Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

Die zur Untersuchung benötigten EDTA-Blutproben wurden im Institut für Arbeits- und Umweltmedizin der LMU jeweils vor und nach der Kompostexposition bzw. vor und nach dem Kontrollversuch gleichzeitig mit den Proben für das Differenzialblutbild gewonnen. Das Plasma wurde durch Zentrifugation bei 1000 x g von den zellulären Bestandteilen getrennt, aliquotiert und bis zur weiteren Verwendung bei –32°C eingefroren.

Die vom Autor durchgeführte Bestimmung der Zytokine

- Tumornekrosefaktor alpha (TNF alpha)
- Interleukin 1 beta (IL-1 beta)
- Interleukin 6 (IL-6)

im EDTA-Blutplasma erfolgte mit Hilfe eines ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

Die benutzten ELISA-Kits enthalten eine Platte mit 96 Vertiefungen, die als Probengefäße dienen. Ein spezifischer Antikörper gegen ein Antigen der zu messenden Substanz ist chemisch fest an die Wand des Probengefäßes gebunden. Nach Zugabe des Blutplasmas bindet das darin enthaltene Antigen (z.B. IL-6) während einer festgelegten Inkubationszeit an den Antikörper, der seinerseits fest an die Probengefäßwand gebunden ist. Die Menge des an den Antikörper bindenden

Interleukins ist proportional zu der in der Probe enthaltenen Menge. Der nicht gebundene Überstand wird abgewaschen.

Ein an ein Enzym gebundener Antikörper (Konjugat) wird im Überschuss zugegeben und bindet an jedes der im ersten Schritt fixierten Antigene (z.B. IL-6), der Rest wird abgewaschen. Dann wird ein Substrat zugegeben, das von dem an den Antikörper gebundenen Enzym in einer Farbreaktion umgesetzt wird. Nach einer bestimmten Zeit wird diese Reaktion durch Zugabe von Schwefelsäure, die die Enzyme denaturiert, gestoppt. Die durch Enzymaktivität abgelaufene Farbreaktion kann nun photometrisch quantifiziert werden und ist proportional zur der in der Probe enthaltenen Menge an zu messender Substanz. Die Konzentrationen lassen sich mit Hilfe einer ebenfalls mitlaufenden Standardreihe mit bekannten Konzentrationen berechnen.

Für diese Arbeit wurden ELISA-Kits der Firma R&D Systems (R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt) verwendet. Um eine einfache Anwendung der Kits zu ermöglichen, sind die nötigen Schritte bei der Verwendung dieser Kits sehr ähnlich. Im Folgenden ist stellvertretend die Anwendung des IL 1-beta Kits detailliert beschrieben.

Bestimmung von Interleukin 1 beta (IL-1 beta) im Blutplasma

IL-1 beta im Plasma wurde mit einem ELISA-Kit für IL-1 („HS Quantikine[®] HS human IL-1 beta Immunoassay“, Bestellnummer HSLB50, R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt) gemäß der Anleitung durchgeführt.

Die Vertiefungen in den Probenplatten wurden mit 100 µl Diluent beschickt, anschließend wurden 150 µl EDTA-Plasma hinzugegeben. Die Platte wurde über Nacht bei Raumtemperatur für 14-20 Stunden inkubiert.

Am nächsten Tag wurde die Platte viermal mit Waschlösung gespült. 200 µl Konjugat (Enzym mit gebundenem Antikörper) wurden zugegeben und die Platte wurde für 3 Stunden inkubiert. Im Anschluss wurde die Platte viermal mit Spülösung gewaschen. Es wurde nun 50 µl Substrat und nach 45 Minuten Inkubationszeit zusätzlich 50 µl Verstärkerlösung für die Farbreaktion hinzugegeben. Durch enzymatische Umsetzung ergab sich eine kräftige Formazan-Färbung.

Nach maximal 45 Minuten, abhängig von der Raumtemperatur auch früher, wurde 50 µl Schwefelsäure hinzugegeben, um die Farbreaktion zu stoppen.

Die durch Enzymaktivität entstandene Färbung der Proben auf der Platte wurde mit einem Plattenphotometer (Lamda Spectral 340 Microplate Spectrophotometer, MGW-Biotech, Ebersberg) bei einer Wellenlänge von 490 nm ausgelesen.

Anhand einer ebenfalls auf der Platte mitgelaufenen Standardreihe mit bekannten Konzentrationen konnten die Konzentrationen der Proben mit Hilfe der zum Plattenphotometer gehörenden computergestützten Auswertungssoftware (KC 4 Kinetical for Windows, Bio-tech Instruments Inc., Winooski, Vermont, USA) berechnet werden.

Die niedrigste nachweisbare Konzentration für IL-1 beta beträgt 0,10 pg/ml.

Bestimmung von Interleukin 6 (IL-6) im Blutplasma

Die Bestimmung von IL-6 im Plasma erfolgte mit einem ELISA-Kit für IL-6 („HS Quantikine® HS human IL-6 Immunoassay“, Bestellnummer HS 600, R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt). Das ELISA Kit wurde nach Herstellerangaben, analog zu dem für IL-1 beta beschriebenen Verfahren angewendet.

Die untere Nachweisgrenze für IL-6 dieses Verfahrens ist 0,094 pg/ml.

Bestimmung von Tumornekrosefaktor alpha (TNF alpha) im Blutplasma

Zur Bestimmung von TNF alpha im Plasma wurde das ELISA-Kit für TNF alpha („HS Quantikine® HS human TNF alpha Immunoassay“, Bestellnummer HSTA50, R&D Systems GmbH, Wiesbaden-Nordenstadt), verwendet. Die Anwendung erfolgte gemäß der Anleitung analog zu dem für IL-1 beta beschriebenen Verfahren.

Die untere nachweisbare Konzentration für TNF alpha bei diesem Verfahrens lag bei 0,18 pg/ml.

Bestimmung der Entzündungsparameter in der Nasallavage

Als Material für die Untersuchung einer Entzündungsreaktion im Zielorgan „Nase“ wurde von den Probanden Nasalsekret gewonnen. Mit den daraus gewonnenen Zellen wurden weitere Untersuchungen durchgeführt:

- Zellzählung
- Zelldifferenzierung

Die Gewinnung der Nasallavage, die Zelldifferenzierung und die Zellzählung erfolgten durch den Autor dieser Arbeit.

Nasallavage

Nach der Voruntersuchung, nach der Kompostexposition und nach dem Kontrollversuch wurde von den Probanden Nasalsekret mit Hilfe einer Nasallavage gewonnen. Für alle Arbeiten wurden ausschließlich sterile RNase- und DNase-freie Geräte und Chemikalien verwendet.

Zunächst wurde den Probanden das Vorgehen erklärt. Die Probanden wurden gebeten, den Kopf in 30° Rücklage zu reclinieren, die Luft anzuhalten und mit der Zunge den Nasopharynx zu verschließen, um ein Verschlucken der Lösung zu vermeiden. Mit einer Einmalspritze wurden 5 ml 0,9% NaCl Lösung in das rechte Nasenloch überführt. Nach 10 Sekunden wurden die Probanden aufgefordert, die Lösung mehrmals kräftig in ein steriles Becherglas auszuschnäuzen. Für das linke Nasenloch erfolgte die Nasallavage direkt im Anschluss auf gleiche Weise.

Um möglichst die gesamte gewonnene Nasallavage verwenden zu können, wurden die Innenwände des Becherglases mit 20 ml NaCl 0,9% Lösung gespült.

Die so gewonnene Lösung wurde für 10 Minuten bei 1900 x g abzentrifugiert, das nun entstandene Zellpellet wurde nach Verwerfen des Überstands mit 3 ml Sputolysinlösung (1 Teil Sputolysin® Reagent, (Calbiochem, Schwalbach) + 9 Teile Aqua dest.) resuspendiert. Es folgte eine Inkubationszeit von 15 Minuten bei 37°C unter sanfter Bewegung. Anschließend wurden 20 ml 1xPBS-Pufferlösung zugegeben (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Sigma-Aldrich GmbH, Seelze) und bei 1900 x g zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen, das verbleibende Zellpellet wurde in 200 µl PBS resuspendiert.

Es wurden 10 µl der Zellsuspension für eine Zellzählung entnommen, je nach errechneter Zellzahl wurden weitere 5 bis 20 µl Zellsuspension entnommen und zur Differenzierung der in der Suspension enthaltenen Zellen verwendet.

Zellzählung

Zur Bestimmung der Zellzahl wurden 10 µl der in der Aufbereitung der Nasallavage gewonnenen Zellsuspension mit 190 µl Trypanblau gemischt, die Zellen wurden mit Hilfe einer Neubauer-Zählkammer ausgezählt, hierbei wurden lediglich vitale Zellen gezählt. Es wurden die Zellen in allen vier Großfeldern gezählt. Die Berechnung der

Zellzahl/ml erfolgte nach der Formel zur Berechnung der Zellen in einer Neubauer-Zählkammer.

$$\frac{\text{gezählte Zellen}}{\text{ausgezählte Fläche} \times \text{Kammertiefe} \times \text{Verdünnung}}$$

Formel 1: Berechnung der Zellzahl

Zelldifferenzierung

Es wurde eine Differenzierung der in der Nasallavage gewonnenen Zellen nach Zelltyp durchgeführt. Das für die Zelldifferenzierung benötigte Volumen an Zellsuspension konnte mit Hilfe der in der zuvor in der Zählkammer bestimmten Zellzahl / μl berechnet werden und enthielt zwischen 20.000 und 40.000 Zellen. Die benötigte Menge an Zellsuspension wurde mit 950 μl 1xPBS-Pufferlösung (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline, Sigma-Aldrich GmbH, Seelze) und 50 μl fetalem Kälberserum (FCS) vermischt und mit Hilfe einer Cytospin-Zytozentrifuge (Cytospin 3, Shaldon, Frankfurt am Main) durch Zentrifugation bei 700 x g auf einen Objektträger fixiert.

Die Objektträger wurden luftgetrocknet, für 10 Minuten in einer Aceton/Methanol 1:1 Lösung fixiert und anschließend mit einer Giemsa-Lösung gefärbt.

Die gefärbten Zellen auf dem Objektträger wurden im Lichtmikroskop differenziert, hierzu wurden je Objektträger 100 Zellen beurteilt.

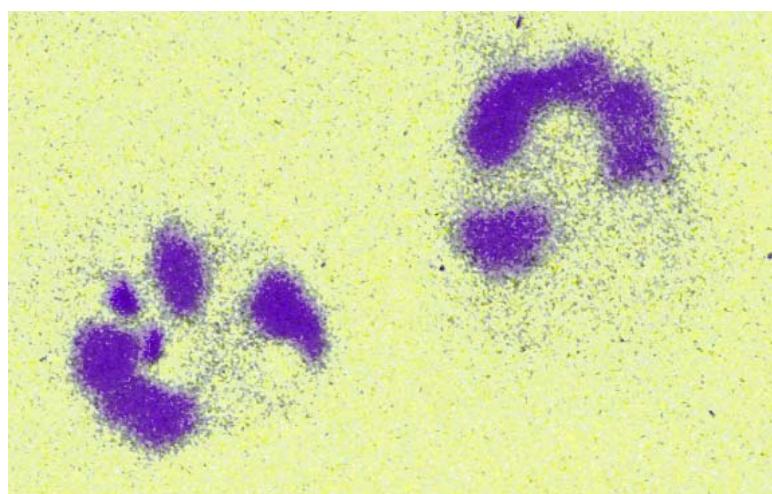


Abbildung 4: Neutrophile Granulozyten aus der Nasallavage

Endotoxinbestimmung

Als biologisch relevanter Bestandteil der Atemluft am Arbeitsplatz wurde beim vorliegenden Versuchsansatz das Endotoxin angesehen. Zur Abschätzung der während der Exposition der Probanden auftretenden Belastung mit Endotoxin wurden daher orientierende Messungen der Endotoxinkonzentration durchgeführt. Jeweils ein Proband pro Untersuchungstag trug ein personenbezogenes Messgerät (GSP, personenbezogener Luftsammler, GSA Messgerätebau, Neuss, Deutschland). Glasfaserfilter (37 mm 224 PCXR 7KB, SKC, Mühlheim, Deutschland) wurden mit einem konstanten Luftvolumen von vier Liter pro Minute beprobt. Zur Bestimmung der Endotoxinkonzentration wurde ein kinetischer Farbreaktionstest verwendet. Die Filter wurden in 7,5 ml reinem Wasser für 1,5 Stunden kräftig geschüttelt und anschließend, nach Verdünnung im Verhältnis 1:100, wurden 100 µl der Lösung auf eine Mikrotiterplatte pipettiert. Es wurde LAL-Reagenz hinzugegeben und eine kinetische Farbbestimmung bei 405 nm mit einem Reader (Powerwave, MWG Biotech) bei einer konstanten Temperatur von 37°C durchgeführt. Die Endotoxinkonzentration wurde anhand einer Standardkurve errechnet.

Statistische Methoden

Die Ergebnisse wurden als Mittelwert +/- Standardabweichung (bei den Lungenfunktionsbefunden) bzw. als Median und Range dargestellt. Ebenfalls wurde die prozentuale Veränderung der Parameter während des Exposition- und des Kontrolltages nach der Formel 2 berechnet:

$$\frac{\text{Endwert} - \text{Ausgangswert}}{\text{Ausgangswert}} * 100$$

Formel 2: Berechnung der Zellzahl

Die berechneten prozentualen Änderungen über den Kompost- sowie Kontrolltag wurden anhand des Wilcoxon-Tests auf statistische Signifikanz geprüft. Ebenfalls mit Hilfe dieses Tests wurden der Ausgangswert am Morgen und der Endwert am Nachmittag der jeweiligen Untersuchungstage verglichen.

Die Analyse der Daten erfolgte mit dem Computersoftware-Paket SPSS 10.0.7 (SPSS Inc., Chicago, Illinois).

Ergebnisse

Endotoxin

Die Endotoxinkonzentrationen an den Expositionstagen lagen zwischen 11,2 und 119,6 EU/m³.

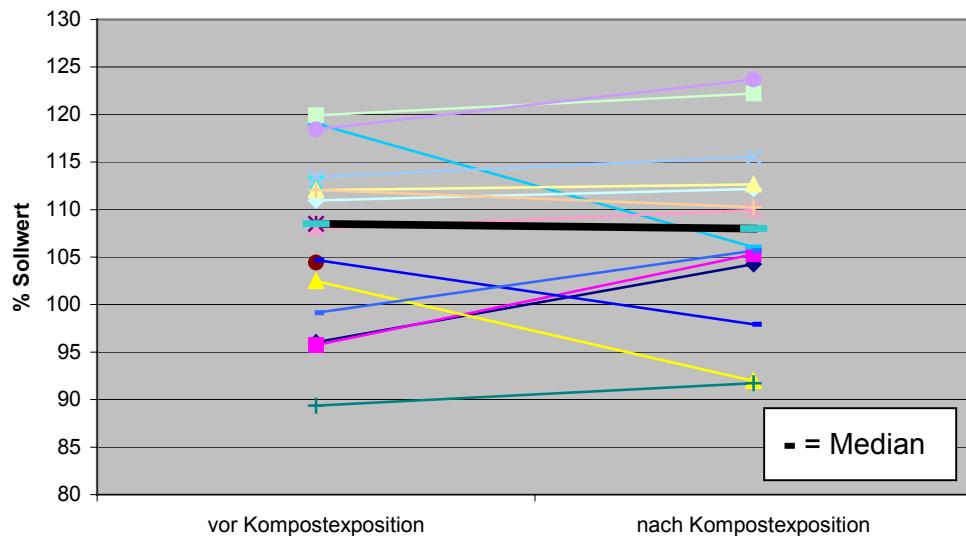
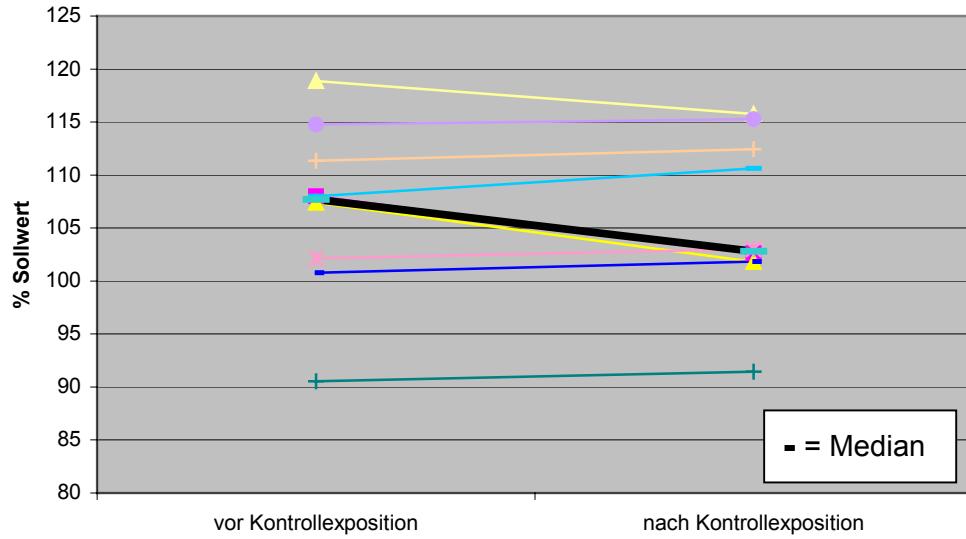
Akute und chronische Atemwegsbeschwerden

Den Auswahlkriterien nach gab keiner unserer Probanden akute oder chronische Atemwegsbeschwerden vor Beginn der Untersuchung an.

Weiterhin wurde sowohl am Untersuchungstag als auch am Tag der Kompostexposition sowie während des Kontrollversuches von keinem der Probanden über akute Atemwegsbeschwerden (Husten, Niesreiz, Reizung der Nase, giemende Atmung, Atemnot oder Engegefühl im Brustkorb) berichtet.

Lungenfunktionsuntersuchung

Gemäß den Auswahlkriterien lagen die Lungenfunktionsbefunde der Probanden bei der Voruntersuchung im Normbereich (Tabelle 4). Die Einzelbefunde des FEV₁ für die Hauptuntersuchungen sind in Abbildung 5 und 6 dargestellt. Die obere Graphik zeigt die Befunde am Tag der Kompostexposition, die untere Graphik die Befunde am Tag des Kontrollversuchs. Es zeigten sich für beide Versuchstage keine signifikanten Änderungen der Lungenfunktionsparameter (Kompostexposition $p_{Wilcoxon} = 0,43$; Kontrollversuch $p_{Wilcoxon} = 0,21$). Die Änderungen der Lungenfunktion an Tagen mit Kompostexposition unterschieden sich nicht statistisch signifikant von den Änderungen an Tagen mit Kontrollexposition.

Abbildung 5: Einzelbefunde des FEV_1 für den KomposttagAbbildung 6: Einzelbefunde des FEV_1 für den Kiestag

| % des Sollwertes : Median (Range) | FVC | FEV ₁ |
|--------------------------------------|---------------------|--------------------|
| Voruntersuchung (n=16) | 102,0 (88,7-119,7) | 104,1 (83,4-117,4) |
| vor Kompostexposition (n=14) | 101,6 (90,3-124,82) | 109,5 (89,3-119,9) |
| nach Kompostexposition (n=14) | 106,5 (86,7-131,86) | 108,0 (91,7-123,7) |
| vor Kontrollbelastung (n= 9) | 105,7 (84,3-117,4) | 108,0 (90,5-118,9) |
| nach Kontrollbelastung (n=9) | 102,1 (87,7-116,9) | 103,0 (91,4-115,8) |
| Prozentuale Änderung über den | | |
| Komposttag (n= 14) | 1,5 (-9,2-25,3) | 1,8 (-10,9-10,0) |
| Kontrolltag (n=9) | -0,4 (-5,3-4,2) | 0,8 (-5,2-2,4) |
| p _{Wilcoxon} | 0,78 | 0,86 |

Tabelle 4: Ergebnisse der Lungenfunktionsuntersuchung

Differenzialblutbild

In den Abbildungen 7 und 8 sind die individuellen Änderungen der Anzahl der Leukozyten über die Untersuchungstage dargestellt. Die Abbildungen 9 bis 14 zeigen die individuellen Änderungen der Neutrophilen, Eosinophilen und Monozyten am relativen Anteil der Leukozyten.

Der Anteil der Neutrophilen nahm während der Kompostexposition zu ($p=0,002$), nicht jedoch während des Kontrollversuchs ($p=0,656$). Der Anteil der Lymphozyten an den Leukozyten hingegen nahm über den Komposttag ab ($p=0,003$), am Kontrolltag fand sich keine Änderung ($p=0,929$). Der relative Anteil der Eosinophilen fiel ebenfalls über den Komposttag ab ($p=0,002$), jedoch nicht am Tag der Kontrolluntersuchung ($p=0,683$). Ebenso verhielt sich der Anteil der Monozyten, es fand sich eine relative Abnahme nach der Kompostexposition ($p=0,003$) jedoch nicht am Tag des Kontrollversuchs ($p=0,475$).

Betrachtet man nun nicht den relativen Anteil der Komponenten an den Leukozyten, sondern deren absolute Zahl, so bestätigte sich auch hier statistisch ein Anstieg der Neutrophilen ($p=0,003$) und ein Abfall der Eosinophilen ($p=0,03$) am Komposttag.

Anders als bei Betrachtung der relativen Leukozytenanteile sank die Zahl der Lymphozyten am Kiestag ($p=0,03$), nicht aber am Kontrolltag ($p=0,60$).

Auch für die absolute Anzahl der Eosinophilen konnte ein Abfall am Komposttag ($p=0,003$), nicht aber für den Kiestag ($p=0,534$) nachgewiesen werden. Weitere

Änderungen der absoluten Anzahl waren bei den anderen untersuchten Leukozytenanteilen nicht signifikant.

Beim Vergleich der prozentualen Änderungen über den Komposttag und über den Kontrolltag ergab sich ein statistisch signifikanter stärkerer Abfall der Monozyten am Expositionstag als am Kontrolltag ($p=0,03$). Darüber hinaus fand sich ein tendenziell stärkerer Anstieg der neutrophilen Granulozyten am Expositionstag als am Kontrolltag ($p=0,12$). Die eosinophilen Granulozyten fielen am Expositionstag tendenziell stärker ab als am Kontrolltag ($p=0,09$). Bei Betrachtung der absoluten Leukozytenzahlen fand sich eine schwächere Zunahme der Lymphozytenzahl am Komposttag als am Kontrolltag ($p=0,03$). Der tendenzielle Anstieg der neutrophilen Granulozyten konnte bestätigt werden ($p=0,11$). Eine Übersicht über das weiße Blutbild für absolute und prozentuale Leukozytenzahlen ist in den Tabellen 5 und 6 dargestellt.

Abbildung 7: Individuelle Änderungen der Anzahl der Leukozyten am Komposttag

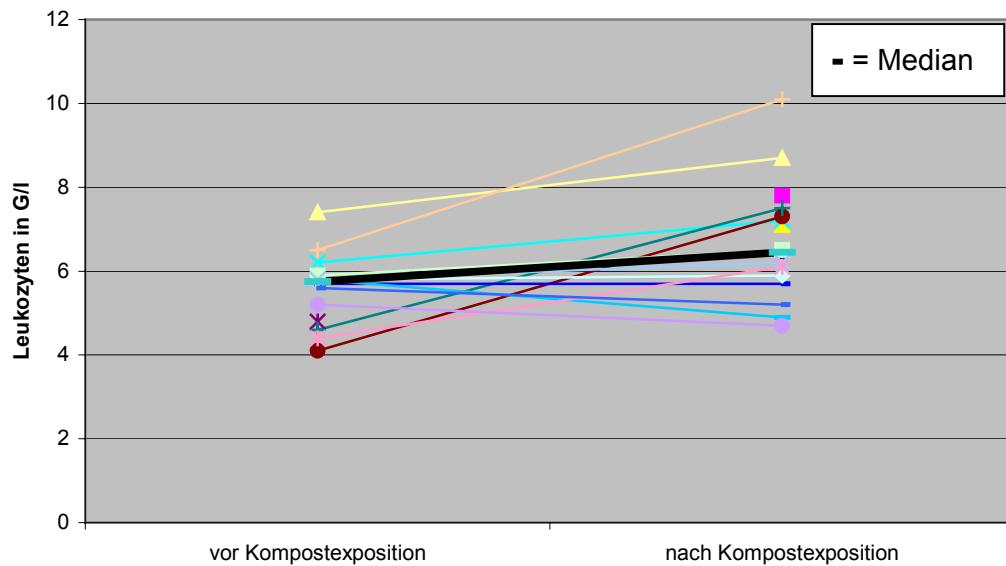


Abbildung 9: Individuelle Änderungen des Anteils der Neutrophilen am Komposttag

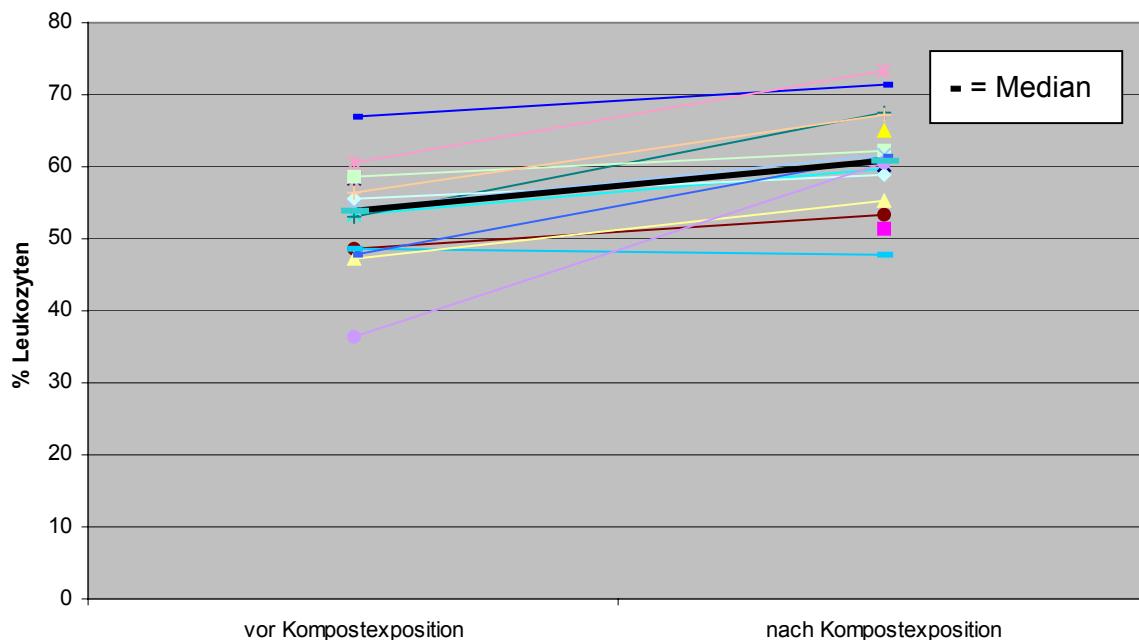


Abbildung 10: Individuelle Änderungen des Anteils der Neutrophilen am Kontrolltag

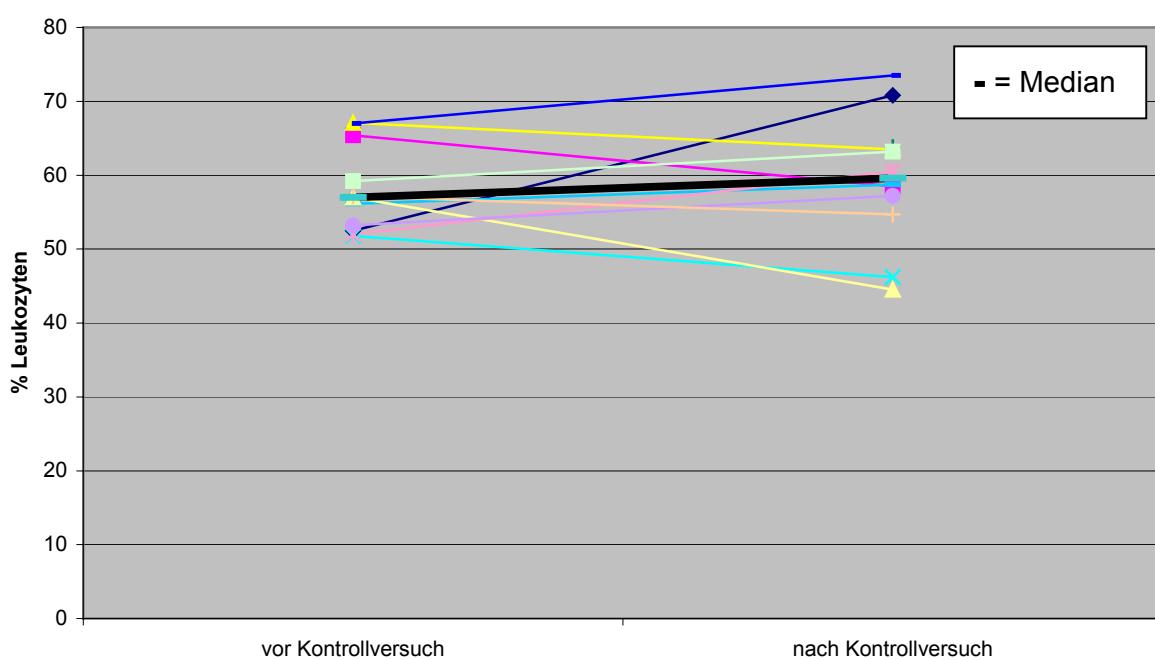


Abbildung 11: Individuelle Änderungen des Anteils der Eosinophilen am Komposttag

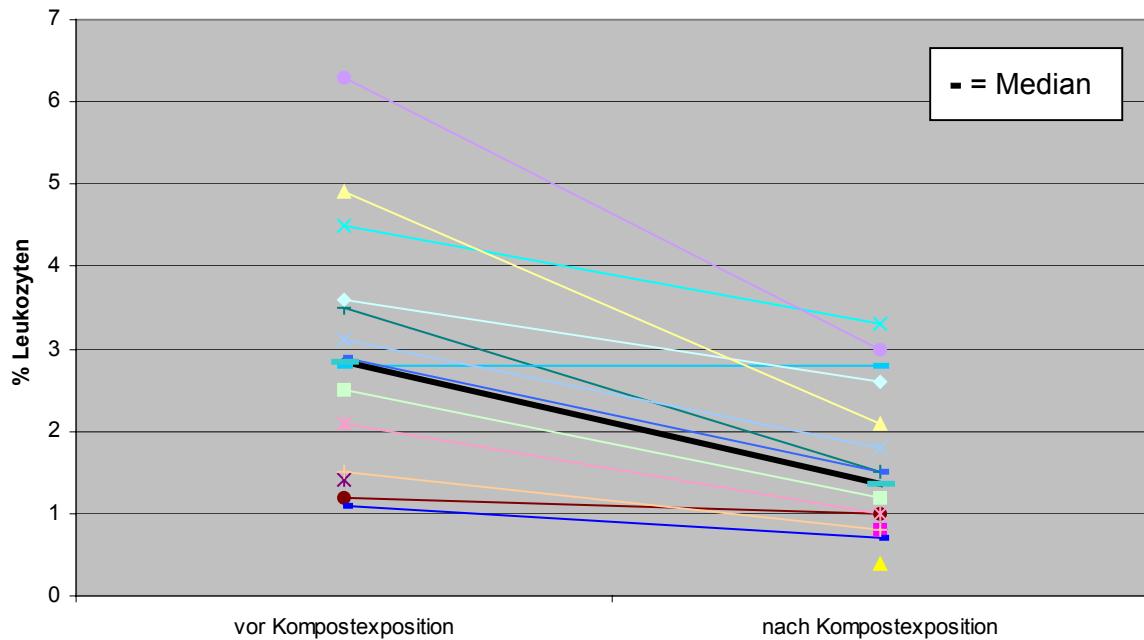


Abbildung 12: Individuelle Änderungen des Anteils der Eosinophilen am Kontrolltag

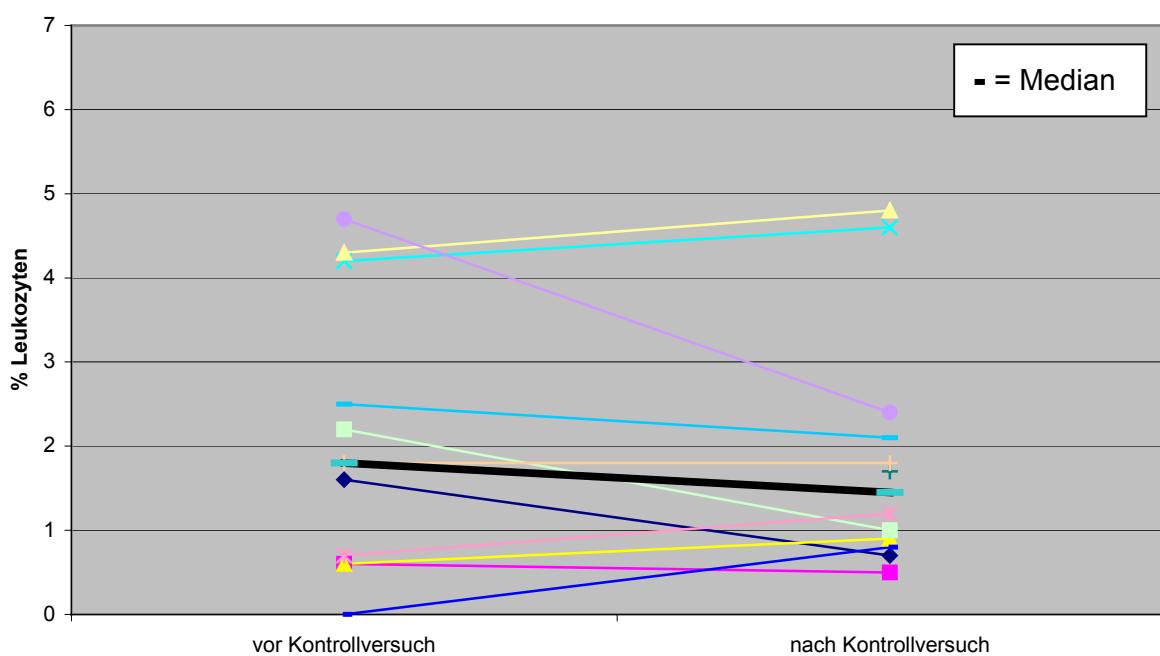


Abbildung 13: Individuelle Änderungen des Anteils der Monozyten am Komposttag

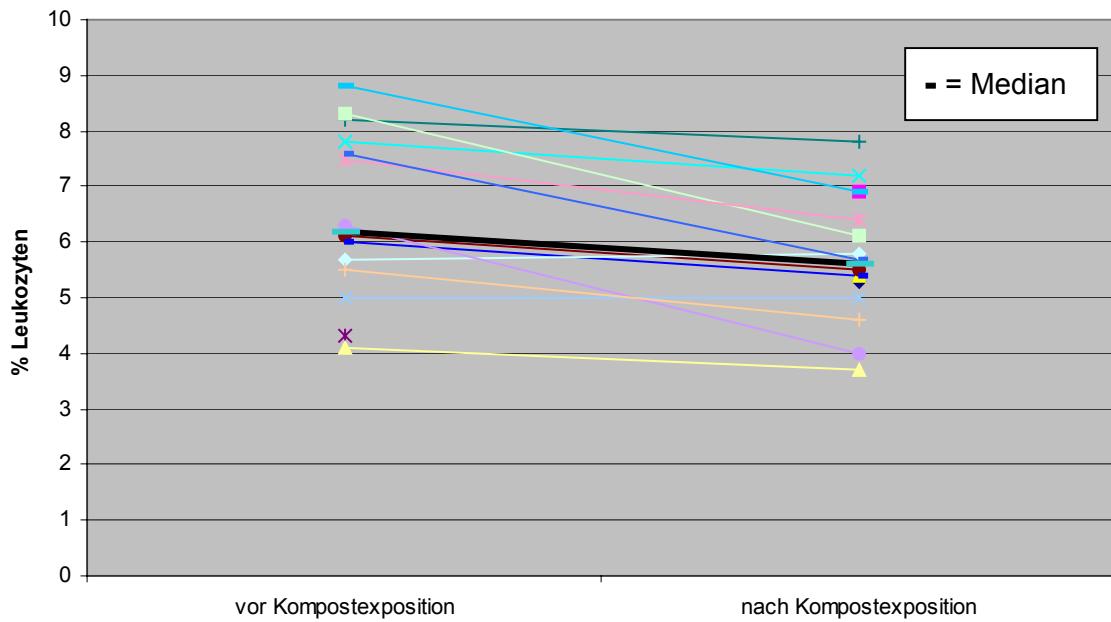
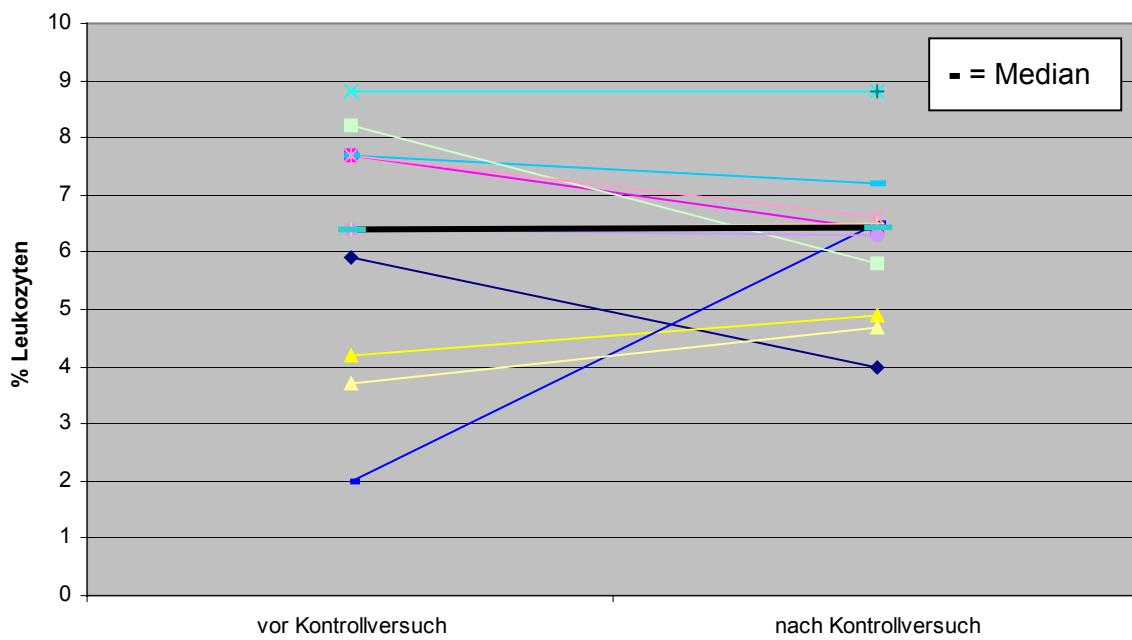


Abbildung 14: Individuelle Änderungen des Anteils der Monozyten am Kontrolltag



| Median (Range) | Leukozyten | Neutrophile | Lymphozyten | Eosinophile | Basophile | Monozyten |
|---|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------------------|
| | (G/l) | (% Leukozyten) | (% Leukozyten) | (% Leukozyten) | (% Leukozyten) | (% Leukozyten) |
| Referenzbereich | 4,0-11,3 | 50,0-70,0 | 25,0-40,0 | < 4,0 | < 1,0 | < 15,0 |
| Voruntersuchung (n=13) | 6,0 (3,9-8,4) | 54,0 (50,0-78,9) | 36,7 (16,3—41,9) | 1,7 (0,6-5,4) | 0,4 (0,1-1,0) | 6,4 (3,7-8,3) |
| vor Kompostexposition (n=14) | 5,8 (4,1-7,4) | 53,9 (36,3-66,9) | 35,7 (25,8-50,7) | 2,9 (1,1-6,3) | 0,3 (0,2-0,8) | 6,2 (4,1-8,8) |
| nach Kompostexposition (n=16) | 6,5 (4,7-10,1) | 61,0 (47,8-73,2) | 31,1 (19,1-42,3) | 1,4 (0,4-3,3) | 0,3 (0,0-0,7) | 5,6 (3,7-7,8) |
| vor Kontrollversuch (n=11) | 5,2 (4,0-9,6) | 57,0 (51,8-67,1) | 33,9 (26,1-39,5) | 1,8 (0,0-4,7) | 0,5 (0,2-1,0) | 6,4 (2,0-8,8) |
| nach Kontrollversuch (n=12) | 6,9 (4,7-8,6) | 59,6 (44,5-73,5) | 31,5 (18,7-54,3) | 1,5 (0,5-4,8) | 0,4 (0,0-1,0) | 6,5 (4,0-8,8) |
| Prozentuale Änderung^(*) über den: | | | | | | |
| Komposttag | 10,2 (-15,5-78,1) | 13,8 (-1,7-66,7) | -14,3 (-36,3-7,1) | -46,7 (-57,1-0,0) | -50,0 (-100-100) | -10,0 (-36,5-1,8) |
| Kontrolltag | 24,7 (-14,6-63,6) | 4,6 (-21,9-34,9) | -0,7 (-38,7-59,2) | -8,0 (-56,3-71,4) | -40,0 (-100-400) | -1,6 (-32,2-225) |
| p_{Wilcoxon} | 0,95 | 0,12 | 0,13 | 0,09 | 0,73 | 0,03 |

$$(*) \frac{\text{Endwert} - \text{Ausgangswert}}{\text{Ausgangswert}} * 100$$

Tabelle 5: Ergebnisse des Differenzialblutbildes – prozentuale Anteile der Leukozyten

| Median (Range) | Leukozyten | Neutrophile | Lymphozyten | Eosinophile | Basophile | Monozyten |
|---|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | (G/l) | (G/l) | (G/l) | (G/l) | (G/l) | (G/l) |
| Voruntersuchung (n=13) | 6,0 (3,9-8,4) | 3,5 (2,0-4,7) | 2 (1,0-3,2) | 0,10 (0,04-0,22) | 0,02 (0,01-0,05) | 0,37 (0,22-0,59) |
| vor Kompostexposition (n=14) | 5,8 (4,1-7,4) | 3,0 (1,9-3,8) | 2,1 (1,3-3,2) | 0,16 (0,05-0,36) | 0,02 (0,01-0,05) | 0,34 (0,21-0,51) |
| nach Kompostexposition (n=16) | 6,5 (4,7-10,1) | 4,0 (2,3-6,8) | 2,0 (1,2-3,4) | 0,08 (0,03-0,24) | 0,02 (0-0,05) | 0,36 (0,19-0,59) |
| vor Kontrollversuch (n=11) | 5,2 (4,0-9,6) | 3,0 (2,1-6,3) | 1,7 (1,3-2,6) | 0,11 (0-0,33) | 0,02 (0,01-0,07) | 0,34 (0,1-0,74) |
| nach Kontrollversuch (n=12) | 6,9 (4,7-8,6) | 4,1 (2,3-5,5) | 1,9 (1,2-4,1) | 0,09 (0,04-0,36) | 0,02 (0,01-0,06) | 0,42 (0,29-0,53) |
| Prozentuale Änderung^(*) über den: | | | | | | |
| Komposttag | 10,2 (-15,5-78,1) | 30,0 (-17,0-107) | -3,9 (-42,4-63,0) | -34,0 (-57-48,4) | -43,7 (-100-108) | 6,1 (-42,6-60,5) |
| Kontrolltag | 24,7 (-14,6-63,6) | 25,2 (-23,6-121) | 13,2 (-9,5-58,9) | -10,8 (-37,5-134) | -23,2 (-100-339) | 16,9 (-29,0-340) |
| p_{Wilcoxon} | 0,95 | 0,11 | 0,03 | 0,54 | 0,25 | 0,18 |

$$(*) \frac{\text{Endwert} - \text{Ausgangswert}}{\text{Ausgangswert}} * 100$$

Tabelle 6: Ergebnisse des Differenzialblutbildes – absolute Leukozytenzahlen

Zytokine im peripheren venösen Blut

Die Auswertung der im peripheren Blut bestimmten Zytokinkonzentrationen erfolgte analog zu der Auswertung des Differenzialblutbildes. In Tabelle 7 sind die Ergebnisse der einzelnen Untersuchungen zusammengefasst. Es sind sowohl die einzelnen Ergebnisse als auch die prozentuale Änderung über den Kompost- bzw. den Kontrolltag aufgeführt. Bei den prozentualen Änderungen konnten keine signifikanten Veränderungen gefunden werden. Abbildung 15 bis 20 veranschaulichen die Einzelbefunde und deren Änderung über den Kompost- als auch den Kontrolltag. Der Anstieg von IL-6 war am Komposttag deutlicher als am Kontrolltag, allerdings war diese Änderung nicht statistisch signifikant.

| Median (Range) (n) | TNF alpha (pg/ml) | IL-1 beta (pg/ml) | IL-6 (pg/ml) |
|--|------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| Voruntersuchung | 1,90 (1,23-5,23) (n=13) | 0,36 (0,05-1,04) (n=15) | 0,87 (0,46-1,89) (n=15) |
| vor Kompostexposition | 2,22 (1,57-5,48) (n=13) | 0,38 (0,05-1,64) (n=17) | 0,87 (0,43-1,85) (n=17) |
| nach Kompostexposition | 1,84 (1,48-5,73) (n=13) | 0,30 (0,00-1,87) (n=17) | 1,06 (0,33-2,47) (n=17) |
| vor Kontrollversuch | 1,83 (1,26-3,44) (n=12) | 0,31 (0,25-0,92) (n=10) | 0,66 (0,28-2,66) (n=12) |
| nach Kontrollversuch | 1,68 (1,07-2,81) (n=12) | 0,22 (0,02-0,70) (n=10) | 0,79 (0,30-1,81) (n=12) |
| Prozentuale Änderung^(*): | | | |
| über den Komposttag | -5,52 (-48,7-31,7) (n=13) | -48,3 (-100,0-195,5) (n=17) | 23,8 (-59,0-79,6) (n=17) |
| über den Kontrolltag | -7,91 (-35,5-46,5) (n=12) | -34,4 (-92,3-2329,4)- (n=10) | 16,4 (-65,7-85,3) (n=12) |
| p_{wilcoxon} | 0,68 | 0,88 | 0,88 |

$$(*) \frac{\text{Endwert} - \text{Ausgangswert}}{\text{Ausgangswert}} * 100$$

Tabelle 7: Ergebnisse der Zytokine im peripheren Blut

Abbildung 15: Individuelle Änderungen des TNF alpha am Komposttag

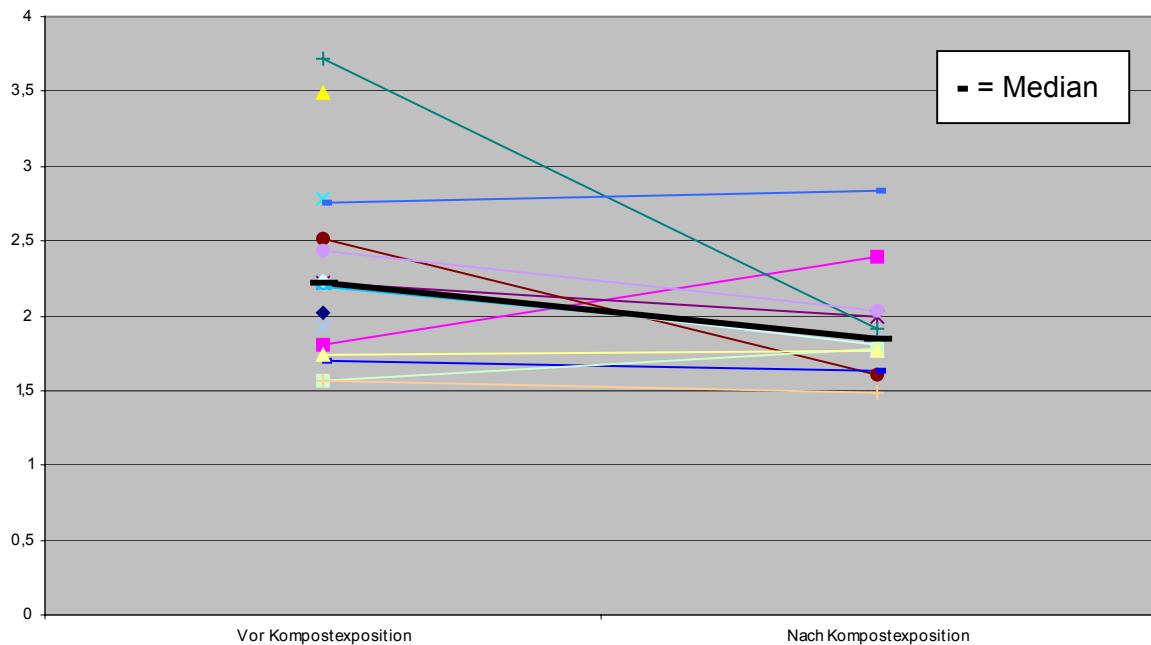


Abbildung 16: Individuelle Änderungen des TNF alpha am Kontrolltag

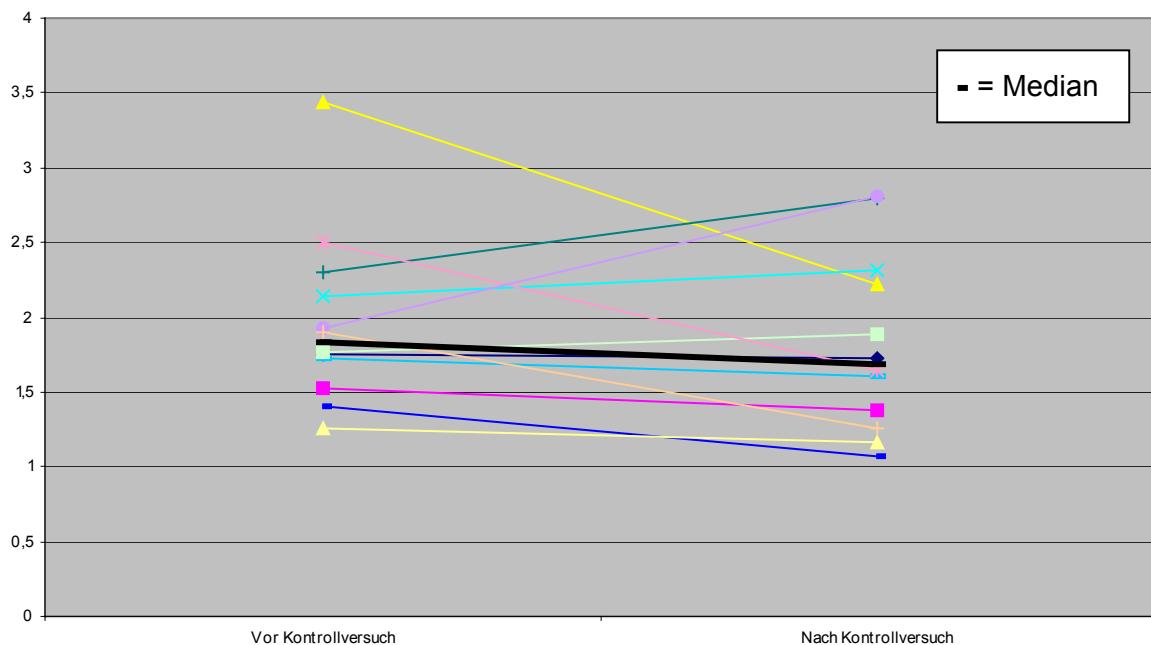


Abbildung 17: Individuelle Änderungen des IL-1 beta am Komposttag

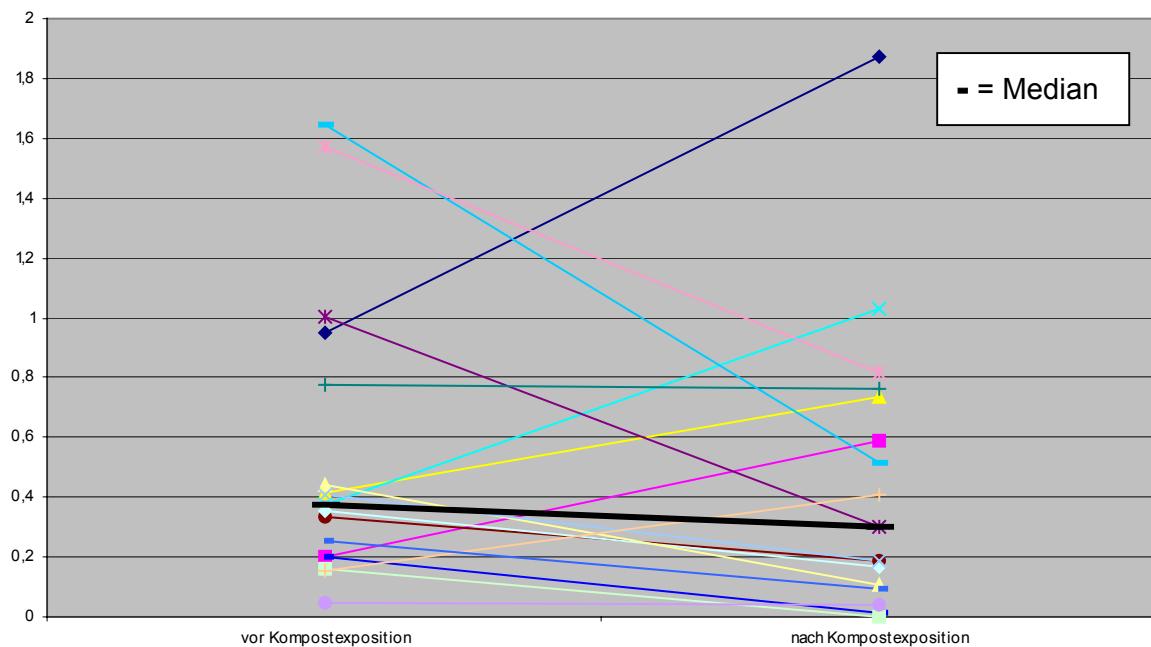


Abbildung 18: Individuelle Änderungen des IL-1 beta am Kontrolltag

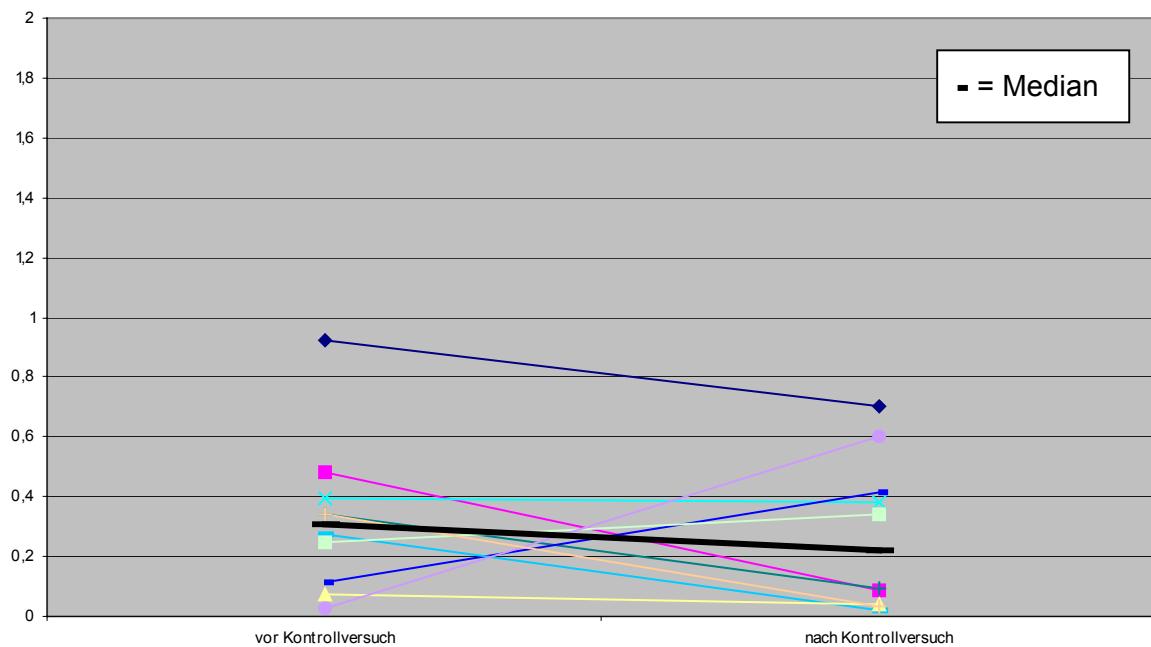


Abbildung 19: Individuelle Änderungen des IL-6 am Komposttag

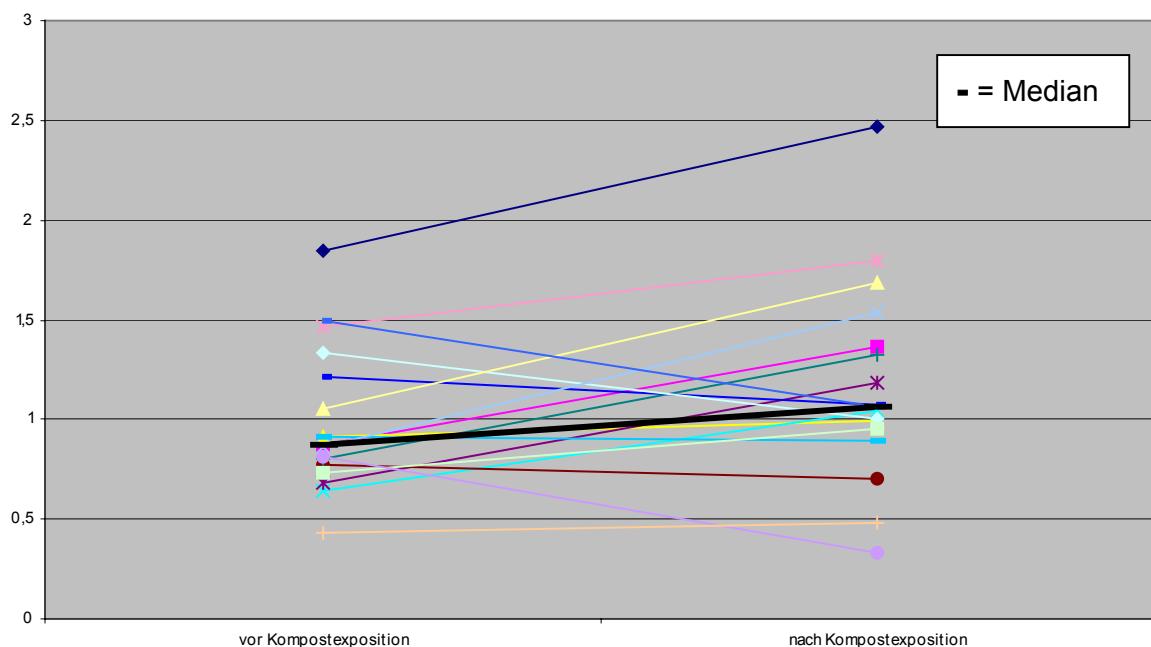
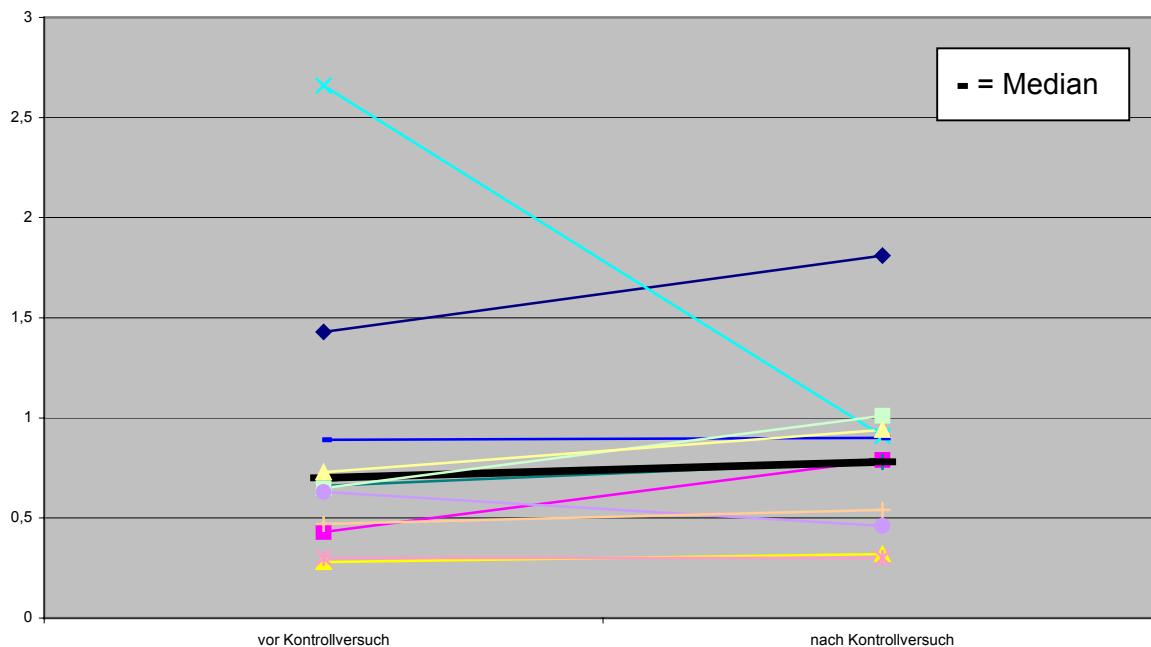


Abbildung 20: Individuelle Änderungen des IL-6 am Kontrolltag



Nasallavage

Die in der Nasallavage gewonnenen Zellen wurden auf einen Objekträger fixiert, gefärbt und lichtmikroskopisch differenziert. Dabei fanden sich hauptsächlich Epithelzellen sowie neutrophile Granulozyten. Die Zellzusammensetzung bei Voruntersuchung, nach Kompostexposition und nach Kontrollversuch zeigte keine signifikanten Unterschiede. Eine Übersicht der Zelldifferenzierung findet sich in Tabelle 8. Da die Nasallavage nur jeweils nach dem Expositions- bzw. Kontrollversuch durchgeführt wurde, um einen möglichen Auswascheffekt zu verhindern, und nicht wie die anderen Untersuchungen jeweils vor und nach den Versuchen, ist eine Darstellung der Änderungen über den Versuch nicht möglich.

| Median (Range) | Voruntersuchung | Kompostexposition | Kontrolluntersuchung |
|----------------------|-----------------|-------------------|----------------------|
| Epithelzellen | 69% (10-99%) | 44% (2-99%) | 52% (7-100%) |
| Leukozyten | 31% (1-90%) | 56 % (1-98%) | 48% (0-93%) |
| Neutrophile | 30% (1-84%) | 51% (1-96%) | 44% (0-90%) |
| Eosinophile | 1% (0-5%) | 2% (0-10%) | 2% (0-3%) |
| Monozyten | 1% (0-4%) | 0% (0-3%) | 1% (0-3%) |

Tabelle 8:Übersicht der Ergebnisse in der Zelldifferenzierung der Nasallavage

Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde die Wirkung von organischen Stäuben aus der Biomüllkompostierung auf die Atemwege sowie systemische Entzündungszeichen bei 17 Probanden untersucht.

Es fanden sich keine signifikanten Veränderungen in der Spirometrie, der Zellzusammensetzung der Nasallavage und auch die im Plasma der Probanden untersuchten Zytokine (TNF-alpha, IL-1 beta) zeigten keine signifikanten Änderungen. IL-6 stieg hingegen über die Kompostexposition deutlicher an als während der Kontrollexposition.

Im Differentialblutbild zeigte sich jedoch ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten, der an einem Expositionstag tendenziell stärker war als an einem Kontrolltag ohne Belastung mit organischem Staub.

Diskussion der Methoden

Untersuchungskollektiv

Die in dieser Studie untersuchten Probanden waren alle Studenten der Münchener Hochschulen. Es waren etwas mehr Frauen (10) als Männer (7) vertreten. In der Arbeitswelt dürfte die Verteilung stark zu Gunsten der Männer verschoben sein. So waren in einer Querschnittsuntersuchung an 241 Arbeitern in Kompostieranlagen nur 15 Frauen (6,2%) [66].

Diskussion des Fragebogens

Der Fragebogen wurde im persönlichen Interview mit den Probanden ausgefüllt. Dies stellt ein komplettes Ausfüllen der Bögen sicher und gibt die Möglichkeit, Unklarheiten bei der Beantwortung auszuräumen, beinhaltet jedoch die Gefahr der Beeinflussung durch den Interviewer. Da die verwendeten Fragen schriftlich gestellt, eindeutig formuliert waren und nur mit „ja“ oder „nein“ zu beantworten waren, ist diese Möglichkeit eingeschränkt.

Die im Fragebogen verwendeten Fragen sind Standardfragebögen entnommen, die in vielen Studien zu Atemwegssymptomen verwendet und validiert wurden [56].

Diskussion der Lungenfunktion

Abweichend von der Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin (DGAUM e.V.) [13] zur Durchführung der Spirometrie, wurde die Untersuchung im Stehen statt im Sitzen durchgeführt. Da die Messungen vor und nach Exposition- bzw. Kontrollversuch in gleicher Art und Weise durchgeführt wurden, sind diese Daten vergleichbar.

Da die Änderungen über den Komposttag mit dem Kontrollversuch verglichen wurden und an beiden Versuchstagen die Untersuchungen zur gleichen Tageszeit durchgeführt wurden, ist eine etwaige Änderung der Lungenfunktion durch zirkadiane Rhythmus nicht von Bedeutung [86]. Bei hoher Luftfeuchtigkeit an Tagen mit Kompostexposition kam es teilweise zu Kondensation von Feuchtigkeit aus der Atemluft der Probanden im Messkopf des portablen Spirometers, da aufgrund des fehlenden Stromanschlusses nur ein unbeheizter Pneumotachograph zur Verfügung stand. Somit war nicht bei allen Probanden eine Spirometrie nach Kompostexposition durchführbar.

Diskussion der Ergebnisse

Diskussion der Endotoxinwerte

Die von uns personenbezogen gemessenen Werte lagen zwischen 11,2 und 119,6 EU/m³ und somit in etwa in dem Bereich, der auch auf anderen Kompostieranlagen gemessen wurde. So wurden im Rahmen eines großen EU-Projekts zu den gesundheitlichen Auswirkungen einer beruflichen Exposition in der Müllindustrie auf Kompostbetrieben Endotoxinbelastungen von 0 bis 25,7 ng/m³ gefunden [64]. Diese Endotoxinkonzentrationen liegen allerdings deutlich - bis zu hundertfach - unter den Werten, die z.B. in Schneinställen zu messen sind [20, 58, 80, 88].

Der Schwellenwert der Endotoxinkonzentration, bei dem in verschiedenen Studien Symptome auftraten, variiert stark, die niedrigsten Konzentrationen, bei denen akute Änderungen der Lungenfunktion gefunden werden konnten, lagen bei etwa 50 EU/m³ [20, 90].

Zurzeit existieren noch keine gesetzlichen Grenzwerte für berufliche Belastung mit Endotoxinen. Das niederländische Expertenkomitee für berufsbezogene Normen

(DECOS) empfiehlt einen Grenzwert von 50 EU/m³ bei kontinuierlicher beruflicher Belastung mit Endotoxinen [22, 25], aber auch niedrigere Werte wurden angedacht.

Diskussion der Lungenfunktion

Bei der am Tag der Voruntersuchung durchgeführten Bodyplethysmographie fanden sich keine pathologischen Befunde. Probanden mit auffälligen Befunden in dieser Untersuchung hätten aufgrund der Ausschlusskriterien nicht in die Studie aufgenommen werden dürfen.

Am Expositions- sowie am Kontrolltag wurde vor und nach der Schicht eine Spirometrie mit einem portablen Spirometer durchgeführt. Es fanden sich weder signifikante Änderungen im Vergleich vor und nach den Versuchen, noch im Vergleich zwischen Expositions- und Kontrolltag. Angesichts der niedrigen Belastung mit Endotoxinen während der Kompostexposition ist eine signifikante Änderung bei gesunden, nicht-atopischen Probanden nach Angaben aus der Literatur auch nicht zu erwarten gewesen [65].

Diskussion der Befunde im Blutbild

Bei unseren Probanden fand sich ein Anstieg der neutrophilen Granulozyten am Komposttag, nicht jedoch am Kiestag. Dieser Anstieg war sowohl für die relative als auch für die absolute Anzahl an Granulozyten signifikant, unterschied sich jedoch nur tendenziell zwischen Kompost- und Kiestag. Da die Anzahl der neutrophilen Granulozyten am Kiestag nicht anstieg, kann man davon ausgehen, dass nicht die Anstrengung des Schaufelns oder eine zirkadiane Schwankung für die Veränderung verantwortlich ist, sondern dieser Anstieg vermutlich aus der Exposition gegenüber Kompoststäuben resultierte.

Thorn et al. fanden 1998 eine erhöhte Anzahl von Lymphozyten im Blutbild von Kompostarbeitern im Vergleich zu einer Kontrollgruppe [80]. Bei Probanden, die ohne Staubschutzmaske in einem Schweinstall gegenüber organischen Stäuben exponiert wurden, fand sich eine erhöhte Zahl an Lymphozyten sowie ein erhöhter Anteil an neutrophilen Granulozyten im Blutbild im Vergleich zu Probanden ohne Schutzmaske [17]. Ähnliche Veränderungen zeigten sich bei Probanden im Schweinestall im Vergleich mit Probanden, bei denen der Staub durch Rapsöl gebunden wurde [67].

Somit stehen unsere Befunde im Einklang mit den Befunden aus der Literatur und lassen vermuten, dass eine geringe Belastung mit organischen Stäuben zu einem

Anstieg der neutrophilen Granulozyten im Blutbild führen kann. Änderungen der weiteren Zellen des peripheren Blutes können in der Literatur nicht bestätigt werden und sind möglicherweise auf die Verschiebung der relativen Anteile oder auf die geringe Anzahl der Probanden, die an beiden Versuchstagen teilgenommen haben, zurückzuführen.

Diskussion der Zytokinbefunde im Plasma

Im Blutplasma der Probanden wurden die Zytokine TNF alpha, IL-1 beta und IL-6 untersucht. Für TNF-alpha sowie IL-1 konnte am Expositionstag ein Abfall, für IL-6 ein Anstieg gezeigt werden. Der Anstieg von IL-6 war am Komposttag deutlicher als am Kontrolltag, jedoch nicht signifikant. Es ist jedoch möglich, dass dieser Anstieg auf einen Einzelbefund (Proband 13 nach Kompostexposition) zurückzuführen ist. Die Bestimmung dieses Wertes wurde noch einmal wiederholt und konnte bestätigt werden. Die übrigen Befunde unterschieden sich nicht signifikant von den Änderungen über den Kontrolltag. Es kann also nicht angenommen werden, dass diese Änderungen durch den Kompoststaub ausgelöst wurden. Möglicherweise sind die Änderungen auf die zirkadiane Rhythmik der untersuchten Parameter oder auf die Anstrengung des Kompostumgrabens zurückzuführen.

Studien zu Zytokinspiegeln nach intensiver Anstrengung (z.B. Joggen) haben jedoch gezeigt, dass körperliche Arbeit eher zu einem Anstieg der von uns untersuchten Zytokine führen müsste [5, 8, 24, 48, 49, 52, 69, 87].

Betrachtet man nun Untersuchungen zur zirkadianen Rhythmik für TNF alpha, IL-1 beta und IL-6 so zeigt sich, dass die Zytokine einer zirkadianen Rhythmik unterliegen, die mit dem Cortisonspiegel assoziiert ist, wobei TNF alpha die größte Empfindlichkeit auf Schwankungen des Cortisonspiegels zeigt, gefolgt von IL-1 beta. IL-6 unterliegt nur einer geringen Schwankung bei physiologisch vorkommenden Cortisonspiegeln. Die höchsten Werte für TNF alpha, IL-1 und IL-6 fanden sich früh morgens und während der Nacht [2, 12, 33, 53, 77]. Somit sind die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wohl am ehesten auf die zirkadiane Rhythmik zurückzuführen.

In Studien zu Belastung mit organischen Stäuben konnten bei den Probanden vielfach erhöhte Werte für Zytokine nachgewiesen werden. Wang et al. fanden bei gesunden Probanden, die sich für drei Stunden in einem Schweinestall aufhielten, einen Anstieg von TNF alpha und Interleukin 6 [82]. In einer Untersuchung zur Staubvermeidung in Schweineställen zeigte sich bei den Probanden ein leichter

Anstieg von IL-6 [67]. In einer anderen Studie stieg der Spiegel von IL-6 und IL-8 nach Exposition in Schweineställen an [11]. Bei experimenteller intranasaler Provokation mit organischem Staub stiegen TNF alpha, IL-1 beta, IL-6 und IL-8 im Blut der Probanden an [72]. In einer Studie zu den Effekten von Atemschutzmasken bei Aufenthalt im Schweinestall zeigte sich bei den ungeschützten Probanden ein höheres IL-6 im Blut nach Staubexposition [17]. Bei Probanden, die sich während der Reinigung in einem Schweinestall befanden, war IL-6 durch die Exposition leicht angestiegen.

Bei der vorliegenden Studie war die Exposition gegenüber Endotoxinen im Vergleich zu den bisherigen Publikationen niedriger. Es konnten vermutlich deshalb keine signifikanten Änderungen im Vergleich von Kompost- mit Kontrollversuch gefunden werden. Als Erklärung für die Änderungen der Zytokinspiegel während eines Versuchstages ist eine Überlagerung durch zirkadiane Rhythmik denkbar.

Diskussion der Nasallavage

In der Nasallavage fanden sich zum größten Teil Epithelzellen und neutrophile Granulozyten. Die Nasallavage wurde bei der Voruntersuchung, nach Kompostexposition sowie nach Kontrollversuch durchgeführt. Es fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der Zusammensetzung der Zellen zu den verschiedenen Zeitpunkten. Die Zellverteilung entspricht in etwa der gesunder Probanden ohne Entzündungszeichen oder Allergien [36].

Bei Belastung mit organischen Stäuben aus Schweineställen stieg die Zellzahl in der Nasallavage-Flüssigkeit an und es kam zu einem Anstieg der neutrophilen Granulozyten in der NL [11, 17, 37].

Auch experimentelle intranasale Provokation mit organischem Staub führte zu einem Anstieg der Zellzahl in der NL [72].

Bei Kompostarbeitern fanden Douwes et al. nach Staubexposition eine erhöhte Zahl von Zellen in der NL, wobei auch der Anteil der neutrophilen Granulozyten anstieg [18, 19, 21].

Da die Endotoxinbelastung in unserer Untersuchung vergleichsweise gering ausgefallen ist, war dies möglicherweise nicht ausreichend, um Veränderungen in der Zellzahl zu bewirken. Hier könnte es hilfreich sein, mit sensibleren Methoden, wie

z.B. der Bestimmung von Zytokinen in der Nasallavage noch sensitiver eine akute Entzündungsreaktion nachweisen zu können.

Weiterhin ist zu beachten, dass nur eine geringe Anzahl von Probanden untersucht wurde. Eine Wiederholung der Untersuchung mit einem größeren Kollektiv könnte hier hilfreich sein.

Ausblick

Die vorliegende Studie zeigte bei einem kleinen Kollektiv gesunder, nicht beruflich mit organischen Stäuben belasteten Probanden eine akute entzündliche Veränderung im Blutbild. Die durchgeführte spirometrische Untersuchung, ebenso wie die von uns untersuchten Zytokine im Blut (TNF-alpha, IL-1 beta sowie IL-6) und die Differenzierung der in der Nasallavage gewonnenen Zellen erbrachten keine signifikanten Änderungen im Vergleich zu einem Kontrollversuch.

Da bereits eine einmalige Exposition gegenüber geringen Mengen von organischen Stäuben eine Veränderung im Blutbild bewirken konnte, ist es denkbar, dass auch die Zytokine, die die Entzündungsreaktion im Blut vermitteln, ansteigen. Um dies nachzuweisen, wäre es interessant, die Untersuchung an einem größeren Kollektiv zu wiederholen. Weiterhin wäre es von großem Interesse, die gleichen Parameter einer Entzündungsreaktion bei repetitiver Belastung zu bestimmen. Hieraus könnten Erfahrungen im Hinblick auf die Folgen täglicher Belastung sowie chronischer Veränderungen gewonnen werden, die bislang noch fehlen. Darüber hinaus könnten auf diese Weise Adaptationsmechanismen untersucht werden.

Zusammenfassung

In dem noch recht neuen Berufsfeld der Biomüllsammlung und -verarbeitung kommt es vielfach zu einer Exposition gegenüber organischen Stäuben.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine Entzündungsreaktion der oberen Atemwege und eine etwaige systemische Entzündungsreaktion nach einmaliger Exposition gesunder nicht anderweitig mit organischen Stäuben belasteter Probanden auf einer Biomüllkompostieranlage zu untersuchen.

Das Kollektiv bestand aus 17 freiwilligen, gesunden, nichtrauchenden Probanden (10 Frauen, 7 Männer) ohne allergische Vorerkrankungen im Alter von 20 bis 35 Jahren. Es wurden eine zweistündige Kompoststaubexposition sowie ein zweistündiger Kontrollversuch ohne Biostaubexposition durchgeführt. Am Expositionstag gruben die Probanden auf einer Kompostieranlage während zwei Stunden Kompost mit einer Schaufel um, am Kontrolltag wurde statt Kompost nicht staubender Rollsplitt auf dem Gelände der Universitätsklinik umgeschaufelt. Der Endotoxingehalt der Atemluft während der Kompostexposition wurde zur Abschätzung der Belastung der Probanden mit personenbezogenen Staubsammlern bestimmt.

Jeweils vor sowie drei Stunden nach den Versuchen wurden periphere Blutproben entnommen. Aus diesen Proben wurden das Differentialblutbild sowie potenziell relevante Zytokine (TNF-alpha, IL-1 und IL-6) bestimmt. Ebenfalls drei Stunden nach den Versuchen wurde eine Nasallavage von den Probanden gewonnen, die darin enthaltenen Zellen wurden lichtmikroskopisch differenziert.

Die Endotoxinkonzentrationen an den Expositionstagen lagen zwischen 11,2 und 119,6 EU/m³. Bei Betrachtung des Differentialblutbildes fand sich am Expositionstag ein tendenziell stärkerer Anstieg des prozentualen Anteils der Neutrophilen als am Kontrolltag: (Median (Range)) +13,8% (-1,7% - +66,7%) vs. +4,6% (-21,9% - 34,9%); p = 0,12. Zusätzlich fand sich an Tagen mit Kompostexposition ein tendenziell stärkerer Abfall des Anteils der Lymphozyten (-14,3% (-36,3% - +7,1%) vs. -0,7% (-38,7% - +59,2%); p = 0,12) und der Eosinophilen (-46,7% (-57,1% - +0,0%) vs. -8,0% (-56,3% - + 71,4%), p = 0,09) als an den Tagen des Kontrollversuchs. Sowohl die Auswertung der im peripheren Blut untersuchten Zytokine als auch die

Differenzierung der Zellen aus der Nasallavage zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Komposttag und Kontrolltag.

Unsere Ergebnisse deuten auf eine Tendenz zur Neutrophilie im Differentialblutbild von gesunden Probanden nach einmaliger Exposition gegenüber Stäuben aus der Kompostverarbeitung hin. Diese Befunde im peripheren Blut decken sich mit Befunden, die in Studien zur Inhalation von organischen Stäuben in verschiedenen Beschäftigungszweigen erhoben wurden.

Anhang

1. Fragebogen
2. Einverständniserklärung zur Studienteilnahme
3. Informationsblatt für Probanden
4. Danksagung
5. Lebenslauf

Fragebogen**Exposition gegenüber organischen Stäuben: Kompostieranlagen**Probandennummer: **Teil I: Kontrolltag**

| | | |
|--|-------------------------------------|-----------------------------|
| Haben Sie schon einmal ein Jahr lang geraucht? („JA“ bedeutet mindestens 20 Päckchen Zigaretten oder 360 Gramm Tabak in Ihrem Leben oder ein Jahr lang mindestens eine Zigarette pro Tag oder eine Zigarre pro Woche) | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Wenn „JA“: | | |
| Rauchen Sie jetzt (bzw. bis vor einem Monat) | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Wenn „JA“: | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| Wie viele Zigaretten pro Tag rauchen Sie durchschnittlich? | <input type="checkbox"/> Zigaretten | |
| Haben Sie jemals in den letzten <u>12 Monaten</u> ein pfeifendes oder brummendes Geräusch in Ihrem Brustkorb gehört? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Sind Sie irgendwann in den letzten <u>12 Monaten</u> durch einen Anfall von Atemnot aufgewacht? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Haben Sie in den letzten <u>12 Monaten</u> einen Asthmaanfall gehabt? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Haben Sie allergischen Schnupfen, z.B. „Heuschnupfen“? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Haben Sie normalerweise im Winter Auswurf, tagsüber oder nachts? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Haben Sie diesen Auswurf an den meisten Tagen für mindestens 3 Monate jährlich? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |
| Sind Sie in Ihrer Freizeit gegenüber organischen Stäuben exponiert? | NEIN <input type="checkbox"/> | JA <input type="checkbox"/> |

Probandennummer: 0000

Teil II: Nach der Kompostexposition

Sind bei Ihnen während der Exposition Atemwegsbeschwerden NEIN JA aufgetreten?

Wenn „JA“, welche:

Husten? NEIN JA

Niesreiz? NEIN JA

Laufende Nase? NEIN JA

Reizung der Nase? NEIN JA

Pfeifende oder brummende Atemgeräusche? NEIN JA

Atemnot? NEIN JA

Engegefühl in der Brust? NEIN JA

Hatten Sie zwei bis sechs Stunden nach der Staubexposition einen plötzlichen Anflug einer grippeähnlichen Erkrankung mit zwei oder mehr der folgenden Symptome: Fieber, Frösteln, Muskelschmerzen, Schwäche, Kopfschmerzen, Husten, Engegefühl in der Brust oder Kurzluftigkeit?

NEIN JA

Teil III: Nach dem Kontrollversuch

Sind bei Ihnen während der Exposition Atemwegsbeschwerden NEIN JA aufgetreten?

Wenn „JA“, welche:

Husten? NEIN JA

Niesreiz? NEIN JA

Laufende Nase? NEIN JA

Reizung der Nase? NEIN JA

Pfeifende oder brummende Atemgeräusche? NEIN JA

Atemnot? NEIN JA

Engegefühl in der Brust? NEIN JA

Hatten Sie zwei bis sechs Stunden nach der Staubexposition einen plötzlichen Anflug einer grippeähnlichen Erkrankung mit zwei oder mehr der folgenden Symptome: Fieber, Frösteln, Muskelschmerzen, Schwäche, Kopfschmerzen, Husten, Engegefühl in der Brust oder Kurzluftigkeit?

NEIN JA



Einverständniserklärung zur Studienteilnahme

Klinikum der Universität München

Institut und Poliklinik für Arbeits- und

Umweltmedizin – Innenstadt

Direktor: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

Telefon: 089/5160-2301

Ludwig
Maximilians
Universität
München

LMU

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie

„Nasallavage- und Blutplasmagewinnung bei gesunden Probanden zur Bestimmung von Entzündungsparametern vor und nach Exposition gegenüber organischen Stäuben aus der Biomüllverarbeitung“

Studienleiter: Prof. Dr. med. D. Nowak
Dipl.-Ing. K. Radon

Ich erkläre mich zu folgenden Untersuchungen im Rahmen der oben genannten Studie einverstanden:

- Venöse Blutentnahme zur Bestimmung entzündlicher Parameter
- Prick-Test zum Ausschluß der Sensibilisierung gegen Aeroallergene*
- Gewinnung einer Nasallavage
- Lungenfunktionsuntersuchungen (Atemwiederstand, Atemstoßtest)
- Fragebogen zu Atemwegs- und Entzündungssymptomen
-

Hiermit bestätige ich, dass ich ausführlich mündlich über die geplanten Untersuchungsabläufe unterrichtet wurde und anhand des beigefügten Informationsblattes aufgeklärt wurde. Mir ist bekannt, dass ich auf eigenen Wunsch das Untersuchungsprogramm abbrechen kann, ohne dass mir daraus Nachteile entstehen. Eine Kopie der Einverständniserklärung habe ich erhalten. Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig.

Zur Aufwandsentschädigung bekomme ich DM 170,-

München, den _____

Unterschrift des Teilnehmers

*siehe Informationsblatt

Klinikum der Universität München

Institut und Poliklinik für Arbeits- und

Umweltmedizin – Innenstadt

Direktor: Prof. Dr. med. Dennis Nowak

Telefon: 089/5160-2301

Ludwig
Maximilians
Universität
München

LMU

Name:

Vorname:

Geburtsdatum:

Informationsblatt zur Teilnahme an der Studie

„Nasallavage- und Blutplasmagewinnung bei gesunden Probanden zur Bestimmung von Entzündungsparametern vor und nach Exposition gegenüber organischen Stäuben aus der Biomüllverarbeitung“

In unserem Projekt möchten wir untersuchen, ob Personen, die in der Biomüllverarbeitung beschäftigt sind, durch den Umgang mit Biomüll und das tägliche einatmen von organischen Stäuben aus Biomüll bzw. Kompost entzündliche Veränderungen an den Atemwegen entwickeln. Hierzu führen wir eine wissenschaftliche Studie an gesunden, freiwilligen Frauen und Männern durch, die sich einer zweistündigen Exposition gegenüber organischen Stäuben aus einer Kompostieranlage unterziehen. Die Exposition erfolgt durch Umgraben von Kompost durch die Teilnehmer auf der Kompostieranlage Zorneding.

Zur Untersuchung der möglicherweise entstehenden Veränderungen entzündlicher Faktoren an den Atemwegen und im Blutkreislauf ist es notwendig, Zellen und Nasallavage einmal vor und einmal nach Exposition gegenüber organischen Stäuben aus einer Kompostieranlage zu untersuchen. Als Verfahren werden seit langem bewährte Techniken verwendet, die im Folgenden näher erklärt werden sollen.

Vor Aufnahme in die Studie wird bei jedem Probanden ein Prick-Allergietest auf Aeroallergene (Baumpollen, Getreidepollen, Gräserpollen und Katzenhaare) durchgeführt. Hierzu werden kleine Mengen eines bekannten Allergens in die oberste Hautschicht eingebracht. Bei einer Sensibilisierung gegen das Allergen kann es zu Hautrötungen, Juckreiz und Schwellungen an der Auftragstelle kommen. Der Prick-Test dient dazu, allergische Entzündungsreaktionen im Blut und an den Atemwegen auszuschließen.

Vor Aufnahme in die Studie, vor und nach Exposition gegenüber organischen Stäuben in der Kompostieranlage sowie vor und nach den Kontrollversuch wird bei jedem Probanden eine Lungenfunktionsuntersuchung durchgeführt. Komplikationen sind hier nicht bekannt.

Vor Aufnahme in die Studie und ca. drei Stunden nach Exposition/Kontrollversuch gegenüber organischen Stäuben in der Kompostieranlage wird zur Gewinnung von Nasallavage einmal in jedes Nasenloch ca. 5 ml physiologische Kochsalzlösung eingeführt. Nach einer Verweildauer von ca. 5 Sekunden erfolgt eine Überführung in ein Becherglas.

Bei jedem Probanden ist eine Entnahme von ca. 10 ml Blut vor Aufnahme in die Studie, vor und ca. drei Stunden nach Exposition gegenüber organischen Stäuben in der Kompostieranlage/Kontrollversuch geplant. Bei der Blutentnahme handelt es sich um ein alltägliches Routineverfahren, das in der Regel ohne jegliche Komplikation verläuft.

Jeder Teilnehmer der Studie ist bei der GERLING Industrie-Service-GmbH Süd, Prinzregentenstraße 11, 80538 München, Tel.: 089/21 07-354 mit einer Deckungssumme von max. DM 1.000.000,00 je Proband versichert. Die genauen Versicherungsbedingungen sind dem Informationsblatt beigefügt.

Hiermit bestätige ich, die oben aufgeführten Informationen gelesen und weiterführende Fragen mit dem für die Studie Verantwortlichen besprochen zu haben. Mir wird zugesichert, dass keine individualisierten Daten weitergegeben werden. Alle Daten werden vertraulich behandelt und nur zu Studienzwecken verwendet. Ich weiß, dass ich jederzeit Einblick in meine Unterlagen haben kann. Ich willige ein, dass gegebenenfalls zu Studiensicherheitszwecken meine Unterlagen an Studienmonitore weitergegeben werden.

München, den

Unterschrift Proband

Unterschrift Studienleiter



Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Novak für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, Frau PD Dr. Radon danke ich für ihre vorbildhafte Betreuung der Arbeit, Anleitung zum wissenschaftlichen Arbeiten, die Hilfe bei der Planung und Durchführung der Versuche und auch für Ihre Teilnahme als Proband an der Arbeit. Ohne sie wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Dr. Hessel danke ich für die exzellente Einarbeitung in die Labormethoden. Frau Dr. Scharrer danke ich für die Anleitung zur Durchführung der Lungenfunktion. Ich danke ihr und Dr. Bäuerle für die körperliche Untersuchung der Studienteilnehmer. Dr. Schirl danke ich für die Vermittlung der Kompostieranlage. Ihm und seinen Mitarbeitern danke ich für die Bestimmung der Endotoxinwerte in der Luft an der Kompostieranlage. Frau de la Motte danke ich für die Durchführung der Bodyspletysmographie bei der Voruntersuchung der Probanden. Frau Seuß und insbesondere Frau Kronseder danke ich für die Unterstützung bei den ELISAs. Ich möchte mich ebenfalls bei allen Mitarbeitern des Instituts für Arbeits- und Umweltmedizin bedanken, die mich mit offenen Armen empfangen haben und mich bei der Durchführung der Studie unterstützt haben wo sie nur konnten.

Literaturverzeichnis

1. Allermann, L. and O.M. Poulsen, *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): p. 259-69.
2. Arvidson, N.G., et al., *Circadian rhythm of serum interleukin-6 in rheumatoid arthritis*. Ann Rheum Dis, 1994. **53**(8): p. 521-4.
3. Bayerisches Landesamt für Umweltschutz, *Abfallbilanz Bayern 2000*.
4. Bossow, B., *Keimemissionen bei der Weiterverarbeitung aussortierter Wertstoffe*. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, ed. B.f.A.u. Arbeitsmedizin. Fb 793. 1998, Dortmund/Berlin: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. 52.
5. Brenner, I.K., et al., *Impact of three different types of exercise on components of the inflammatory response*. Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 1999. **80**(5): p. 452-60.
6. Bünger, J., et al., *Health complaints and immunological markers of exposure to bioaerosols among biowaste collectors and compost workers*. Occup Environ Med, 2000. **57**(7): p. 458-64.
7. Bünger, J., et al., *Erfassung von Exposition und Gesundheitsrisiken durch luftgetragene biologische Arbeitsstoffe in der Abfallwirtschaft*. Zentralblatt für Arbeitsmedizin, 1999. **49**(6/99): p. 182-190.
8. Bury, T.B., et al., *Blood mononuclear cells mobilization and cytokines secretion during prolonged exercises*. Int J Sports Med, 1996. **17**(2): p. 156-60.
9. Clark, C.S., R. Rylander, and L. Larsson, *Levels of gram-negative bacteria, Aspergillus fumigatus, dust, and endotoxin at compost plants*. Appl Environ Microbiol, 1983. **45**(5): p. 1501-5.
10. Cormier, Y., et al., *Effects of repeated swine building exposures on normal naive subjects*. Eur Respir J, 1997. **10**(7): p. 1516-22.
11. Cormier, Y., et al., *Effect of route of breathing on response to exposure in a swine confinement building*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. **157**(5 Pt 1): p. 1512-21.
12. DeRijk, R., et al., *Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) production in humans: high sensitivity of TNF alpha and resistance of IL-6*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(7): p. 2182-91.
13. Deutsche Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V., *Lungenfunktionsprüfungen in der Arbeitsmedizin*. 2000.
14. Dinarello, C.A., *The biology of interleukin-1*. Chem Immunol, 1992. **51**: p. 1-32.
15. Dinarello, C.A., *Interleukin-1 beta, interleukin-18, and the interleukin-1 beta converting enzyme*. Ann N Y Acad Sci, 1998. **856**: p. 1-11.
16. doPico, G.A., *Health effects of organic dusts in the farm environment. Report on diseases*. Am J Ind Med, 1986. **10**(3): p. 261-5.
17. Dosman, J.A., et al., *Positive human health effects of wearing a respirator in a swine barn*. Chest, 2000. **118**(3): p. 852-60.

18. Douwes, J., *Respiratory health effects of indoor microbial exposure; a contribution to the development of exposure assessment methods*. 1998, Utrecht: Ontwerp van Alces.
19. Douwes, J., et al., *Work related acute and (sub-)chronic airways inflammation assessed by nasal lavage in compost workers*. Ann Agric Environ Med, 1997(4): p. 149-151.
20. Douwes, J., N. Pearce, and D. Heederik, *Does environmental endotoxin exposure prevent asthma?* Thorax, 2002. **57**(1): p. 86-90.
21. Douwes, J., et al., *Upper airway inflammation assessed by nasal lavage in compost workers: A relation with bio-aerosol exposure*. Am J Ind Med, 2000. **37**(5): p. 459-68.
22. Dutch Expert Committee on Occupational Standards (DECOS), *Endotoxins: health based recommended exposure limit. A report of the Health Council of the Netherlands. Publication no 1998/03WGD*. 1998, Rijswijk: Health Council of the Netherlands.
23. Fuhlbrigge, R.C., et al., *Molecular biology and genetics of interleukin-1*. Year Immunol, 1989. **5**: p. 21-37.
24. Gabriel, H. and W. Kindermann, *The acute immune response to exercise: what does it mean?* Int J Sports Med, 1997. **18 Suppl 1**: p. S28-45.
25. Heederik, D. and J. Douwes, *Towards an occupational exposure limit for endotoxins?* Ann Agric Environ Med, 1997(4): p. 17-19.
26. Heldal, K.K., et al., *Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols*. Occup Environ Med, 2003. **60**(6): p. 444-50.
27. Heldal, K.K., et al., *Airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols assessed by induced sputum*. Eur Respir J, 2003. **21**(4): p. 641-5.
28. Herr, C., et al., *Wirkung von mikrobiellen Aerosolen auf den Menschen*. Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg, 1999. **104**: p. 403-81.
29. Hirano, T., *The biology of interleukin-6*. Chem Immunol, 1992. **51**: p. 153-80.
30. Hirano, T. and T. Kishimoto, *Molecular biology and immunology of interleukin-6*. Res Immunol, 1992. **143**(7): p. 723-4.
31. Holt, P.G., *Inflammation in organic dust-induced lung disease: new approaches for research into underlying mechanisms*. Am J Ind Med, 1990. **17**(1): p. 47-54.
32. Ibelgaufits, H., C O P E - *Cytokines Online Pathfinder Encyclopaedia*. 2002, LMU München.
33. Kanabrocki, E.L., et al., *Circadian interrelationships among levels of plasma fibrinogen, blood platelets, and serum interleukin-6*. Clin Appl Thromb Hemost, 1999. **5**(1): p. 37-42.
34. Keller, E.T., J. Wanagat, and W.B. Ershler, *Molecular and cellular biology of interleukin-6 and its receptor*. Front Biosci, 1996. **1**: p. d340-57.
35. Kishimoto, T., *The biology of interleukin-6*. Blood, 1989. **74**(1): p. 1-10.
36. Koren, H.S., G.E. Hatch, and D.E. Graham, *Nasal lavage as a tool in assessing acute inflammation in response to inhaled pollutants*. Toxicology, 1990. **60**(1-2): p. 15-25.
37. Larsson, B.M., et al., *Airways inflammation after exposure in a swine confinement building during cleaning procedure*. Am J Ind Med, 2002. **41**(4): p. 250-8.
38. Larsson, B.M., et al., *Effect of exposure to swine dust on levels of IL-8 in airway lavage fluid*. Thorax, 1997. **52**(7): p. 638-42.

39. Larsson, K., et al., *Alterations in bronchoalveolar lavage fluid but not in lung function and bronchial responsiveness in swine confinement workers*. Chest, 1992. **101**(3): p. 767-74.
40. Larsson, K.A., et al., *Swine dust causes intense airways inflammation in healthy subjects*. Am J Respir Crit Care Med, 1994. **150**(4): p. 973-7.
41. Locksley, R.M., N. Killeen, and M.J. Lenardo, *The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology*. Cell, 2001. **104**(4): p. 487-501.
42. Malmberg, P., et al., *Incidence of organic dust toxic syndrome and allergic alveolitis in Swedish farmers*. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1988. **87**(1): p. 47-54.
43. Malmberg, P., et al., *Can spores from molds and actinomycetes cause an organic dust toxic syndrome reaction?* Am J Ind Med, 1990. **17**(1): p. 109-10.
44. Mandryk, J., K.U. Alwis, and A.D. Hocking, *Work-related symptoms and dose-response relationships for personal exposures and pulmonary function among woodworkers*. Am J Ind Med, 1999. **35**(5): p. 481-90.
45. McDermott, M.F., *TNF and TNFR biology in health and disease*. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2001. **47**(4): p. 619-35.
46. Michel, O., et al., *Blood inflammatory response to inhaled endotoxin in normal subjects*. Clin Exp Allergy, 1995. **25**(1): p. 73-9.
47. Müller-Suur, C., K. Larsson, and J. Grunewald, *Organic dust-induced interleukin-12 production activates T- and natural killer cells*. Eur Respir J, 2002. **20**(3): p. 686-90.
48. Northoff, H., C. Weinstock, and A. Berg, *The cytokine response to strenuous exercise*. Int J Sports Med, 1994. **15 Suppl 3**: p. S167-71.
49. Ostrowski, K., et al., *Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans*. J Physiol, 1999. **515 (Pt 1)**: p. 287-91.
50. Ostrowski, R., G. Fischer, and W. Dott. *Mikrobielle Belastung in Kompostieranlagen*. in *Kongress der Gesellschaft für Hygiene und Umweltmedizin*. 1996. Graz, Wien, Österreich.
51. Pedersen, B., et al., *Pig farmers have signs of bronchial inflammation and increased numbers of lymphocytes and neutrophils in BAL fluid*. Eur Respir J, 1996. **9**(3): p. 524-30.
52. Pedersen, B.K., et al., *The cytokine response to strenuous exercise*. Can J Physiol Pharmacol, 1998. **76**(5): p. 505-11.
53. Petrovsky, N. and L.C. Harrison, *The chronobiology of human cytokine production*. Int Rev Immunol, 1998. **16**(5-6): p. 635-49.
54. Platanias, L.C. and N.J. Vogelzang, *Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects*. Am J Med, 1990. **89**(5): p. 621-9.
55. Quanjer, P.H., et al., *Lung volumes and forced ventilatory flows. Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society*. Eur Respir J Suppl, 1993. **16**: p. 5-40.
56. Radon, K., et al., *Respiratory symptoms in European animal farmers*. Eur Respir J, 2001. **17**(4): p. 747-754.
57. Radon, K., et al., *Lung function and work-related exposure in pig farmers with respiratory symptoms*. J Occup Environ Med, 2000. **42**(8): p. 814-20.
58. Radon, K., et al., *Prevalence and Risk Factors for Airway Diseases in Farmers - Summary of Results of the European Farmer's Project*. Ann Agric Environ Med, 2002. **9**(1): p. 207-213.
59. Richerson, H.B., *Unifying concepts underlying the effects of organic dust exposures*. Am J Ind Med, 1990. **17**(1): p. 139-42.

-
60. Roepstorff, V. and T. Sigsgaard, *Cytotoxic effect of organic dust extracts from different working environments: an in vitro essay*. Ann Agric Environ Med, 1997. **4**: p. 195-201.
61. Roepstorff, V. and T. Sigsgaard, *The cytotoxic potential of household waste during composting*. Waste Management & Research, 1997. **15**(2): p. 189-196.
62. Rylander, R., *Lung diseases caused by organic dusts in the farm environment*. Am J Ind Med, 1986. **10**(3): p. 221-7.
63. Rylander, R., *Diseases associated with exposure to plant dusts: focus on cotton dust*. Tuber Lung Dis, 1992. **73**(1): p. 21-6.
64. Rylander, R., *An EU research project on waste handling*. Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg, 1999. **104**: p. 117-26.
65. Rylander, R. and e. al., *Endotoxins in the environment: A criteria document*. Int. J. Occup. Envirn. Health, 1997(3): p. S1-48.
66. Schappler-Scheele, B., et al., *Untersuchung der gesundheitlichen Gefährdung von Arbeitnehmern der Abfallwirtschaft in Kompostieranlagen*. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. Vol. Fb 844. 1999, Dortmund/Berlin: Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin. 358.
67. Senthilselvan, A., et al., *Positive human health effects of dust suppression with canola oil in swine barns*. Am J Respir Crit Care Med, 1997. **156**(2 Pt 1): p. 410-7.
68. Shahan, T.A., et al., *Concentration- and time-dependent upregulation and release of the cytokines MIP-2, KC, TNF, and MIP-1alpha in rat alveolar macrophages by fungal spores implicated in airway inflammation*. Am J Respir Cell Mol Biol, 1998. **18**(3): p. 435-40.
69. Shek, P.N. and R.J. Shephard, *Physical exercise as a human model of limited inflammatory response*. Can J Physiol Pharmacol, 1998. **76**(5): p. 589-97.
70. Sigsgaard, T., *Health hazards to waste management workers in Denmark*. Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg, 1999. **104**: p. 563-8.
71. Sigsgaard, T., et al., *Lung function changes among recycling workers exposed to organic dust*. Am J Ind Med, 1994. **25**(1): p. 69-72.
72. Sigsgaard, T., et al., *Cytokine release from the nasal mucosa and whole blood after experimental exposures to organic dusts*. Eur Respir J, 2000. **16**(1): p. 140-5.
73. Sigsgaard, T., et al., *Respiratory disorders and atopy in Danish refuse workers*. Am J Respir Crit Care Med, 1994. **149**(6): p. 1407-12.
74. Simpson, J.C., et al., *Prevalence and predictors of work related respiratory symptoms in workers exposed to organic dusts*. Occup Environ Med, 1998. **55**(10): p. 668-72.
75. Sipe, J.D., *The molecular biology of interleukin 1 and the acute phase response*. Adv Intern Med, 1989. **34**: p. 1-20.
76. Society, A.T., *Respiratory health hazards in agriculture*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. **158**(5 Pt 2): p. S1-S76.
77. Sothern, R.B., et al., *Circadian characteristics of interleukin-6 in blood and urine of clinically healthy men*. In Vivo, 1995. **9**(4): p. 331-9.
78. Strieter, R.M., S.L. Kunkel, and R.C. Bone, *Role of tumor necrosis factor-alpha in disease states and inflammation*. Crit Care Med, 1993. **21**(10 Suppl): p. S447-63.
79. Thorn, J., *The inflammatory response in humans after inhalation of bacterial endotoxin: a review*. Inflamm Res, 2001. **50**(5): p. 254-61.

80. Thorn, J., L. Beijer, and R. Rylander, *Airways inflammation and glucan exposure among household waste collectors*. Am J Ind Med, 1998. **33**(5): p. 463-70.
81. Vogelzang, P.F., et al., *Organic dust toxic syndrome in swine confinement farming*. Am J Ind Med, 1999. **35**(4): p. 332-4.
82. Wang, Z., et al., *Inhalation of swine dust induces cytokine release in the upper and lower airways*. Eur Respir J, 1997. **10**(2): p. 381-7.
83. Wang, Z., et al., *Swine dust induces cytokine secretion from human epithelial cells and alveolar macrophages*. Clin Exp Immunol, 1999. **115**(1): p. 6-12.
84. Wang, Z., et al., *Time course of interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha increase in serum following inhalation of swine dust*. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1996. **153**(1): p. 147-152.
85. Weber, S., et al., *Organic dust exposures from compost handling: case presentation and respiratory exposure assessment*. Am J Ind Med, 1993. **24**(4): p. 365-74.
86. Wegner, R., et al., *Tagesrhythmik von Lungenfunktionsmeßwerten unter Berücksichtigung des Geschlechts und Rauchverhaltens*. Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed, 1997(32): p. 43-48.
87. Weinstock, C., et al., *Effect of exhaustive exercise stress on the cytokine response*. Med Sci Sports Exerc, 1997. **29**(3): p. 345-54.
88. Wouters, I., *Endotoxin and beta-(1-->3)-glucan exposure in household waste collectors and compost workers: a relation with upper airway inflammation*. Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg, 1999. **104**: p. 546-50.
89. Wouters, I.M., et al., *Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors*. Occup Environ Med, 2002. **59**(2): p. 106-12.
90. Zock, J.P., et al., *Acute lung function changes and low endotoxin exposures in the potato processing industry*. Am J Ind Med, 1998. **33**(4): p. 384-91.

Lebenslauf

geboren am 17. Februar 1977 in München

Vater: Dr. rer. nat. Christoph Müller, Dipl.-Math.

Mutter: Gerhild Müller, Dipl.-Kfm.

Ausbildung

| | |
|------------------|---|
| 1983-1987 | Kennedy-Grundschule Unterschleißheim |
| 1987-1996 | Carl-Orff-Gymnasium Unterschleißheim 1996 Abitur |
| 1996-1997 | Zivildienst beim Malteser Hilfsdienst München, als Rettungssanitäter |
| 1997-2003 | Studium Humanmedizin an der LMU München 1999 ärztliche Vorprüfung 2000 1. Staatsexamen 2002 2. Staatsexamen 2003 3. Staatsexamen |
| Famulaturen | 2000 Kanti Childrens Hospital, Kathmandu, Nepal: Pädiatrie 2001 Krankenhaus München Schwabing: Kinderchirurgie 2001 Hospital da Criança, Boa Vista Brasilien: Kinderchirurgie 2002 Ambulatorio Coronel Motta, Infektiologie/Hämatologie, Boa Vista, Brasilien |
| Praktisches Jahr | 2002 Pädiatrie: Haunersches Kinderspital, LMU, München 2003 Pädiatrie: Universidade Federal de Roraima, Brasilien 2003 Innere Medizin: Universidade Federal de Roraima, Brasilien 2003 Chirurgie: Universidade Federal de Roraima, Brasilien |

Wissenschaftliche Tätigkeiten

Vortrag „Systemische Entzündungsreaktion nach standardisierter Kompoststaubexposition“ auf der Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e.V. 2002

Seit 1999 studentische Hilfskraft in der Arbeitsgruppe CBT – medizinische Lernprogramme an der LMU München

<http://cbt.klinikum.uni-muenchen.de/>

Poster „Computer-Based Modules for Medical Education and Distance Learning in Brazil and Germany“, Slice of Life Conference 2001, München

http://slice.gsm.com/2001/Thurs_poster/Handl.html

Implementation von Computerlernfällen an der Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Brasilien – Vortrag: „Students as e-Teachers - The Joint Development of Online Courses by Brazilian and German Medical Students“, Slice of Life Conference 2002, Toronto, Canada

http://slice.gsm.com/2002/Thurs_audit/Mueller.html