

**Slutrapport vedr. forskningsprojektet: Organisk støv i væksthushavterier – et
helbredsproblem?**

Projektnr:

27-2009-09/20090066435 og 20100020195/3

Projektorganisation:

Bevillingshaver: Jesper Bælum, Arbejds- og Miljømedicinsk Klinik, OUH

Projektleder: Trine Thilting, Forskningsenheden for Arbejds- og Miljømedicin, Klinisk Institut, SDU

Ansvarsfordeling:

Helbreds- og spørgeskemaundersøgelser, statistiske eksponeringsmodeller: Trine Thilting / Jesper Bælum

Eksponerings- og interventionsundersøgelser, Analyse af svampe og bakterier i nasal lavage: Anne Mette Madsen / Kira Tendal, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø.

Resume – dansk

Gartneriarbejdere tilhører en erhvervsgruppe, der udsættes for betydelige mængder organisk støv. Støvet stammer dels fra planterne, men også udspreddning af biologiske plantebeskyttelsesmidler (biopesticider) bidrager til støvbelastningen. Støvet indeholder allergener (f.eks. fra svampe, aktinomyceiter, invertebrater og pollen), toksiner (som f.eks. mykotoksiner fra svampe) og proinflammatorer (f.eks. endotoksin og β -glukan fra hhv. bakterier og svampe), og udsættelse for organisk støv medfører arbejdsrelaterede helbredsproblemer som allergi, astma, høfeber og eksem. Der mangler viden om i hvilke arbejdsprocesser støvbelastningen er størst, ligesom der skal udvikles forebyggende foranstaltninger til at nedbringe støvbelastningen.

Nærværende 3-årige follow up undersøgelse har deltagelse af tre store gartnerier: Et agurke-, et tomat- og et potteplantegartneri. Den individuelle eksponering for organisk støv blev undersøgt med personbårne og stationære samplere. Støvet blev analyseret for indhold af endotoxin, skimmelsvampe, β -glukan og bakterier. Helbredsundersøgelserne blev foretaget mandag morgen og torsdag middag og omfattede foruden spørgeskemaundersøgelser måling af lungefunktion og nitrogenoxid i udåndingsluften samt udtagning af blod- og næseskyllevæske til analyse af inflammationsmarkører. 33 gartneriansatte deltog i projektets helbredsundersøgelser og 50 personer i eksponeringsmålinger. Projektets første år blev brugt til basis helbredsundersøgelser (inkl. hudpricktest) samt identifikation af arbejdsprocesser med høj eksponering. Andet og tredje år blev brugt til udvikling, implementering og afprøvning af interventioner til nedbringning af eksponeringen. Sideløbende hermed blev helbredsundersøgelserne foretaget.

Resultaterne viste høj forekomst af allergi i form af sensibilisering overfor almindeligt forekommende luftvejsallergener og 3 potentielt arbejdsrelaterede allergener blandt projektdeltagerne. Desuden blev et tilfælde af sensibilisering overfor et nematode-baseret biopesticid detekteret. Projektdeltagerne viste tegn på kronisk inflammatorisk respons i luftvejene i form af generelt forhøjet niveau af nitrogenoxid i udåndingsluften. Der sås ingen signifikante ændringer i lungefunktionen over arbejdsugen, og niveauet af inflammationsmarkører i blod og næseskyllevæske var generelt lave i forhold til niveauer fundet i andre undersøgelser af arbejdere udsat for organisk støv.

De ansatte blev udsat for meget forskellige eksponeringsniveauer under de forskellige arbejdsopgaver. F.eks. førte en arbejdsopgave som rydning af gamle agurkeplanter til høj eksponering, mens en opgave som tomathøst førte til væsentligt lavere eksponering. Nogle arbejdsopgaver førte til høj eksponering for endotoxin, mens andre hovedsagligt førte til høj eksponering for svampe. F.eks. førte arbejde med tørt spagnum hovedsageligt til eksponering for endotoxin, mens pakning af potteplanter hovedsageligt medførte eksponering for svampe. Eksponeringsniveauerne lignede demt, der tidligere er målt i væksthushavestuegartnerier.

I projektet identificeredes således arbejdsopgaver med høj eksponering, og vi udviklede og afprøvede interventioner til at reducere eksponeringen. Nedenfor gives nogle eksempler.

Biopesticider:

Et af de hyppigst anvendte biopesticider er baseret på en *Bacillus* bakterie. Vi fandt, at de ansatte i et af gartnerierne dagligt var udsat for omkring 100.000 cfu *Bacillus* /m³ luft. Vi har efterfølgende vist, at det var muligt at reducere udsættelsen for *Bacillus* betydeligt ved at bygge en skærm om den bom der udbragte bakterien.

Rydning af agurkeplanter:

Rydning af agurkeplanter efter sidste høst førte til en meget høj eksponering. Ved at undlade at udtørre planterne inden rydning reduceredes eksponeringen for støv og svampesporer med 60-71 % og eksponering for bakterier og endotoxin blev reduceret med 82-95 % sammenlignet med, når planterne havde fået lov at tørre ud.

Blade i gangarealer:

Der bliver ofte nappet blade af tomatplanter, disse blade bliver i nogle gartnerier smidt i gangarealerne, da de menes at være nyttige for nogle af de anvendte nyttedyr. Vi har undersøgt, om disse blade i gangarealerne førte til højere eksponering for støv og mikroorganismer. Undersøgelsen viste, at arbejde i gangarealer med bladaffald ikke førte til højere eksponering for støv, bakterier og endotoxin. Eksponeringen for svampe var dog lettere forhøjet når der var bladaffald i gangene. Arbejde i gange uden blade krævede, at bladene blev fjernet fra gangarealet og den opgave der var forbundet med at fjerne bladene førte til højere eksponering. Vi mener derfor ikke der er meget vundet ved at arbejde i gange uden bladeaffald.

Agurkepakkeri:

I agurkepakkeriet var der jobrotation for at beskytte medarbejderne for gentagne bevægelser. Ved at lade samplerne følge arbejdsopgaver frem for personer fandt vi frem til at de forskellige arbejdsopgaver ved pakkebåndet udsatte medarbejderne for meget forskellige eksponeringsniveauer. Det var blot én enkelt arbejdsopgave, der frigjorde en høj mængde af organisk støv - nemlig den, hvor agurkerne blev læsset af containeren og op på pakkebåndet. Ved at forsætte med at have jobrotation vil hver enkelt medarbejder kun være eksponeret for den meget høje koncentration i kort tid af gangen. En anden mulighed for at reducere eksponeringen vil være at anvende lokal ventilation ved aflæsning af agurker.

Vi har i projektet identificeret arbejdsprocesser og aktiviteter i arbejdsprocesserne, der fører til høj eksponering, og vi har udviklet og afprøvet metoder til reduktion af eksponeringsniveauet i kritiske arbejdsprocesser. De udviklede metoder er direkte anvendelige i gartnerierne og forventes at kunne afhjælpe nogle af de kendte helbredsmæssige konsekvenser ved eksponering for høje niveauer af støv og endotoxin. Vi har dokumenteret allergi overfor endnu et hyppigt anvendt biopesticid. Der er derfor fremover brug for et øget fokus på den sundhedsmæssige betydning ved brugen af biologiske bekæmpelsesmidler.

Resume – engelsk

Greenhouse workers may be exposed to significant amounts of organic dust. Organic dust may mainly come from the plants, however, spreading of biological plant protection agents (biopesticides) may also contribute. The dust contains allergens (eg, from fungi, actinomycetes, invertebrates and pollen), toxins (eg mycotoxins from fungi) and pro-inflammatory substances (eg, endotoxin and β -glucan from bacteria and fungi, respectively). Exposure to organic dust causes work-related health problems such as allergies, asthma, hay fever and eczema. Knowledge about the dust exposure level in common work tasks is required, along with development and documentation of interventions to reduce exposure.

This 3-year follow-up study involves three large nurseries: a cucumber, a tomato and a flower nursery. The individual exposure to organic dust was examined using portable and stationary samplers. The dust was analyzed for endotoxin, fungi, β -glucan and bacteria. The clinical examinations were carried out on Monday morning and Thursday at noon, and 33 employees participated. The examinations included questionnaires, examination of lung function and exhaled NO and collection of blood and nasal lavage fluid for analysis of inflammatory markers. The first year of the project was used for basic health examinations (incl. skin prick test) and identification of work tasks with high exposure. The second and third year of the project were used for the development, implementation and testing of interventions to reduce exposure. At the same time the clinical examinations were carried out.

The results showed a high prevalence of atopy and sensitization to potentially work-related allergens among the greenhouse workers. In addition, a case of sensitization to a nematode - based biopesticide was detected. The greenhouse workers showed increased levels of nitric oxide in exhaled air indicating chronic inflammatory response in the airways. There were no significant

changes in lung function during the work week, and the levels of inflammatory markers in blood and nasal lavage fluid was generally low compared to levels found in other studies on workers exposed to organic dust.

The employees were exposed to very different exposure levels during different tasks. For example clearing out old cucumber plants led to high exposure, while picking tomatoes led to significantly lower exposure.

Some tasks led to high exposure to endotoxin, while others were characterized by high exposure to fungi. Eg. working with dry sphagnum led to high exposure to endotoxin, while packing of flowers mainly caused exposure to fungi. The exposure levels measures were comparable to those previously found in greenhouses.

We identified the tasks with high exposure, and developed and tested interventions to reduce exposure. Below some examples are listed:

Biopesticides:

One of the most frequently used biopesticides is based on a Bacillus bacterium. We found that the employees on one of the greenhouses were exposed to 100,000 cfu Bacillus/m³ air pr. day. We subsequently showed that it was possible to reduce the exposure to Bacillus significantly by attaching a screen on the boom spraying the bacterium.

Clearing out cucumber plants:

Clearing out cucumber plants after the last harvest led to very high exposure levels. Not drying the plants before the plants were removed reduced exposure to dust and fungi by 60-71%, and exposure to bacteria and endotoxin was reduced by 82-95 % as compared to when the plants were allowed to dry out.

Leaves in the aisles:

In some greenhouses leaves are left on the floor in the aisles because they are believed to be useful to some of the biopesticides used. We investigated whether these leaves led to higher exposure to dust and microorganisms. The study showed that working in aisles with leaved did not lead to higher exposure to dust, bacteria or endotoxin. Exposure to fungi was slightly increased. Removing leaves from the aisles led to higher exposure than exposure from working in aisles with leaves. Therefore, not much is gained from removing leaves from the aisles.

Packing of cucumbers:

In the cucumber packing unit job rotation was used to protect the employees from injuries due to repetitive movements. By letting the dust samplers follow the tasks rather than the individual worker we found that the different tasks along the packing conveyor belt led to very different exposure levels. One particular task – the unloading of cucumbers from the container to the conveyor belt – was associated with high exposure to organic dust. By continuously using job rotation, each employee will only be exposed to the very high exposure level for a short period of time. Another way of reducing exposure could be the use of local exhaust ventilation at the site where cucumbers were unloaded.

In this project we identified work tasks and activities within the work tasks that lead to high exposure, and we developed and tested interventions to reduce exposure during critical operations. The methods developed are directly applicable in horticulture and is expected to alleviate some of the known health effects from exposure to high levels of dust and endotoxin. We have documented allergy to a frequently used biopesticide. Therefore, more focus on the health impact of the use of biological control agents is required.

Formål:

Formålet med projektet er:

- At kvantificere eksponeringen for organisk støv og udvalgte komponenter i støvet under veldefinerede arbejdsprocesser i agurke-, tomat- og blomstergartnerier.
- At identificere de arbejdsprocesser og aktiviteter i arbejdsprocesserne, der fører til høj eksponering.

og

- At udvikle, afprøve og dokumentere metoder til reduktion af eksponeringsniveauet i kritiske arbejdsprocesser.
- At undersøge relevante helbredseffekter hos de ansatte i gartnerierne.

Baggrund:

Organisk støv, også kaldet bioaerosoler, defineres som aerosoler eller partikler af mikrobiel, plante eller animalsk oprindelse. Organisk støv kan således bl.a. indeholde allergener (f.eks. fra svampe, nyttedyr, naturligt forekommende mider og pollen), toksiner (som f.eks. mykotoksiner fra svampe) og pro-inflammatorer (f.eks. endotoksin og β -glukan fra hhv. bakterier og svampe)(1).

Eksponering for organisk støv i forskellige arbejdsmiljøer har gentagne gange vist sig at have helbredsmæssige konsekvenser bl.a. i form af rinitis (2, 3), astma (4-8), allergisk alveolitis (9-12) og IgE medieret allergi (5, 13-15).

I Danmark beskæftiges omkring 9.500 personer i væksthushavsgartnerier, mens der på europæisk plan beskæftiges flere hundrede tusinde. Den intensive produktion i grøntsags- og blomstergartnerierne sammenholdt med høj temperatur og luftfugtighed medfører optimale vækstbetingelser for en lang række svampe og bakterier, der bidrager til et højt niveau af organisk støv. Foruden de naturligt forekommende støvkomponenter udsprede store mængder bioaerosoler i form af biologiske midler (biopesticider) til bekæmpelse af skadedyr.

Gartneriarbejdere tilhører derfor en erhvervsgruppe for hvem eksponering for en lang række allergener, toksiner og pro-inflammatorer er uundgåelig (1).

Følgelig har undersøgelser i gartnerier vist sammenhæng mellem eksponering for svampe og udvikling af astma (4, 6, 16), og i et væksthushavsgartneri har man påvist sammenhæng mellem polleneksposektion og rinitis symptomer (17). Anvendelsen af biopesticider, herunder rovmider, har ligeledes vist sig at have helbredsmæssige konsekvenser. Nationale og internationale undersøgelser har vist en høj prævalens (23%) af sensibilisering overfor rovmiden *Amblyseius cucumeris* blandt gartneriarbejdere (15), og allergiske symptomer fra hud, næse og øjne er observeret i forbindelse med sensibilisering (2). Senest er rovmider identificeret som den direkte udløsende årsag til erhvervsbetinget astma (18).

På trods af omfattende dokumentation for erhvervsbetingede helbredseffekter har kun enkelte studier evalueret de faktiske niveauer af organisk støv i gartnerierne:

Undersøgelser udført af projektgruppen har vist høje koncentrationer af **organisk støv** i tomat- og agurkegartnerier, hvor henholdsvis 17% og 36% af de ansatte var eksponeret for koncentrationer over den gældende grænseværdi (3 mg/m^3) (19). En hollandsk undersøgelse viste lavere eksponering for inhalerbart støv i tomat-, agurke og paprikagartnerier (range $<0.1\text{-}2,4 \text{ mg/m}^3$) (20). I den danske undersøgelse var mere end halvdelen (65%) af de ansatte i tomat- og agurkegartnerierne udsat for **endotoksinniveauer** over 15 ng/m^3 (= foreslået "no-effect-level" (21)), og 30% var udsat for niveauer over 80 ng/m^3 (19). Tilsvarende viste et hollandsk studie endotoksin eksponering over den foreslåede hollandske helbedsbaserede grænseværdi ($50 \text{ EU m}^{-3} \sim 5 \text{ ng/m}^3$) i 69% af prøverne. Til trods for at talrige studier har påvist sammenhænge mellem

endotoksineksponering og luftvejssymptomer (1, 22, 23) findes i Danmark ingen officiel grænseværdi for endotoksin.

Der findes heller ingen officiel grænseværdi for **skimmelsvampe**eksponering. I en undersøgelse i landbruget så man symptomer fra de øvre luftveje ved eksponering for 2×10^4 til 5×10^5 total sporer/ m^3 ($\sim 10^3 - 10^4$ cfu/ m^3) (24), og i et tysk studie blev en grænseværdi på 10^4 cfu/ m^3 foreslået (25). Danske undersøgelser har imidlertid vist, at eksponeringen for svampe i tomat- og agurkegartnerier var 40-800 gange højere end 10^4 cfu/ m^3 i de arbejdsprocesser, der blev undersøgt (26).

Biopesticider anvendes i dag i stort omfang i grøntsags- og blomstergartnerierne. Til trods for at flere studier, herunder studier gennemført af projektgruppen, har påvist helbredsmæssige problemer blandt gartneriarbejdere, der udsættes for biopesticider (2, 5, 15) er eksponeringsniveauet kun undersøgt for enkelte biopesticidtyper (25), ligesom der pt. ikke eksisterer retningslinier for brugen af biopesticider.

De beskrevne helbredsmæssige konsekvenser af eksponering for organisk støv sammenholdt med de senere års fund af høje støv-, skimmelsvampe- og endotoksinniveauer i gartnerierne nødvendiggør yderligere undersøgelser til identifikation af høj-risiko arbejdsprocesser. Desuden skal metoder til reduktion af eksponeringsniveauet udvikles og afprøves.

Materialer og metode:

Projektet gennemføres som en 3 årig follow up undersøgelse med deltagelse af tre store væksthusegartnerier med forskellig produktion: 1 agurke-, 1 tomat- og 1 potteplantegartneri.

Fra hvert gartneri rekrutteres deltagere til helbeds- og eksponeringsundersøgelser. Deltagerne følges så vidt muligt gennem hele projektperioden.

I samarbejde med virksomhederne og medarbejdere i gartnerierne identificeres et antal arbejdsprocesser, som dels forventes at dække hele spektret i eksponeringsniveauet, og dels er udbredte i gartneriet (f.eks. plantning, høst og nedrivning af planter). Eksponeringsmålinger og helbedsundersøgelser koncentrerer omkring disse arbejdsprocesser og dækker korte tidsintervaller indenfor hver arbejdsproces. Der foretages således helbedsundersøgelser ved starten af en arbejdsuge (mandag) såvel som mod slutningen af arbejdsugen (torsdag) indenfor hver arbejdsproces. Eksponeringsundersøgelserne foretages om onsdagen de pågældende uger.

Undersøgelsens første sæson anvendes til identifikation af arbejdsprocesser med høj eksponering ligesom de basale helbedsundersøgelser gennemføres. I 2. og 3. sæson udvikles og afprøves forebyggende tiltag til reduktion af eksponeringsniveau. Helbedsundersøgelserne foretages sideløbende hermed.

Helbeds- og spørgeskemaundersøgelser:

Helbedsundersøgelsesernes overordnede fokus er effekten på luftvejene. Akutte effekter på lungefunktionen undersøges ved spirometri (lungefunktionsundersøgelse) og slutekspiratorisk NO (indikator for inflammation i lungerne). Der laves priktest overfor standardallergener og potentielt arbejdsrelaterede allergener. Desuden udtages blod- og næseskylleprøver til senere analyse for inflammationsmarkører.

Der anvendes spørgeskemaer til afdækning af arbejds- og ansættelsesforhold samt generelle helbedsstatus.

Helbedseffekten evalueres ved hjælp af metoder anvendt i tidligere studier (3, 27), og resultaterne kan derfor sammenlignes med andre danske kohorter af arbejdere udsat for organisk støv (28) samt resultater af populationsbaserede astmastudier (29, 30).

Eksponering:

I forbindelse med gennemførelse af de udvalgte arbejdsprocesser udføres registrering af aktiviteter indenfor hver arbejdsproces. Der indhentes desuden dataudtræk fra arbejdsregistreringsdatabasen på det største af de 3 deltagende gartnerier. Data indeholder elektroniske minut-til-minut registreringer af hver medarbejdes arbejdsfunktioner i løbet af arbejdsdagen.

Med personbårent udstyr opsamles prøver af inhalerbare aerosoler (19, 26), og med personbårne optiske partikeltællere måles eksponeringen for inhalerbare partikler som funktion af tid. Til undersøgelse af spredning fra kilden prøvetages med stationært udstyr på positioner omkring arbejdszoner (31). Indsamlede prøver anvendes til bestemmelse af: Støv, total antal svampe og bakterier. Desuden kvantificeres indhold af: Endotoksin og β -glukan (19).

Intervention:

Den første sæson anvendes til basismålinger samt gennemgang af gartnerierne med henblik på kortlægning af arbejdsopgaver. Arbejdsopgaver med størst bidrag til eksponeringen identificeres sammen med delprocedurer af betydning for eksponeringen inden for den enkelte arbejdsproces. I anden og tredje sæson udvikles og afprøves interventionsmetoder til reduktion i eksponeringen. Valg af interventionsmetoder sker i samarbejde med virksomheder og medarbejdere. Der sigtes mod f.eks tekniske ændringer i form af støvbegrænsende procedurer, ventilation og personlige værnemidler og organisatoriske ændringer med ændring i rækkefølge og adskillelse af procedurer samt instruktion af medarbejdere. Interventionen implementeres og løber efter planen 1- 2 mdr. forud for kontrolmåling. Ved meget sæsonbetingede processer vil tid for implementering være kortere.

For yderligere beskrivelse af de anvendte metoder henvises til de enkelte resultatafsnit.

Resultater:

Nedenfor opsummeres projektets hovedresultater:

Spørgeskemaundersøgelser:

Spørgeskemaundersøgelsen omfattede både projektdeltagerne og den fulde arbejdsstyrke på det største af de 3 deltagende gartnerier. Spørgeskemaet indeholdt 133 spørgsmål til afdækning af bl.a. arbejdsopgaver, brug af beskyttelsesudstyr, den generelle helbredsstatus og arbejdsrelaterede symptomer.

Samtlige projektdeltagere og 91% af den fulde arbejdsstyrke på det største gartneri besvarede spørgeskemaet. Projektdeltagerne havde en gennemsnitlig alder på 37.5 år (range: 20-57 år), og de havde i gennemsnit arbejdet 12.8 år (range: 0.75-40 år) indenfor gartneribranchen.

Brugen af beskyttelsesudstyr var generelt udbredt (97%) blandt projektdeltagerne, men udgjordes primært af brugen af handsker, idet 79% brugte handsker dagligt, mens kun 6% brugte støvmaske dagligt.

Forekomsten af arbejdsrelaterede luftvejs- og allergisymptomer var høj blandt projektdeltagerne idet 36% rapporterede om arbejdsrelateret allergi i næsen, 21% havde arbejdsrelaterede øjenproblemer, 15% havde arbejdsrelateret astma, 39% havde arbejdsrelateret hoste og 30% rapporterede om arbejdsrelateret eksem. Blandt den fulde arbejdsstyrke på det ene gartneri var de tilsvarende tal hhv 17%, 13%, 3%, 13% og 22%. Overordnet set havde 24% af projektdeltagerne vurderet deres generelle helbred til at være mindre godt, mens kun 4% af den fulde arbejdsstyrke havde samme vurdering.

Forekomsten af arbejdsrelaterede symptomer blandt projektdeltagerne i nærværende undersøgelse var høj sammenlignet med andre undersøgelser af arbejdere udsat for organisk støv (32). Forskellene i prævalensen mellem den fulde arbejdsstyrke på det ene gartneri og prævalensen blandt projektdeltagerne kan skyldes forskel i arbejdsfunktion og dermed eksponering idet undersøgelsen af den fulde arbejdsstyrke også omfattede gartneriets administrative personale. Endelig kan de høje prævalenser også være et udtryk for en selektion idet personer med erkendte arbejdsrelaterede symptomer kan have større incitament for at indgå i et forskningsprojekt som det aktuelle.

Helbredsundersøgelser:

I alt 33 gartneriansatte deltog i helbredsundersøgelserne. Der blev i løbet af projektperioden foretaget helbredsundersøgelser på 36 arbejdsdage fordelt med hhv 15, 13 og 8 dage på hver af de tre gartnerier. Grundet stor udskiftning af personalet på 2 af de 3 deltagende gartnerier var det ikke muligt, at følge alle projektdeltagerne over hele projektperioden.

Priktest med standardallergenerne birk, græs, bynke, hest, hund, kat, 2 husstøvmider og 2 skimmelsvamp samt de potentielt arbejdsrelaterede allergener lagermiderne *acarus siro*, *tyrophagus putrescentiae* og *lepidoglyphus destructor* viste atopi (=reaktion overfor min 1 standardallergen) blandt 49% af projektdeltagerne, mens prævalensen af sensibilisering overfor de 3 lagermider var hhv 24%, 30% og 27%. En af projektdeltagerne blev desuden diagnosticeret med erhvervsrelateret sensibilisering overfor et biopesticid indeholdende nematoden *Steinernema feltiae* (33). For yderligere detaljer henvises til vedlagte publikation: *Thilsing, T. Sherson, D., Madsen, AM. And Baelum, J. 2012. Type 1 sensitisation against a Steinernema feltiae product. BMJ Case Rep. Jun 8, 2012.*

Der blev i løbet af projektperioden foretaget i alt 179 lungefunktionsmålinger fordelt på de 33 projektdeltagere. I 9% af tilfældene lå værdien for FEV₁ (Forced expiratory volume in 1 sec) under 80% af det forventede. Der var ikke forskel på lungefunktionsværdierne torsdag og mandag, og der sås ikke signifikante ændringer i lungefunktionen over tid.

Måling af nitrogenoxid i udåndingsluften mandag morgen og torsdag middag viste en lille, men ikke signifikant stigning over ugen (Gns Exh.NO: mandag: 18.6 ppb, torsdag: 19.4 ppb, p=0.7). Der sås ikke signifikante ændringer i NO niveauet over projektperioden.

90 blod- og 117 næseskylleprøver fra projektdeltagerne på det største af gartnerierne blev analyseret for inflammationsmarkører interleukin 8 (IL-8) i næseskyllevæske (NAL) og IL-6 i serum. Resultaterne viste signifikant lavere serum IL-6 ($p=0.02$) om torsdagen end om mandagen, mens der ikke var signifikante ændringer i NAL IL-8 ($p=0.3$).

Samlet set viste helbredsundersøgelserne en høj forekomst af atopi og sensibilisering overfor lagermidlerne i forhold til i den generelle danske befolkning (egne data, ikke publ) og i forhold til andre erhvervsgrupper udsat for organisk støv (32). Den i projektet fundne sensibilisering overfor *Steinernema feltiae* er desuden interessant, idet der ikke tidligere er beskrevet sensibilisering overfor nematode-baserede produkter.

Det gennemsnitlige niveau af nitrogenoxid i udåndingsluften var højt i forhold til niveauet hos raske kontroller (10 ppb) (34), hvilket tyder på en kronisk inflammatorisk påvirkning af luftvejene. Niveauet af NAL IL-8 var lavt i forhold til niveauer fundet i andre undersøgelser af arbejdere udsat for organisk støv (35-38). Forskellen kan muligvis skyldes en relativt lavere eksponering for støv og endotoxin i nærværende undersøgelse. Der pågår i øjeblikket analyser, der kobler de målte niveauer af inflammationsmarkører med den beregnede totale eksponering (se næste afsnit).

Eksponering og intervention:

Job-exposure-matrix analyser på data fra arbejdsregistreringsdatabase og målte eksponeringsniveauer i blomstergartneri:

I løbet af projektperioden blev der på det største af de tre gartnerier (potteplantegartneriet) foretaget 86 støvopsamlinger med personbårne samplere. 41 gartneriansatte (heraf 14 projektdeltagere) deltog i denne del af undersøgelsen, og opsamlingerne var fordelt på 12 separate dage fra maj 2010-nov 2012. Støvopsamlingerne blev foretaget over hele arbejdsdage, og indholdet af støv, endotoxin, skimmelsvampe og bakterier blev kvantificeret. På alle 86 individ-dage med støvopsamling blev der fra gartneriets database lavet individuelle dataudtræk med minut-til-minut registreringer af dagens arbejdsprocesser. Hver deltager gennemførte mellem 1 og 5 forskellige arbejdsprocesser dagligt, men kun en deltager arbejdede med flere forskellige blomstertyper på samme dag. Job-exposure-matrix analyser viste, at arbejdsprocessen med størst positiv indflydelse på skimmelsvampeeksponeringen var pakning og udsmidning af campanula idet en time med denne arbejdsproces medførte en stigning i eksponeringen på 23%. Tilsvarende gav en times arbejde med pakning af lavendel en stigning i støveksponeringen på 19%, og en times arbejde med neddrejning af kaktus eller pakning og udsmidning af campanula gav en stigning i endotoxineksponeringen på hhv 12% og 32%. De udviklede statistiske modeller forklarede mellem 16% og 41% af den totale variation i eksponeringsniveauerne.

Der pågår i øjeblikket analyser i hvilke de statistiske modeller anvendes til estimering af den totale individuelle eksponering for hver af projektets deltagere i uger med helbredsundersøgelser. Estimaterne kobles herefter til de målte niveauer af inflammationsmarkører for vurdering af dosis-respons sammenhænge. Resultaterne forventes publiceret i 2014 (se "Publikationer under udarbejdelse", under punktet "Publikationer og produkter fra projektet").

Svampe og bakterier i nasal lavage og relation til eksponering i arbejdsmiljøet, køn og løbende næse:

Introduktion

I dette studie har vi undersøgt om der er en kvantitativ sammenhæng mellem koncentration af luftbårne svampe og bakterier og koncentration af samme mikroorganismer i næseskyllevæske (NAL) hos ansatte i gartnerier. Vi har undersøgt om koncentrationen af svampe og bakterier i NAL er påvirket af køn, løbende næse og tidspunktet på ugen NAL er taget.

Metoder

Mikroorganismer er blevet samlet i inhalationszonen af de ansatte i samme uge som vi har lavet NAL på de samme ansatte. Mikroorganismer er kvantificeret i luftprøver og i NAL prøver med metoder tidligere beskrevet. I de statistiske analyser er der taget hensyn til køn, løbende næse på det tidspunkt NAL prøverne blev taget, og om NAL blev taget mandag morgen eller torsdag over middag.

Resultater

Undersøgelsen viste at køn havde en stærk og signifikant effekt på koncentrationen af svampe og bakterier i næsen; mænd havde signifikant flere svampe og bakterier i NAL end kvinder havde (Tabel 8). Hvis de gartneriansatte havde løbende næse på den dag NAL prøven blev taget havde de færre svampe i NAL. Mandag morgen havde de ansatte færre svampe i næserne end torsdag over middag. Mænd havde også færre bakterier i næserne mandag morgen end torsdag over middag (Tabel 8).

Tabel 8. Sammenhæng mellem svampe, β -glucan og bakterier i NAL og køn, løbende næse og tidspunkt (Mandag morgen og Torsdag middag). Estimaterne viser forholdene mellem koncentrationer i NAL imellem de to niveauer af hver faktor.

Undersøgt for		Køn	Løbende næse	Tidspunkt*
		Estimat (Mand vs kvinde) [konfidensinterval] p-værdi	Estimat (Ja vs nej) [konfidensinterval] p-værdi	Estimat (Mandag morgen vs Torsdag eftermiddag) [konfidensinterval] p-værdi
Svampe (25°C) i NAL	Mænd og kvinder	11.6 [3.4-39.6] 0.0004	0.35 [0.13-0.98] 0.049	0.082 [0.035-0.19] <0.0001
Svampe (25°C) i NAL	Mænd	-	0.20 [0.056-0.72] 0.015	0.058 [0.023-0.15] <0.0001
Svampe (25°C) i NAL	Kvinder	-	1.54 [0.29-8.33] 0.62	0.15 [0.055-0.60] 0.0029
Glucan i NAL	Mænd og kvinder	4.40 [2.16-9.71] <0.0001	0.52 [0.24-1.22] 0.13	0.42 [0.22-0.85] 0.014
Bakterier (25°C) i NAL	Mænd og kvinder	3.90 [1.18-12.7] 0.034	0.71 [0.28-1.80] 0.48	0.40 [0.21-0.78] 0.008
Bakterier (25°C) i NAL	Mænd	-	0.67 [0.22-2.11] 0.50	0.25 [0.11-0.58] 0.0019
Bakterier (25°C) i NAL	Kvinder	-	0.78 [0.17-3.74] 0.77	1.00 [0.37-2.70] 0.99

Eksponering for svampe og β -glukan havde en signifikant effekt på koncentrationen af de samme komponenter i NAL (Tabel 9).

Tabel 9. Forhold mellem indhold af bakterier, svampe og β -glukan i NAL og eksponering* for de samme komponenter.

Undersøgt for	Bacteria(25°C) Estimate [confidence limits] p-value	Fungi(25°C) Estimate [confidence limits] p-value	β -Glukan Estimate [confidence limits] p-value
Men and women	-0.099 [-0.52-0.33] 0.65	0.43 [0.20-0.66] 0.0005	0.44 [0.26-0.62] 0.0005
Men	0.13 [-0.37-0.62] 0.63	0.49 [0.25-0.73] 0.0003	0.49 [0.21-0.77] 0.0045
Women	-0.36 [-1.19-0.47] 0.41	-0.027 [-0.78-0.72] 0.95	0.36 [-0.06-0.78] 0.13

*Eksponering blev målt igennem en hel arbejdsdag. Hvis estimatet er større end 0 og $p < 0.05$ er der en signifikant positiv sammenhæng mellem eksponering og koncentration i NAL. I alle analyser er der kontrolleret for løbende næse og hvor analyserne ikke er opdelt i køn er der også kontrolleret for køn.

For yderligere detaljer henvises til vedlagte publikation: *Madsen, AM, Tendal, K, Thilsing, T, Frederiksen, MW, Baelum, J, Hansen, JV.* 2013. Fungi, β -Glukan, and Bacteria in Nasal Lavage of Greenhouse Workers and Their Relation to Occupational Exposure. *Ann Occup Hyg.* Jun 8.

Tiltag til at reducere eksponering for svampe, β -glukan, bakterier, endotoksin og støv i tomat og agurkegartnerier og et agurkepakkeri

Håndtering af store mængder friske og tørre plantematerialer foregår over hele verdenen i forskellige arbejdsmiljøer, herunder i gartnerier, savværker, biobrændselsanlæg og komposteringsanlæg og disse arbejdsprocesser fører til eksponering for bioaerosoler. Bioaerosoler er involveret i udvikling af forskellige luftvejssymptomer og sygdomme. Der findes forskellige måder at reducere eksponering for bioaerosoler på; en metode er lokal ventilation. Denne metode giver ofte ikke mening i gartnerier, da gartnerierne er meget store og da de ansatte går rundt og arbejder i forskellige områder. For at kunne undgå aerosolisering af mikroorganismer er det vigtigt at forstå den underliggende mekanisme der forårsager aerosoliseringen af forskellige bioaerosolkomponenter.

I dette studie har vi valgt at fokusere på følgende scenarier: et scenarie med den højeste målte eksponering, hvilket var målt under rydning af gamle agurkeplanter; andre med lang-middel eksponering for svampe eller endotoksin og med et højt antal eksponerede personer. Middel eksponering blev fundet under plukning af tomater, afnapning af blade, opbinding af tomatplanter og under pakning af agurker. Der blev lavet forebyggende tiltag ved rydning af agurkeplanter: Vi prøvede at reducere aerosolisering ved at undgå udtørring af agurkeplanter. For tomatplukning sammenlignede vi eksponering når der var hhv. ikke var bladerester på gulvet for at se om bedre hygiejne førte til lavere eksponering. I agurkepakkeriet, som var væsentlig mindre end drivhusene, identificerede vi kilden til eksponering.

Resultater

Reduktion af eksponering under rydning af agurkeplanter:

Eksponeringen for støv, endotoksin og bakterier blev reduceret signifikant ved at undgå udtørring af planterne inden de blev ryddet væk (**Tabel 1**).

Tabel 1. Eksponering for inhalerbare bioaerosols (median) ved rydning af gamle tørrede og gamle ikke-tørrede agurke-planter.

	Rydning af agurkeplanter Personlig eksponering		Udendørs koncentrationer	
	Tørrede planter n=7	Ikke-tørrede planter n=7	P-værdi	Pooled for begge dage n=2
Dust (mg m ⁻³)	8.4	2.4	<0.0001	0.027
Endotoxin (EU m ⁻³)	2900	157	<0.0001	3.5
Bacteria (cfu m ⁻³)	1.3x10 ⁵	2.3x10 ⁴	0.019	130
β-glucan (ng m ⁻³)	1302	184	0.017	11
Fungal spores (number m ⁻³)	1.6x10 ⁸	6.4x10 ⁷	0.046	nm

cfu=colony forming units, EU=endotoxin units, n=antal prøver, nm=ikke målt

Blade i gangarealer:

Både i agurke- og tomatgartnerier blev blade smidt i gangarealet. Vi har undersøgt, om disse blade har betydning for eksponeringen. Ved ikke at have blade i gangen blev eksponeringen for svampe reduceret lidt – men signifikant. Eksponeringen for støv, endotoksin og bakterier kunne derimod være meget højere under arbejde i gange uden blade. Det skyldes at bladene i første omgang blev smidt i gangen og herefter samlet sammen og smidt ud. Den højere eksponering skyldes at medarbejderne kommer i tættere kontakt med plantematerialet under selve arbejdet med at samle blade sammen.

Tabel 2. Eksposering for inhalerbare bioaerosols (median) under høst af tomater, gang, og afnapning af blade i gange med og uden bladaffald.

	Høst, n=11			Gang, n=3			Nappe blade, n=4		
	Blade	Ingen blade	P-værdi	Blade	Ingen blade	P-værdi	Blade	Ingen blade	P-værdi
Støv (mg m ⁻³)	0.23	0.20	0.98	0.19	0.094	0.095	0.46	0.70	0.038
Endotoksin (EU m ⁻³)	12.8	15.3	0.57	1.3	0.91	0.091	17	67	0.020
Bakterier (cfu m ⁻³)	2500	1550	0.21	298	160	0.198	734	6.4x10 ³	0.066
Svampe (cfu m ⁻³)	1.0x10 ⁵	4.7x10 ⁴	0.085	9.0x10 ³	2.6x10 ³	0.049	1.4x10 ⁶	6.2x10 ⁵	0.038

=number of samples, cfu= colony forming units, EU= endotoxin units.

Alder af planter:

Vi har målt eksposering for medarbejdere der passede tomatplanter, plukkede tomater, nappede blade af eller bandt planterne op på planter af forskellige aldre. Mængden af svampesporer steg over tid i begyndelsen af vækstsæsonen, mens støv og endotoksin steg over tid senere på sæsonen (eksempler i **Tabel 3** og **4**). Efterårshøstede agurker frigav mere endotoksin og flere bakterier ved pakkebåndet, end agurker høstet tidligere på sæsonen (**Tabel 5**).

Tabel 3. Eksposering (median) for bioaerosol komponenter under arbejde med opbinding af tomatplanter af forskellige aldre og størrelser, og stationære udendørs referencemål.

Tidspunkt	n	Støv mg m ⁻³	Endotoksin EU m ⁻³	Bakterier cfu m ⁻³	Svampe cfu m ⁻³
Februar, unge planter	6	0.31 a	13 a	890 a	4.1x10 ³ b
Maj, modne planter	3	0.29 a	10 a	1.0x10 ³ a	3.3x10 ⁴ a
Juni, modne planter	4	0.28 a	5 a	1.5x10 ³ a	2.7x10 ⁴ a
Udendørs reference	3	0.057 b	2.6 b	50 b	320 c

Tal i same søjle efterfulgt af samme bogstav er ikke signifikant forskellige. N=antal prøver, cfu=colony forming enheder, EU=endotoksin enheder.

Tabel 4. Eksponering (median) for bioaerosol komponenter under tomathøst fra gamle og modne planter på forskellige årstider.

Årstid	Planter	n	Støv	Endotoksin	Bakterier	Svampe
			mg m ⁻³	EU m ⁻³	cfu m ⁻³	cfu m ⁻³
Vinter	Gamle	1	0.52	49	4.4x10 ⁵	9.0x10 ⁵
	Modne	2	0.31	14	1.3x10 ⁴	8.2x10 ⁴
Forår	Modne*	4	0.14	5.8	250	1.2x10 ⁵
Sommer	Gamle	1	0.61	45	1.0 x10 ⁴	9.7x10 ⁴
	Modne	1	0.40	6.8	150	2.7x10 ⁶
Efterår	Gamle	4	0.49	71	1.8x10 ⁵	2.1x10 ⁵
	Modne	4	0.38	13	5.5x10 ³	1.2x10 ⁶

*Tomater blev høstet direkte i små kasser klar til salg, på de andre dage blev de høstet i større kasser og senere pakket til salg. N=antal prøver, cfu=colony forming units, EU=endotoksin enheder.

Identifikation af kilde til eksponering i pakkeri:

Eksponering blev målt gentagne gange i et agurkepakkeri. Det var en rutine i pakkeriet, at der var jobrotation for at beskytte arbejderne mod gentagne bevægelser. I **Tabel 5** har vi vist data hvor aerosol samleren har fulgt hver enkelt person. Da vi målte højere eksponering for især endotoksin end forventet, valgte vi at måle på arbejdsopgaver. Dvs. at hver person skiftede aerosolsampler ved hvert jobskifte. Ved at måle på arbejdsproces frem for person, viste vi at den højeste eksponering fandt sted ved arbejdsopgave 1 og 2 og at det var én enkelt arbejdsopgave, nemlig det at tippe agurkerne ud på samlebandet der forårsagede eksponeringen.

Tabel 5. Eksponering (median) for bioaerosoler under arbejde ved agurkepakkebandet ved jobrotation.													
Date	n	Støv	Endotoksin	Bakterier	β-glucan	Svampe	Total svampe						
		mg m ⁻³	EU m ⁻³	cfu m ⁻³	ng m ⁻³	cfu m ⁻³	sporer m ⁻³						
8/9/2010	4	1.62	A	452	a	9.2x10 ⁴	a	456	a	1.9x10 ⁵	a	2.0x10 ⁶	A
29/9/2010	3	0.88	A	339	a	1.4x10 ⁵	a	496	a	1.8x10 ⁵	a	2.2x10 ⁶	A
12/4/2011	3	0.90	A	92	c	8.7x10 ³	b	294	b	1.3x10 ⁴	b	9.2x10 ⁴	B
8/6/2011*	6	0.58	-	130	-	1.7x10 ⁴	-	306	-	1.6x10 ⁴⁵	-	8.9x10 ⁴	-
13/6/2012	6	0.72	A	197	b	2.4x10 ⁴	b	345	a b	7.6x10 ⁴	a b	4.9x10 ⁵	Ab
9/10/2012	5	0.85	A	507	a	4.8x10 ⁴	a b	456	a	8.9x10 ⁴	a	1.3x10 ⁶	Ab

*Gennemsnit af eksponering under de 6 opgaver ved sampling ved under de specifikke arbejdsopgaver (Tabel 6). Tal i samme søjle efterfulgt af samme bogstav er ikke signifikant forskellige. N=antal prøver, cfu=colony forming enheder, EU=endotoksin enheder.

Tabel 6. Eksposering for bioaerosol komponenter igennem opgave 1 til 6 ved agurkepakke båndet.

	Støv	Endotoksin	Bakterier	Svampe	Svampe
	mg m ⁻³	EU m ⁻³	Cfu m ⁻³	Cfu m ⁻³	Spores m ⁻³
Opgave 1	1.09	198	6.0x10 ⁴	2.5x10 ⁶	2.0x10 ⁷
Opgave 2	1.05	576	1.4x10 ⁵	2.9x10 ⁵	3.1x10 ⁶
Opgave 3	0.76	195	2.7x10 ⁴	2.3x10 ⁴	3.9x10 ⁵
Opgave 4	0.38	53	5.5x10 ³	8.6x10 ³	5.1x10 ⁴
Opgave 5	0.41	65	7.2x10 ³	4.7x10 ³	2.0x10 ⁴
Opgave 6	0.34	47	1.3x10 ³	5.7x10 ³	6.4x10 ⁴

N=number of samples, cfu= colony forming units, EU= endotoxin units.

Konklusion

- Det var muligt at reducere eksponeringen for bioaerosoler ved simple tiltag som at undgå udtørring af agurkeplanter inden rydning.
- Eksposering for bioaerosoler stiger gennem vækstsæsonen.
- Blade i gangareal fører kun til lidt højere eksponering for svampe.
- Fjernelse af blade i gangarealer fører til eksponering for især bakterier og endotoksin.
- Den eksponering der forekommer i agurkepakkeri skyldes hovedsageligt en enkelt arbejdsproces. Det vil derfor være oplagt at anvende lokaludsugning til at reducere eksponeringen.

For yderligere detaljer henvises til vedlagte publikation: *Madsen, A.M., Tendal, K. & Frederiksen, M.W.* 2014. Attempts to reduce exposure to fungi, β -glucan, bacteria, endotoxin and dust in vegetable greenhouses and a packaging unit. *Sci Total Environ.* Vol 468–469, 15, pp. 1112–1121

Eksposering for og forebyggende tiltag til at reducere høj og daglig eksponering for *Bacillus thuringiensis* i en potteplanteproduktion

Bakterien *Bacillus thuringiensis* (Bt) er den aktive organisme i flere forskellige kommercielt tilgængelige biopesticider. Bt baserede insekticider udgør omkring 90% af biopesticid markedet set på verdensplan. *Bt subspecies israelensis* (*Bti*) anvendes imod mygge- og fluelarver. Selv om Bt baserede biopesticider har været anvendt siden 1970'erne er der kun videnskabeligt rapporteret få ulykker. Her kan nævnes et tilfælde af hornhindebetændelse efter en landmand fik produktet Dipel i øjet (42). Epidemiologiske studier har vist at brug af Bt baserede produkter kan føre til risiko for IgE sensibilisering, men ikke til luftvejssymptomer (1). Eksposering for luftbåren *Bt* var ikke målt i disse studier. Ifølge EU litteratur studier kan risikovurderingen af *Bti* produkter ikke afsluttes pga. der mangler viden om ansattes eksponering for toksiner produceret efter udbringning. Der findes ingen grænseværdi for eksponering for *Bt* i arbejdsmiljøet. Kendskab til den daglige eksponering for *Bti* er vigtig i risikovurderingen af *Bti*-baserede produkter. Få studier har undersøgt eksponering for *Bt* i arbejdsmiljøet, og den højeste eksponering er fundet under udbringning af Bt baserede produkter. Bt bliver udbragt på forskellige måder. I nogle gartnerier bliver *Bt* udbragt med en bom som kører hen over borde med pletter med spagnum. Fordelen ved denne metode skulle være, at medarbejderne kun håndterer produktet, når det tilføres bommen. Formålet med denne del af undersøgelsen er:

- at få viden om den daglige eksponering for *Bt israelensis* (produkt navn Bactimos) i en potte og stikkeafdeling og under arbejde med planter tidligere behandlet med *Bti*.

- at identificere kilden til eksponering for *Bti*
- at afprøve et forbyggende tiltag til at reducere den daglige eksponering for *Bti* i en potte og stikkeafdeling i et potteplantedagteri

Materialer og Metoder:

Eksponering:

Eksponering for *Bti* og andre bakterier blev målt gentagne gange i en 800 m² stor potte og stikkeafdeling i et potteplantedagteri. Eksponering blev endvidere målt for folk der arbejder med planter der tidligere var behandlet med Bactimos. Aerosoler blev opsamlet med GSP inhalerbare samplers stationært og personbærent (Figur 1) og bakterier kvantificeret på agar og *Bti* blev identificeret med PCR.

Arbejdsopgaver i dagteriet:

Spagnum blev fyldt i bakker vha en pottemaskine, bakkerne blev placeret på et bord, henover bordet kørte en bom som sprøjtede vand og gødning på spagnummen, herefter kørte bordet under en anden bom der sprøjtede en suspension af *Bti* (Bactimos) på spagnummen. Bordene hvilede en periode og andre biopesticider blev bragt ud, et hvidt plastigtelt blev rejst over planterne, teltet blev åbnet og stiklinger blev stukket og herefter kørte bordene ud af afdelingen igen. Arbejdsopgaverne blev udført dagligt.

Eksponering blev også målt på folk der arbejdede med udsmidning af planter, pakning af planter klar til salg og vanding.

Transportbånd som transporterer borde med bakker med potter med sphagnum						
		Bom 1 Vand+ gød-ning				
Potte maskine	Position 2 3.7×10^5 5.1×10^4	Bom 2 Udbringni ng af Bactimos	Position 12.4×10^5 3.4×10^4			
	1.7×10^5 2.6×10^4					
Bord		Bord	Bord	Bord	Bord	Bord
	Position 3 8.7×10^4 2.5×10^4			1.1×10^5 8.5×10^3		
Bord		Bord	Bord	Bord	Bord	Bord
	1.1×10^5 2.0×10^4				6.5×10^4 1.5×10^4	
Bord		Bord				
	7.0×10^4 1.8×10^4					
Bord		Bord				

Figur 1. Oversigt over potte og stikkerummet hvor personbårne og stationære målinger blev lavet. Tallene er stationære mål af inhalerbare koncentrationer af *Bacillus thuringiensis israelensis* [cfu/m³ air] før og efter (*i kurssiv*) tætning af bom 2.

Intervention for at reducere eksponeringen:

Bommen der sprøjtede Bactimos ud så ud til at være hovedkilden til eksponering. Som et tiltag til at reducere eksponeringen fik gartneriet bygget et rustfrit stålkammer om bommen, så vandsuspensionen med Bactimos ikke skulle blive sprøjtet så meget ud i omgivelserne. Eksponering blev målt før og efter dette kammer blev bygget.

Bt israelensis og andre bakterier i spagnum:

Koncentrationen af *Bti* og total antal dyrkbare bakterier per g spagnum i pottemaskinen og i potter behandlet med Bactimos blev bestemt ved dyrkning og PCR.

Resultater:

Eksponering for Bt israelensis og andre bakterier i stikkeriet:

De ansatte var eksponerede for mellem $2,0 \times 10^4$ og $6,9 \times 10^5$ cfu *Bti* /m³ og for mellem $3,2 \times 10^4$ og $9,5 \times 10^5$ cfu bakterier /m³ - med lidt højere eksponeringer om eftermiddagen end om formiddagen. Stationære målinger blev foretaget rundt i afdelingen (Figur 1) og viste koncentrationer mellem $2,0 \times 10^4$ og $4,0 \times 10^5$ cfu *Bti*/m³ og for mellem $2,1 \times 10^4$ og $6,1 \times 10^5$ cfu bakterier /m³.

Eksponering for Bt israelensis og andre bakterier ved senere arbejdsprocesser:

En andel på 72% af bakterierne var *Bti*. Alle 17 personer som arbejdede med pakning, vanding og udsmidning af planter var eksponerede for *Bti*. Den mediane eksponering for *Bti* var 3200 cfu/m³.

Inflammatorisk potentiale:

En luftprøve fra stikkeriet blev spiked med Bactimos og vi så at prøvens inflammatoriske potentiale steg med en faktor 100.

Bt israelensis og andre bakterier i spagnum:

Bti var til stede i overfladen af spagnummen i pottemaskinen i en koncentration på $3,0 \times 10^3 \pm 151$ cfu/g tør spagnum og i potter behandlet med Bactimos i en koncentration på $5,6 \times 10^6 \pm 2,6 \times 10^3$ cfu/g våd spagnum. *Bti* udgjorde hhv. $0,1\% \pm 0,097$ og $29\% \pm 7$ af det totale antal dyrkbare bakterier i spagnummen i pottemaskinen og i potterne.

Intervention for at reducere eksponeringen:

Et kammer af rustfrit stål blev bygget omkring bommen der sprøjtede Bactimos ud for at undersøge om det kunne reducere eksponeringen for *Bti*; eksponeringen (**Tabel 7**) og koncentrationen af *Bti* rundt om i afdelingen (**Figur 1**) blev reduceret signifikant.

Tabel 7. Tidsvægtet personlig eksponering¹⁾ [cfu/m³] for *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*)²⁾ og bakterier³⁾ før og efter afskærmning af bommen.

	Før, n=12	Efter, n=8	P
	Gennemsnit	Gennemsnit	
	Median	Median	
	Interval	Interval	
<i>Bti</i>	3.2×10^5 3.0×10^5 [1.2×10^5 - 6.6×10^5]	2.3×10^4 1.8×10^4 [1.5×10^4 - 5.6×10^4]	<0.0001
Bakterier	4.2×10^5 3.9×10^5 [1.3×10^5 - 6.9×10^5]	2.9×10^4 2.4×10^4 [2.0×10^4 - 6.8×10^4]	<0.0001

¹⁾Eksponeringen blev målt i 288 til 447 minutter. ²⁾*Bti* isolater blev identificeret med PCR på dets CRY-11 gener. ³⁾Bakterier som kan vokse på nutrient agar.

Diskussion:

Et litteraturstudie viser lidt divergerende resultater mht. helbredseffekter af eksponering for *Bti*. Vi har set i dette studie at *Bti* er inflammogen og et enkelt studie har vist at beboere i et område som var behandlet med Bt fik luftvejsproblemer og maveproblemer (39). Studier i mus har vist at *Bt* kan genfindes i flere organer uger efter eksponering (40, 41). Et EU studie har konkluderet at de ikke kan færdiggøre risikovurdering af *Bti* idet man ikke kender *Bti*'s toksinproduktion efter den er udbragt. I dette studie har vi set at der også er eksponering efter udbringning af *Bti* – men denne eksponering var lavere end i stikkeriet.

Med udgangspunkt i de høje eksponeringer i stikkeriet, *Bti*'s inflammatoriske potentiale og resultaterne i litteraturstudiet aftalte vi med gartneriet at de byggede en afskærmning om bommen der udbringer *Bti*. Gartneriet fik bygget en afskærmning omkring bommen der reducerede eksponeringen for *Bti* signifikant.

I gartneriet var de ansatte eksponeret for bemærkelsesværdigt få bakterier der ikke var *Bti*. Vi har derfor spekuleret på om *Bti* hæmmer vækst af andre bakterier på bladene. Vi kan se at *Bti* kan hæmme gramnegative bakterier i *in vitro* forsøg – men har ikke studier der beskriver at den gør det i feltstudier. Hvis *Bti* hæmmer vækst af gramnegative bakterier kan den måske være med til at reducere eksponering for endotoksin fra gramnegative bakterier. Viden om *Bti*'s eventuelle hæmning af bakterier på blade vil kræve mange nye studier og anvendelse af forskellige doser *Bti* – idet man bør udbringe så få *Bti* som muligt jf. ovenstående.

Arbejdet: 'Eksponering for og forebyggende tiltag til at reducere høj og daglig eksponering for *Bacillus thuringiensis* i en potteplanteproduktion' er afsluttet og er afsendt til publicering.

Erfaringer og konklusioner fra projektet:

Fra projektet konkluderes følgende:

Blandt projektdeltagerne sås en høj forekomst af atopi og sensibilisering overfor potentielt erhvervsrelaterede allergener (lagermider). Som noget helt nyt detekteredes desuden et tilfælde af sensibilisering overfor et nematode-baseret biopesticid.

Projektdeltagerne viste tegn på kronisk inflammatorisk respons i luftvejene i form af generelt forhøjet niveau af nitrogenoxid i udåndingsluften.

Der sås ingen signifikante ændringer i lungefunktionsparametrene over arbejdsugen, og niveauet af inflammationsmarkører i blod og næseskyllevæske var generelt lave i forhold til niveauer fundet i andre undersøgelser af arbejdere udsat for organisk støv.

Mængden af svampe og β -glucan målt i næseskyllevæsken var direkte korreleret til den individuelle eksponering, og svampemængden var større om torsdagen end om mandagen. Mændene havde større mængder svampe og bakterier i næsen end kvinderne.

I potteplantegartneriet måltet høj eksponering for *bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*) i forbindelse med brug af biopesticid indeholdende denne bakterie. *Bti*'s inflammatoriske potentiale samt visse tidligere studier tyder på, at eksponering for *Bti* kan have helbredsmæssige konsekvenser. I potteplantegartneriet reduceredes eksponeringen signifikant ved at bygge en afskærmning om bommen der udbringer *Bti*.

Job-exposure-matrix analyser viste, at få specifikke arbejdsprocesser i potteplantegartneriet havde signifikant indflydelse på de individuelle eksponeringsniveauer. De udviklede statistiske modeller forklarede mellem 16 og 41% af den samlede variation i eksponeringen.

Eksponeringsniveauerne i agurke- og tomatgartnerierne varierede meget afhængig af arbejdsfunktion. Højeste eksponering blev målt under rydning af gamle agurkeplanter. Middel eksponering blev fundet under plukning af tomater, afnapning af blade, opbinding af tomatplanter og under pakning af agurker.

I agurkegartneriet var det muligt at reducere eksponeringen for bioaerosoler ved simple tiltag som at undgå udtørring af agurkeplanter inden rydning.

Den eksponering der forekom i agurkepakkeriet skyldtes hovedsageligt en enkelt arbejdsproces. Det vil derfor være oplagt her at anvende lokaludsugning til at reducere eksponeringen.

I både tomat- og agurkegartneriet steg eksponering for bioaerosoler gennem vækstsæsonen.

Blade i gangarealerne på tomat- og agurkegartnerierne medførte kun til lidt højere eksponering for svampe. Fjernelse af blade i gangarealer førte til eksponering for især bakterier og endotoksin.

Perspektivering:

Projektet dokumenterer et arbejdsmiljømæssigt problem i væksthushgartnerier i form af betydelig udsættelse for organisk støv, og dets indhold af mikroorganismer og biologisk aktive bestanddele i forbindelse med udvalgte arbejdsprocesser i gartnerierne.

Vi har i projektet identificeret de arbejdsprocesser og aktiviteter i arbejdsprocesserne, der fører til den høje eksponering, og vi har udviklet og afprøvet metoder til reduktion af eksponeringsniveauet i kritiske arbejdsprocesser.

De udviklede metoder er direkte anvendelige i andre agurke-, tomat- og potteplantegartnerier og forventes at kunne afhjælpe nogle af de kendte helbredsmæssige konsekvenser ved eksponering for høje niveauer af støv, mikroorganismer og endotoxin.

Der er udviklet modeller til estimering af den individuelle eksponering i et potteplantegartneri baseret på arbejdsregistreringer og eksponeringsmålinger. Modellerne forventes at kunne anvendes i forbindelse med risikovurdering i andre lignende produktioner.

Vi har i projektet desuden dokumenteret et tilfælde af allergi overfor et hyppigt anvendt biopesticid. Det er første gang allergi overfor nematode-baserede produkter er beskrevet. Der er derfor brug for et øget fokus på den sundhedsmæssige betydning ved brugen af biologiske bekæmpelsesmidler i væksthushgartnerier, og yderligere undersøgelser af dosis-respons sammenhænge er nødvendig for udarbejdelse af retningslinjer for brugen.

Publikationer og produkter fra projektet:

Peer reviewede publikationer:

1. *Madsen, A.M., Tendal, K. & Frederiksen, M.W.* 2014. Attempts to reduce exposure to fungi, β -glucan, bacteria, endotoxin and dust in vegetable greenhouses and a packaging unit. *Sci Total Environ.* Vol 468–469, 15, pp. 1112–1121
2. *Madsen, AM, Tendal, K, Thilsing, T, Frederiksen, MW, Baelum, J, Hansen, JV.* 2013. Fungi, β -Glucan, and Bacteria in Nasal Lavage of Greenhouse Workers and Their Relation to Occupational Exposure. *Ann Occup Hyg.* Jun 8.
3. *Thilsing, T. Sherson, D., Madsen, AM. And Baelum, J.* 2012. Type 1 sensitisation against a *Steinernema feltiae* product. *BMJ Case Rep.* Jun 8, 2012.

Andre publikationer:

1. *Baelum, J., Thilsing, T.* Rovmider kan give allergi. 2012. *Gartner Tidende.* Vol 128, Nr 18, s. 12-13.
2. *Thilsing, T.* Gartneriarbejderes helbred skal undersøges. *Fagbladet 3F.*
3. *Thilsing, T.* Gartneriarbejder udvikler allergi overfor rovmider, *Magasinet Dyrlægen.*
4. *Arbejdsmiljø: Mænds næser er mere udsat for svampesporer.* Videnskab.dk
5. *Mandenæser fanger flest svampesporer i gartnerier.* Videncenter for arbejdsmiljø.dk
6. *Stor forskel på indhold af svampesporer i mandlige og kvindelige gartneriarbejderes næser.* Arbejdsmiljøforskning.dk
7. *Stor næse med mange hår er et problem.*
<http://www.dr.dk/P4/Fyn/Nyheder/Fynogoeerne/2013/06/28/162742.htm>

Præsentationer på kongresser mv:

1. Fungi and bacteria in nasal lavage from greenhouse workers as affected by environmental exposure. Presented at ISME14 Congress, August 2012, Copenhagen, Denmark
2. Project on organic dust in greenhouses - Exposure and health effects. Oral posterpræsentation på The Organic Dust Tromsø Symposium, Tromsø, Norge. 2011
3. Organisk støv i væksthushavngartneri - et helbredsproblem? Et igangværende projekt. Posterpræsentation på Arbejdsmiljøforskningsfondens årskonference, København, Danmark.
4. Fungi and bacteria in nasal lavage from greenhouse workers as affected by environmental exposure. Oral præsentation X2012 /th International Conference on the science of exposure assessment
5. Greenhouse workers' exposure to airborne fungi and endotoxin as affected by application of biological control products'. Oral presentation. Tendal, K, and Madsen, AM. At the: Center of Biological Control Inauguration Symposium, April 19-20th, 2012, SLU, Uppsala, Sweden

Publikationer under udarbejdelse:

1. *Madsen, AM, Zervas, T., Matthiessen, C and Tendal (afsendt).* Exposure and preventive measure to reduce high and daily exposure to *Bacillus thuringiensis* in potted plant production
2. *Thilsing, T., Madsen, AM, Bassinas, I, Schlünssen, V, Baelum, J.* Exposure to organic dust, endotoxin, fungi and bacteria among workers in a Danish flower greenhouse – Correlation between measured and estimated exposure levels.
3. *Thilsing, T., Madsen, AM, V, Baelum, J.* Correlation between estimated organic dust exposure and inflammatory markers in blood and nasal lavage of greenhouse workers.
4. *Madsen, AM, Thilsing, T., Tendal, K. and baelum, J..* Association between symptoms of the airways, exposure and nasal deposition of microorganisms of greenhouse workers.

Finansiering af projektet:

Arbejdsmiljøforskningsfonden har støttet nærværende projekt med to bevillinger på hhv kr 2.651.000 til undersøgelser vedr. eksponering og intervention og kr 290.138 til undersøgelser af helbredseffekter.

Referencer:

1. Douwes J, Thorne P, Pearce N, Heederik D. Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. *AnnOccup Hyg.* 2003;47(3):187-200.
2. Baelum J, Larsen P, Doekes G, Sigsgaard T. Health effects of selected microbiological control agents. A 3-year follow-up study. *Annals of agricultural and environmental medicine : AAEM.* 2012;19(4):631-6.
3. Sigsgaard T, Schlunssen V. Occupational asthma diagnosis in workers exposed to organic dust. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine.* 2004;11(1):1-7.
4. Davies PD, Jacobs R, Mullins J, Davies BH. Occupational asthma in tomato growers following an outbreak of the fungus *Verticillium albo-atrum* in the crop. *JSocOccupMed.* 1988;38(1-2):13-7.
5. Doekes G, Larsen P, Sigsgaard T, Baelum J. IgE sensitization to bacterial and fungal biopesticides in a cohort of Danish greenhouse workers: the BIOGART study. *AmJIndMed.* 2004;46(4):404-7.
6. Monso E, Magarolas R, Badorrey I, Radon K, Nowak D, Morera J. Occupational asthma in greenhouse flower and ornamental plant growers. *AmJRespirCrit Care Med.* 2002;165(7):954-60.
7. Smit LA, Spaan S, Heederik D. Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *AmJIndMed.* 2005;48(1):30-9.
8. Smit LA, Wouters IM, Hobo MM, Eduard W, Doekes G, Heederik D. Agricultural seed dust as a potential cause of organic dust toxic syndrome. *OccupEnvironMed.* 2006;63(1):59-67.
9. Darke CS, Knowelden J, Lacey J, Ward AM. Respiratory-Disease of Workers Harvesting Grain. *Thorax.* 1976;31(3):294-302.
10. Halpin DMG, Graneek BJ, Turnerwarwick M, Taylor AJN. Extrinsic Allergic Alveolitis and Asthma in A Sawmill Worker - Case-Report and Review of the Literature. *Occupational and Environmental Medicine.* 1994;51(3):160-4.
11. Müller-Wening D, Renck T, Neuhaus M. *Holtzschnitzelalveolitis.* 1999. p. 364-8.
12. Schmitz-Schumann M, Costabel U, Krempf-Lambrecht L, Matthys H. Exogen allergic alveolitis (EAA) to mouldy wood. 1986. p. 95-.
13. Groenewoud GC, De Jong NW, Burdorf A, De Groot H, Van Wyk RG. Prevalence of occupational allergy to Chrysanthemum pollen in greenhouses in the Netherlands. *Allergy.* 2002;57(9):835-40.
14. Groenewoud GC, De Jong NW, Van Oorschot-Van Nes AJ, Vermeulen AM, van Toorenenbergen AW, Mulder PG, et al. Prevalence of occupational allergy to bell pepper pollen in greenhouses in the Netherlands. *ClinExpAllergy.* 2002;32(3):434-40.
15. Groenewoud GC, de Graaf in 't V, vVan Oorschot-van Nes AJ, De Jong NW, Vermeulen AM, van Toorenenbergen AW, et al. Prevalence of sensitization to the predatory mite *Amblyseius cucumeris* as a new occupational allergen in horticulture. *Allergy.* 2002;57(7):614-9.
16. Farruggia E, Bellia M. [Occupational allergic asthma in greenhouses. Report of a clinical case]. *MedLav.* 2001;92(3):203-5.
17. de Jong NW, van der Steen JJ, Smeekens CC, Blacquiere T, Mulder PG, van Wijk RG, et al. Honeybee interference as a novel aid to reduce pollen exposure and nasal symptoms among greenhouse workers allergic to sweet bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen. *International archives of allergy and immunology.* 2006;141(4):390-5.

18. Skousgaard SG, Thisling T, Bindslev-Jensen C, Baelum J. Occupational asthma caused by the predatory beneficial mites *Amblyseius californicus* and *Amblyseius cucumeris*. *Occup Environ Med*. 2010;67(4):287.
19. Madsen AM, Hansen VM, Nielsen SH, Olsen TT. Exposure to Dust and Endotoxin of Employees in Cucumber and Tomato Nurseries. *Annals of Occupational Hygiene*. 2009;53(2):129-38.
20. Spaan S, Wouters IM, Oosting I, Doekes G, Heederik D. Exposure to inhalable dust and endotoxins in agricultural industries. *Journal of Environmental Monitoring*. 2006;8(1):63-72.
21. Smid T, Heederik D, Houba R, Quanjer PH. Dust-Related and Endotoxin-Related Respiratory Effects in the Animal Feed-Industry. *American Review of Respiratory Disease*. 1992;146(6):1474-9.
22. Sigsgaard T, Bonefeld-Jorgensen EC, Kjaergaard SK, Mamas S, Pedersen OF. Cytokine release from the nasal mucosa and whole blood after experimental exposures to organic dusts. *European Respiratory Journal*. 2000;16(1):140-5.
23. Williams LK, Ownby DR, Maliarik MJ, Johnson CC. The role of endotoxin and its receptors in allergic disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2005;94(3):323-32.
24. Eduard W, Douwes J, Mehl R, Heederik D, Melbostad E. Short term exposure to airborne microbial agents during farm work: exposure-response relations with eye and respiratory symptoms. *Occupational and Environmental Medicine*. 2001;58(2):113-8.
25. Heida H, Bartman F, Vanderzee SC. Occupational Exposure and Indoor Air-Quality Monitoring in A Composting Facility. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 1995;56(1):39-43.
26. Hansen VM, Meyling NV, Winding A, Eilenberg J, Madsen AM. Factors affecting vegetable growers' exposure to fungal bioaerosols and airborne dust. *The Annals of occupational hygiene*. 2012;56(2):170-81.
27. Larsen P, Bælum J. Sundhedsmæssige problemer ved brug af mikrobiologiske bekæmpelsesmidler i væksthuse. København: Miljøstyrelsen, 2002.
28. Omland O, Sigsgaard T, Hjort C, Pedersen OF, Miller MR. Lung status in young Danish rurals: the effect of farming exposure on asthma-like symptoms and lung function. *European Respiratory Journal*. 1999;13(1):31-7.
29. Kogevinas M, Anto JM, Sunyer J, Tobias A, Kromhout H, Burney P. Occupational asthma in Europe and other industrialised areas: a population-based study. *European Community Respiratory Health Survey Study Group. Lancet*. 1999;353(9166):1750-4.
30. Skadhauge LR, Baelum J, Siersted HC, Sherson DL, Dahl S, Thomsen GF, et al. [The occurrence of asthma among young adults. A population-based study in five west Danish counties]. *UgeskrLaeger*. 2005;167(6):648-51.
31. Madsen AM, Kruse P, Schneider T. Characterization of microbial particle release from biomass and building material surfaces for inhalation exposure risk assessment. *AnnOccupHyg*. 2006;50(2):175-87.
32. Schlunssen V, Madsen AM, Skov S, Sigsgaard T. Does the use of biofuels affect respiratory health among male Danish energy plant workers? *Occup Environ Med*. 2011;68(7):467-73.
33. Thisling T, Sherson D, Madsen AM, Baelum J. Type 1 sensitisation against a *Steinernema feltiae* product. *BMJ case reports*. 2012;2012.
34. Kolbeck KG, Ehnhage A, Juto JE, Forsberg S, Gyllenhammar H, Palmberg L, et al. Airway reactivity and exhaled NO following swine dust exposure in healthy volunteers. *RespirMed*. 2000;94(11):1065-72.
35. Heldal KK, Halstensen AS, Thorn J, Djupesland P, Wouters I, Eduard W, et al. Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols. *Occup Environ Med*. 2003;60(6):444-50.
36. Wouters IM, Hilhorst SK, Kleppe P, Doekes G, Douwes J, Peretz C, et al. Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors. *Occup Environ Med*. 2002;59(2):106-12.

37. Cormier Y, Duchaine C, Israel-Assayag E, Bedard G, Laviolette M, Dosman J. Effects of repeated swine building exposures on normal naive subjects. *The European respiratory journal*. 1997;10(7):1516-22.
38. Cormier Y, Israel-Assayag E, Racine G, Duchaine C. Farming practices and the respiratory health risks of swine confinement buildings. *The European respiratory journal*. 2000;15(3):560-5.
39. Petrie K, Thomas M, Broadbent E. Symptom complaints following aerial spraying with biological insecticide Foray 48B. *The New Zealand medical journal*. 2003;116(1170):U354.
40. Barfod K, Smidt, L, Krogfelt, KA, Larsen, TO, Andrup, L. Low translocation of *Bacillus thuringiensis israelensis* to inner organs of mice after pulmonary exposure to commercial biopesticide. *Biocontrol Science and Technology*. 2010;10.
41. Mancebo A, Molier T, Gonzalez B, Lugo S, Riera L, Arteaga ME, et al. Acute oral, pulmonary and intravenous toxicity/pathogenicity testing of a new formulation of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* SH-14 in rats. *Regulatory toxicology and pharmacology* : RTP. 2011;59(1):184-90.
42. Samples, JR, Buettner, H. Ocular infection caused by a biological insecticide. *J Infect Dis*. 1983. Sep;148(3):614.