

Mikrobiologische Methoden zur Gewinnung von Expositionsdaten bei berufsbedingtem Kontakt mit biologischen Arbeitsstoffen an hoch belasteten Arbeitsplätzen

Teil 1: Methodenauswahl

U. Jäckel, J. Schäfer, E. Martin

Zusammenfassung Für die Erstellung einer Gefährdungsbeurteilung beim berufsbedingten Kontakt mit biologischen Arbeitsstoffen ist es wichtig, Informationen über die Belastungssituation sowohl aus qualitativer als auch aus quantitativer Sicht für die entsprechenden Arbeitsbereiche heranzuziehen. Dafür sind keine Arbeitsplatzmessungen vorgesehen. Solche Analysen können allerdings sehr hilfreich sein, wenn z. B. über die Belastungssituation nur sehr wenige Grunddaten vorliegen. In Abhängigkeit von der Fragestellung stehen für Messungen heute unterschiedliche Methoden zur Verfügung. In diesem Beitrag werden aufgrund von praktischen Erfahrungen aus den letzten Jahren Empfehlungen zur Auswahl der geeigneten Messmethoden gegeben.

Microbiological methods for exposure analyses at work-related contact with biological agents at highly contaminated workplaces – Part 1: Available methods

Abstract A risk assessment of occupational exposure to biological agents necessitates adequate information about the workplace-related microbial exposure situation both from a qualitative and from a quantitative point of view. This requires no workplace measurements; however, such analysis can be very useful if no or just a few basic data exist for the exposure situation. Depending on the upcoming questions, different microbial methods are available today. Based on practical experience gained in recent years, in the present manuscript appropriate methods are proposed to obtain the basic information for a risk assessment.

1 Anwendungsbereich

Nach § 5 des Arbeitsschutzgesetzes [1] ist der Arbeitgeber verpflichtet, arbeitsplatzbedingte Gefährdungen zu ermitteln und zu beurteilen. Neben den Gefährdungen, die von Chemikalien, Lärm und/oder mechanischen Einwirkungen ausgehen, sind auch solche, die von „biologischen Arbeitsstoffen“¹⁾ ausgehen können, zu berücksichtigen. Über den normalen, auch im alltäglichen Leben stattfindenden Kon-

takt mit Mikroorganismen hinaus erfahren in Deutschland mehr als 5 Mio. sozialversicherungspflichtige Beschäftigte zusätzliche Belastungen an ihrem Arbeitsplatz. Hierdurch können Infektionsgefährdungen auftreten. Zudem kann das Risiko erhöht werden, Allergien zu entwickeln oder toxischen Bestandteilen ausgesetzt zu sein.

Die Aufnahme von biologischen Arbeitsstoffen über die Haut oder den Mund kann in den meisten Fällen durch entsprechende Hygieneschutzmaßnahmen vermieden werden. Anders sieht es jedoch bei möglichen Expositionen über die Luft aus, da der Atemtrakt schwerer zu schützen und das permanente Tragen von Atemschutz mit einer entsprechenden Belastung des Beschäftigten verbunden ist. Expositionen über die Luft treten vor allem in solchen Wirtschaftsbranchen auf, bei denen die natürlichen Lebensräume der Mikroorganismen, wie z. B. der Boden, das Wasser oder organische Abfälle, mechanisch behandelt werden. Aber auch die Verarbeitung von Pflanzen oder Tieren kann zur deutlichen Freisetzung von Mikroorganismen in die Atemluft führen, da sie mit Mikroorganismen besiedelt sind. Damit sind es vor allem Beschäftigte in der Landwirtschaft, Tierzucht, Abwasserwirtschaft und der Abfallwirtschaft, die Expositionen gegenüber luftgetragenen Mikroorganismen erfahren.

Zur Erstellung einer Gefährdungsbeurteilung beim berufsbedingten Kontakt mit biologischen Arbeitsstoffen sind vom Arbeitgeber vor allem Informationen zu deren auftretenden Arten einzuholen. Außerdem sollte die Expositionshöhe und -dauer bekannt sein. Für Tätigkeiten im Labor sind diese Informationen häufig leicht zu beschaffen, sodass dort die Erstellung einer Gefährdungsbeurteilung relativ einfach ist. Für viele Arbeitsbereiche in den o. g. Wirtschaftsbranchen gibt es jedoch kaum belastbare Daten, aus denen eine Gefährdungsbeurteilung abgeleitet werden kann. Hier können dann Messungen hilfreich sein, um Expositionsdaten zu gewinnen [2]. Für die Informationsbeschaffung gibt es jedoch keine gesetzliche Messverpflichtung.

Um ein möglichst vollständiges Bild des Expositionsszenarios zu erhalten, sollten bei solchen Messungen idealerweise personenbezogene Sammlungen über die gesamte Arbeitszeit im entsprechenden Arbeitsbereich durchgeführt werden. Für Bioaerosolsammlungen hat sich dafür in den vergangenen Jahren das PGP/GSP-Sammelsystem bewährt, das vom Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA) entwickelt wurde [5; 4]. Mit diesem System kann die nach DIN EN 481 definierte einatembare Partikelfraktion auf Filtern unterschiedlicher Materialien gesammelt werden. Die Arbeitnehmer tragen bei diesen Messungen einen auf Schulterhöhe fixierten

¹⁾ Biologische Arbeitsstoffe sind Mikroorganismen, einschließlich gentechnisch veränderter Mikroorganismen, Zellkulturen und humanpathogener Endoparasiten, die beim Menschen Infektionen, sensibilisierende oder toxische Wirkungen hervorrufen können. Ein biologischer Arbeitsstoff im Sinne von Satz 1 ist auch ein mit transmissibler, spongiformer Enzephalopathie assoziiertes Agens, das beim Menschen eine Infektion oder eine übertragbare Krankheit verursachen kann.

Dr. Udo Jäckel, Dr. Jenny Schäfer, Dr. Elena Martin,
Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin,
Berlin.



Bild 1. Einsatz des personengetragenen Sammelsystems, bestehend aus Probenahmekopf (links) und tragbaren Pumpen (rechts).

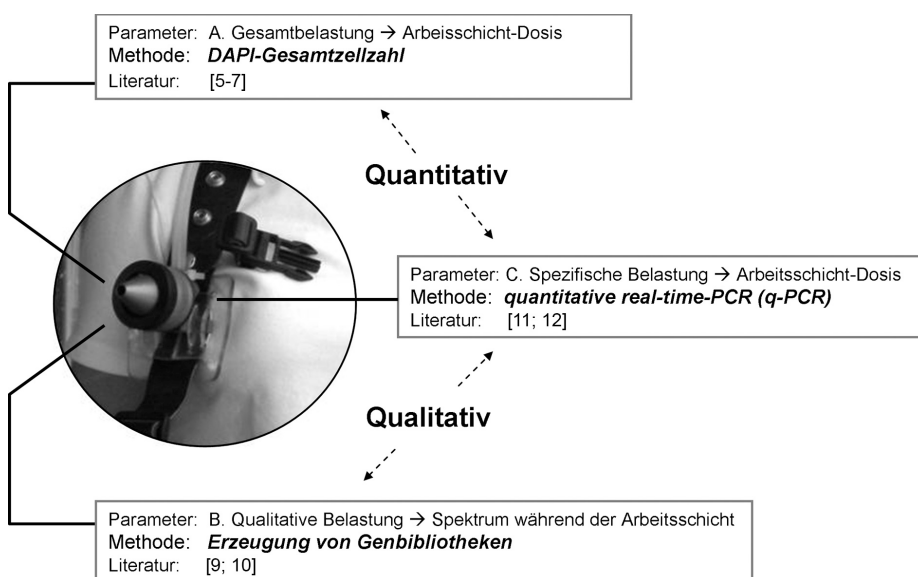


Bild 2. Übersicht der Methoden, die im Anschluss einer personenbezogenen Sammlung durchgeführt werden können.

Ansaugkopf mit sich, während eine tragbare Pumpe an einem Hüftgurt befestigt wird (Bild 1).

Werden Mikroorganismen jedoch über mehrere Stunden auf einen Filter gesaugt, führt der auftretende physikalische Sammelstress, z. B. die Austrocknung, dazu, dass ein unbekannter, z. T. erheblicher Anteil der vorhandenen Mikroorganismen nicht mehr kultivierbar ist. Damit können solche Analysen mit der kultivierungsabhängigen Messmethodik nicht durchgeführt werden. Aus diesem Grund empfiehlt es sich, die hier vorgestellten kultivierungsunabhängigen Methoden (Bild 2) einzusetzen.

2 Methoden

2.1 Gesamtbelastung (DAPI-Gesamtzellzahl)

Ist über die Belastungssituation nur sehr wenig bekannt bzw. besteht nur der Verdacht, dass biologische Arbeitsstoffe in

der Arbeitsplatzatmosphäre vorkommen, kann zunächst über die Gesamtzellzahlbestimmung grundsätzlich festgestellt werden, ob und wie hoch die Gesamtbelastung gegenüber luftgetragenen Schimmelpilzen, Bakterien und Parasiten (als Summenparameter) während der Arbeitsschicht ist. Hierfür wurde in den vergangenen Jahren die Gesamtzellzahlbestimmung nach einer DAPI-Färbung intensiv auf ihre Eignung untersucht und für Arbeitsplatzmessungen empfohlen [5 bis 7]. Treten durchschnittlich mehr als 5×10^5 Zellen pro m^3 Atemluft auf, sollten die Messungen wiederholt bzw. ausgedehnt werden. Der Vergleich der Daten mit den von Klug und Jäckel [4] vorgeschlagenen Expositionskategorien (moderat, mittel und hoch) ermöglicht es dann, die Belastungshöhe aus quantitativer Sicht einzuordnen.

2.2 Qualitative Belastung (Erzeugung von Genbibliotheken)

Handelt es sich um Mischexpositionen unbekannter Zusammensetzung, kann durch den Einsatz weiterer molekularbiologischer Methoden die Identität z. B. der vorhandenen Bakterien auf einer bestimmten Ebene erfasst werden, ohne sie kultivieren zu müssen. Dafür hat sich die Erzeugung von Genbibliotheken, die in anderen Disziplinen der Mikrobiologie bereits erfolgreich eingesetzt wurden

(z. B. [8]), auch für die Arbeitsplatzmessung als geeignet herausgestellt [9; 10]. Über die Analyse der in Bioaerosolproben auftretenden bakteriellen Gene (z. B. 16S-rRNS-Gene) kann dann ermittelt werden, gegenüber welchen Bakterien Expositionen in den jeweiligen Arbeitsbereichen stattfinden. Da viele der heute bekannten und valide beschriebenen Bakterienarten bereits durch den Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (im Unterausschuss 3) auf der Basis ihres Infektionspotenzials und der Behandlungsmöglichkeit einer Erkrankung eingestuft sind (TRBA 462 bis 468), kann ein vermeintliches Risiko am Arbeitsplatz über die Kombination von Expositions- und Einstufungsdaten abgeschätzt werden.

2.3 Quantitative Belastung (quantitative real-time PCR)

Sind für gewisse Arbeitsbereiche Infektionserkrankungen, allergische oder toxische Reaktionen unter den Exponierten

bekannt und können diese bestimmten Arten oder Gruppen von biologischen Arbeitsstoffen zugeordnet werden, kann über den gezielten Einsatz der quantitativen real-time PCR auch deren Anzahl innerhalb der gesammelten Proben quantifiziert werden [11; 12]. Damit ist es möglich, Arbeitsbereiche zu erkennen, an denen Beschäftigte besonders durch diese Mikroorganismen belastet sind. Auf der Basis der erhobenen Daten können dann Schutzmaßnahmen für die jeweiligen Arbeitsbereiche abgeleitet werden.

3 Überprüfung von Schutzmaßnahmen

Häufig werden Arbeitsplatzmessungen mit dem Ziel durchgeführt, die Wirksamkeit festgelegter Schutzmaßnahmen zu überprüfen. Dabei werden meist Summenparameter über die Kultivierung erfasst, die einen ersten Hinweis zur Minderung der Belastungssituation liefern. Hierzu sind auch die in zuvor genannten Methoden geeignet. Sie bieten zudem den Vorteil, gezielte Aussagen sowohl auf quantitativer als auch qualitativer Ebene machen zu können.

4 Ausblick

Molekularbiologische Methoden werden bei Arbeitsplatzmessungen, aber auch bei Bioaerosoluntersuchungen im

Bereich des Umweltschutzes zunehmend an Bedeutung gewinnen. Über die Auswahl der geeigneten Methoden und die zu berücksichtigenden Parameter bei der Anwendung im Bereich des Arbeitsschutzes gibt es bislang nur wenige Informationen. Diese Lücke soll mit diesem dreiteiligen Beitrag geschlossen werden.

Für die Methode der „DAPI-Gesamtzellzahlbestimmung“ zur Messung der Gesamtbelastung wurden in den vergangenen Jahren bereits die Ergebnisse zur Messunsicherheit bzw. der Verfahrenskenngrößen bei Bioaerosolanalysen publiziert [2 bis 4].

Für Arbeitsplatzanalysen durch das Anlegen von Genbibliotheken wurden bisher entsprechende Verfahrenskenngrößen nicht ermittelt, daher wird in Teil 2 dieser Veröffentlichungsreihe vor allem auf Erfahrungen mit dieser Methodik und Ergebnisse von Vergleichsmessungen eingegangen. Der quantitative Nachweis von Gruppen oder Spezies über die real-time PCR wird zukünftig bei Arbeitsplatz- und weiteren Bioaerosolmessungen vermutlich am deutlichsten an Bedeutung gewinnen. Daher widmet sich Teil 3 dieser Veröffentlichungsreihe eingehend den Verfahrensschritten, die bei der Etablierung eines neuen Nachweissystems zu überprüfen bzw. bei bereits beschriebenen Nachweissystemen zu berücksichtigen sind.

Literatur

- [1] Gesetz über die Durchführung von Maßnahmen des Arbeitsschutzes zur Verbesserung der Sicherheit und des Gesundheitsschutzes der Beschäftigten bei der Arbeit (Arbeitsschutzgesetz – ArbSchG) vom 7. August 1996. BGBl. I, S. 1246, zul. geänd. durch Art. 15 Abs. 89 des Gesetzes vom 5. Februar 2009. BGBl. I, S. 160.
- [2] Messungen biologischer Arbeitsstoffe zur Abschätzung eines gesundheitlichen Risikos – Möglichkeiten, Grenzen und Forschungsbedarf nach mehr als 10 Jahren Erfahrungen aus der Praxis. Beschluss 3/2012 des ABAS vom 26. April 2012. www.baua.de/de/Themen-von-A-Z/Biologische-Arbeitsstoffe/ABAS/aus-dem-ABAS/Messungen.html
- [3] Verfahren zur Bestimmung der Schimmelpilzkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz (Kennzahl 9420). In: IFA-Arbeitsmappe Messung von Gefahrstoffen. 30. Lfg., IV/03. Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), Berlin. Erich Schmidt: Berlin 1989 – Losebl.-Ausg. www.ifa-arbeitsmappedigital.de/9420
- [4] Verfahren zur Bestimmung der Bakterienkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz (Kennzahl 9430). In: IFA-Arbeitsmappe Messung von Gefahrstoffen. 32. Lfg., IV/04. Hrsg.: Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV), Berlin. Erich Schmidt: Berlin 1989 – Losebl.-Ausg. www.ifa-arbeitsmappedigital.de/9430
- [5] Klug, K.; Martin, E.; Ernst, S.; Jäckel, U.: Laborinterne Verfahrenskenngrößen der DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol)-Gesamtzellzahlbestimmung in Bioaerosolproben von Arbeitsplätzen Teil I: Zählung und Aufarbeitung nach Fixierung. Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft 70 (2010) Nr. 10, S. 399-403.
- [6] Klug, K.; Jäckel, U.: Laborinterne Verfahrenskenngrößen der DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol)-Gesamtzellzahlbestimmung in Bioaerosolproben von Arbeitsplätzen. Teil II: Aufarbeitungsvorschrift: Lager-, Fixier-, Färbezeiten. Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft 70 (2010) Nr. 10, S. 404-407.
- [7] Klug, K.; Jäckel, U.: Erfassung der Exposition gegenüber biologischen Arbeitsstoffen über die Arbeitsschicht mithilfe der Gesamtzellzahlbestimmung. Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft 72 (2012) Nr. 9, S. 373-378.
- [8] Thummes, K.; Kämpfer, P.; Jäckel, U.: Temporal change of composition and potential activity of the thermophilic archaeal community during the composting of organic material. Syst. Appl. Microbiol. 30 (2007), S. 418-429.
- [9] Martin, E.; Jäckel, U.: Characterization of bacterial contaminants in the air of a duck hatchery by cultivation based and molecular methods. J. Environ. Monit. 13 (2011), S. 464-470.
- [10] Fallschissel, K.; Klug, K.; Kämpfer, P.; Jäckel, U.: Detection of airborne bacteria in a German turkey house by cultivation-based and molecular methods. Ann. Occup. Hyg. 54 (2010), S. 934-943.
- [11] Fallschissel, K.; Kämpfer, P.; Jäckel, U.: Direct detection of salmonella cells in the air of livestock stables by real-time PCR. Ann. Occup. Hyg. 53 (2009), S. 859-868.
- [12] Schäfer, J.; Klug, K.; van Kampen, V.; Jäckel, U.: Quantification of *Saccharopolyspora rectivirgula* in composting plants: Assessment of the relevance of *S. rectivirgula*. Ann. Occup. Hyg. (2013). doi:10.1093