



Institut für Prävention und Arbeitsmedizin
der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung
Institut der Ruhr-Universität Bochum

Analyse organischer Staubkomponenten auf Entzündungsmediatoren mittels Vollblutassay

Monika Raulf

19. Juni 2018, Wiesbaden

22. Pilztagung - gemeinsame Fachtagung für biogene Schadstoffe

Berufsverband
Deutscher
Baubiologen e.V. **VDB**



Umwelt
Bundes
Amt
Für Mensch und Umwelt

RUHR
UNIVERSITÄT
BOCHUM

RUB

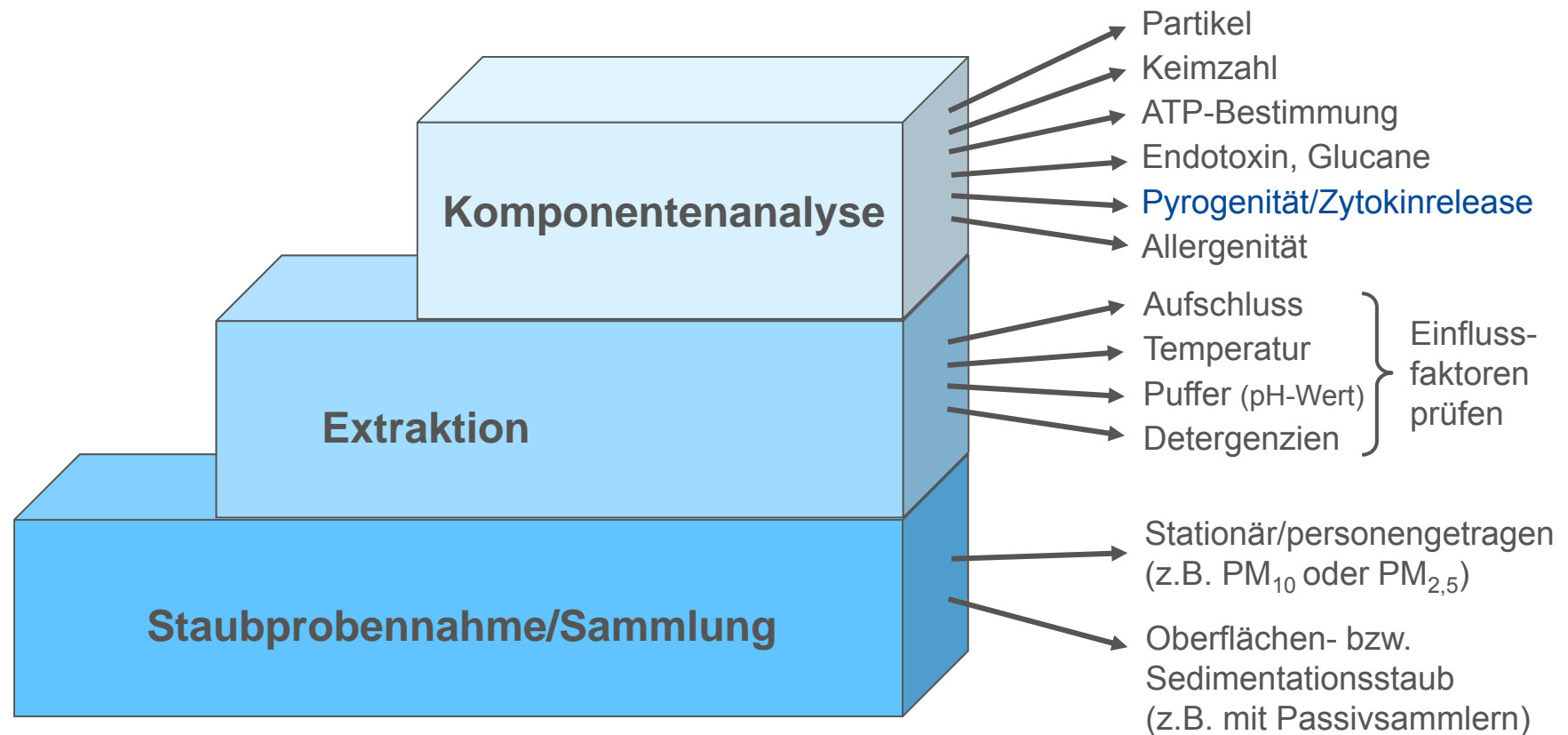
Organische Stäube/Bioaerosole

Bioaerosole: komplexe Gemische

(Bakterien, Schimmelpilze (lebend und/oder tot), Endotoxine, Mykotoxine
Glucane, Allergene u.a.)

⇒ **Analyse?**

Analyse von Bioaerosolen



Liebers V, Brinkert S, Brüning T, Raulf-Heimsoth.
Allergologie 2012, 35: 413-424

Messverfahren

Analyse von arbeits- bzw. umweltplatzrelevanten Proben

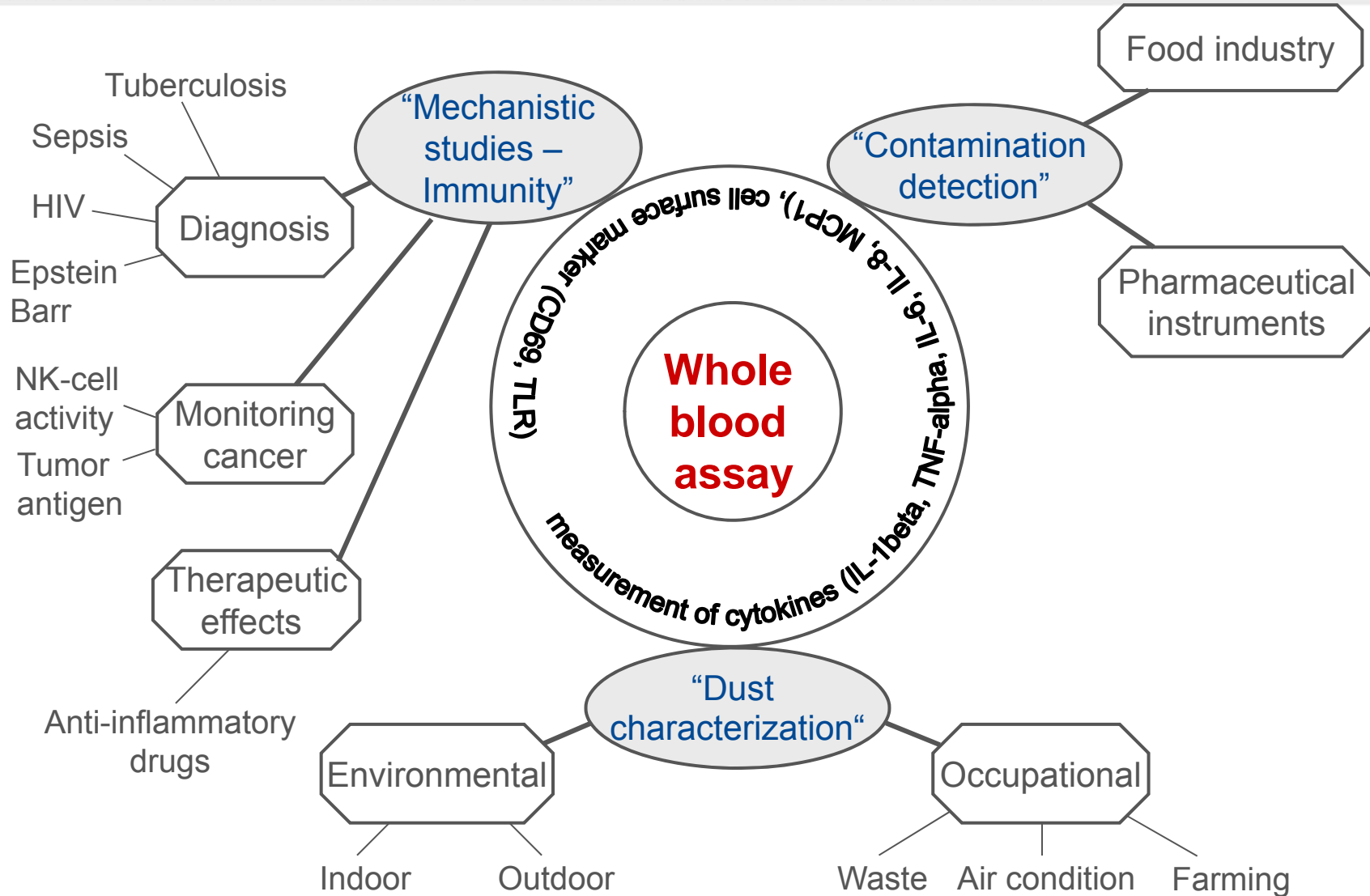
Komponenten erfassen

- ⇒ Chemische Komponenten (Ammoniak, Mykotoxine etc.)
- ⇒ Allergene quantifizieren (z.B. Milbenantigene, Immunoassays)
- ⇒ Mikroorganismen - Bakterien/Schimmelpilze (koloniebildende Einheiten KBE, Gesamtzellzahl, ATP (Hy-LiTE))

Wirkung der Proben erfassen

- ⇒ Kaninchentest
- ⇒ Endotoxinaktivität - Limulus-Amöbocyten-Lysat-Test (LAL-Test) – Leitsubstanz?
- ⇒ Pyrogene/Inflammatorische Aktivität – **Vollbluttest (VBT):** Summenparameter für mikrobielle Belastung?

Einsatz des Vollbluttest (VBT)



Der Vollbluttest (VBT)

- stellt eine Möglichkeit dar, um das proinflammatorische bzw. pyrogene Potential von Staubfilterproben bzw. von mikrobiellen Einzelkomponenten zu beschreiben
- Ursprünglich wurde er als Ersatz für den LAL-Test entwickelt.
- In einem 2-Stufen-Verfahren (1. Schritt: Inkubation des Blutes z.B. mit dem Staubextrakt; 2. Schritt: Bestimmung der freigesetzten Zytokine z.B. IL-1 β mittels ELISA) wird dabei ermittelt, welche Botenstoffe aus Zellen einer definierten Menge humanen Vollbluts durch den jeweiligen Staubextrakt freigesetzt werden.
- Zur Charakterisierung von Arbeitsplätzen liegen bisher überwiegend Ergebnisse des VBT mit frischem Blut vor.
- In vielen Fällen gute Übereinstimmung zwischen LAL-Test und IL-1 β -Freisetzung.

- Allerdings ist zu bedenken, dass die Korrelation zwischen LAL-Test und VBT von der Art der Probe abhängt: die Anwesenheit von Komponenten aus Gram-negativen Bakterien sorgt für eine hohe Korrelation, da ihre Endotoxine sowohl im LAL-Test als auch (indirekt) im VBT nachgewiesen werden können.
- Sind die Staubextrakte dagegen reich an Gram-positiven Bakterien, Schimmelpilzen und/oder anderen mikrobiologischen Komponenten mit hoher pyrogener Aktivität, werden diese im LAL-Test nicht erfasst.
- Wird der VBT mit frischem Blut einzelner Spender durchgeführt, lassen sich vor allem Informationen zur individuellen Suszeptibilität gegenüber bioaerosolbedingten Entzündungsreaktionen ableiten.

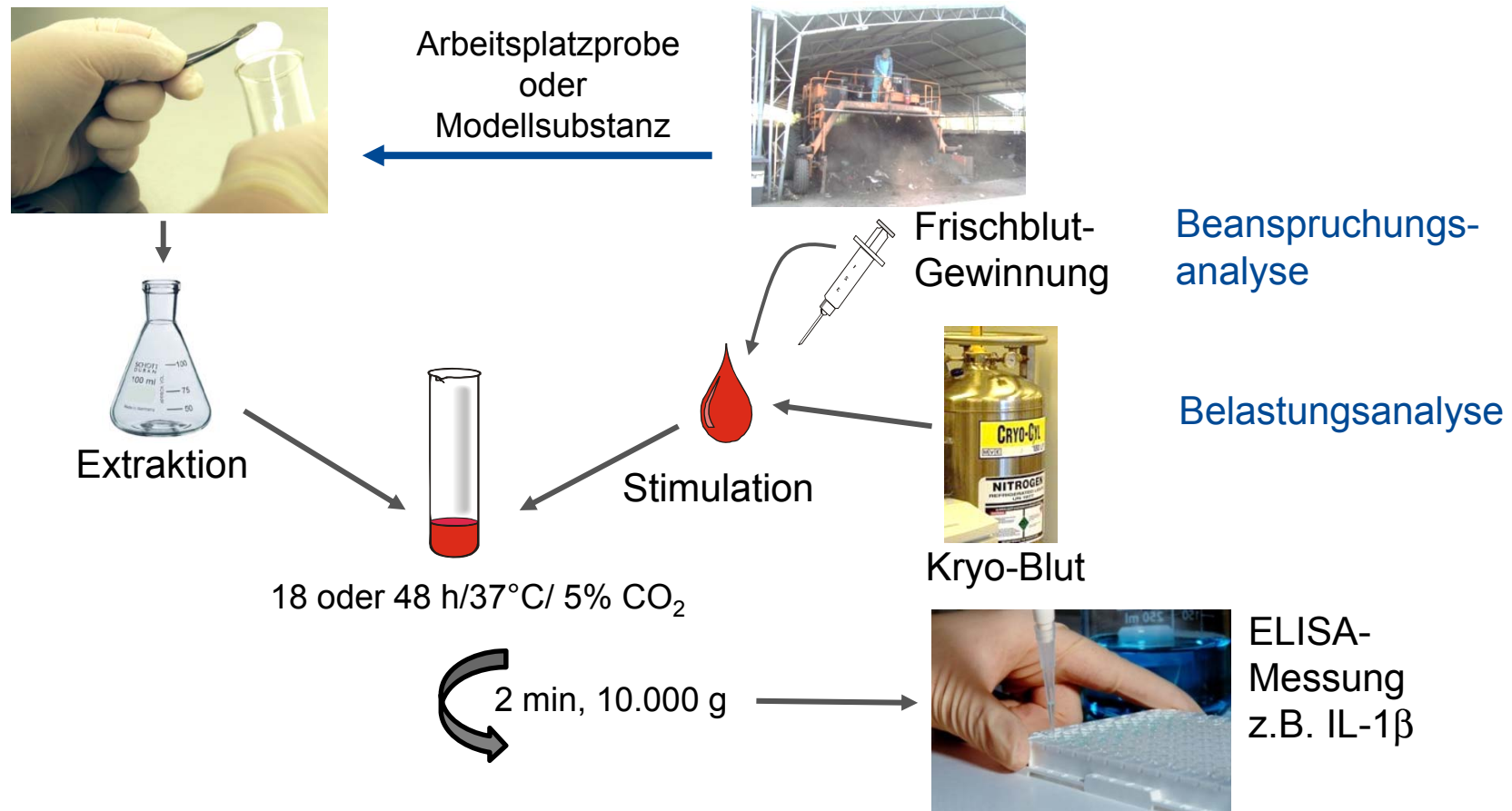
- Wenn frisches humanes Blut eingesetzt wird, ist die gemessene pyrogene Aktivität ein Maß für die individuelle biologische Reaktion auf einen gegebenen Stimulus (**Beanspruchungsparameter**).
- Setzt man dagegen kryo-konserviertes humanes Blut ein, erlaubt die gemessene pyrogene Aktivität eine Aussage über den Stimulus, also z.B. die Staubprobe.
- Der Test kann somit zur Beurteilung einer Belastung eingesetzt werden (**Belastungsparameter**) und erlaubt die Überprüfung und den Vergleich der Mediatoren-freisetzungskapazität von unterschiedlichen Proben.
- Die IL-1 β -Messung wird beim Einsatz des VBT bevorzugt eingesetzt.

Zelluläre Wirkmechanismen

Charakterisierung der Wirkmechanismen von organischen Stäuben durch

- » **Beanspruchungsanalyse**
(immunologische Reaktion der betroffenen Person)
- » **Belastungsanalyse (Analyse der Staubprobe)**

Vollbluttest (VBT): Durchführung



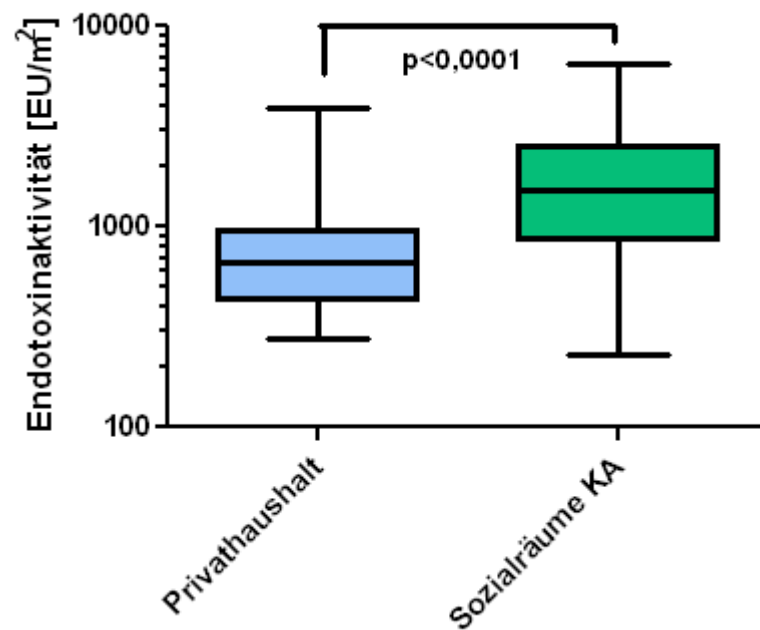
Standardisierungsmöglichkeiten

- Individuelle Spender \Rightarrow größere Variabilität
- Eingeschränkte Verfügbarkeit

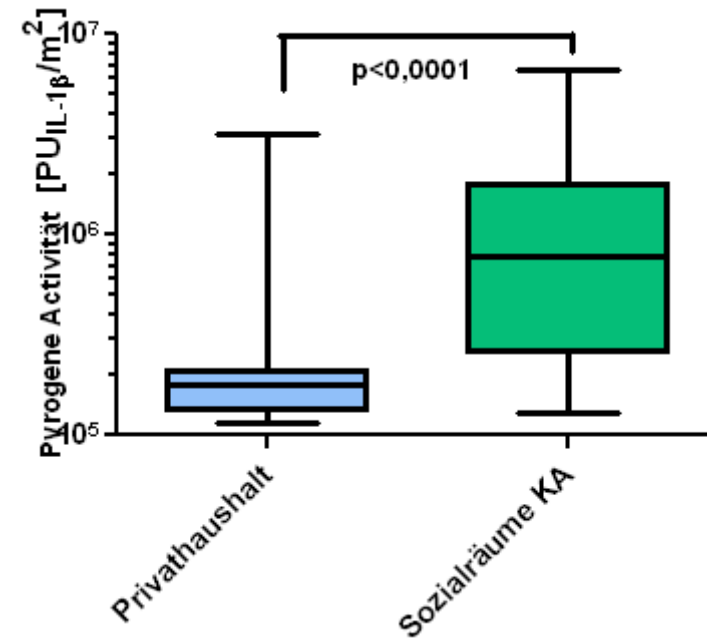
Strategie:

Verwendung von Kryo-konserviertem Blut –

Endotoxinaktivität



Pyrogene Aktivität



Passivstaubsammlung in Privathaushalten (n= 27) und Sozialräumen von Kompostanlagen (n = 31)

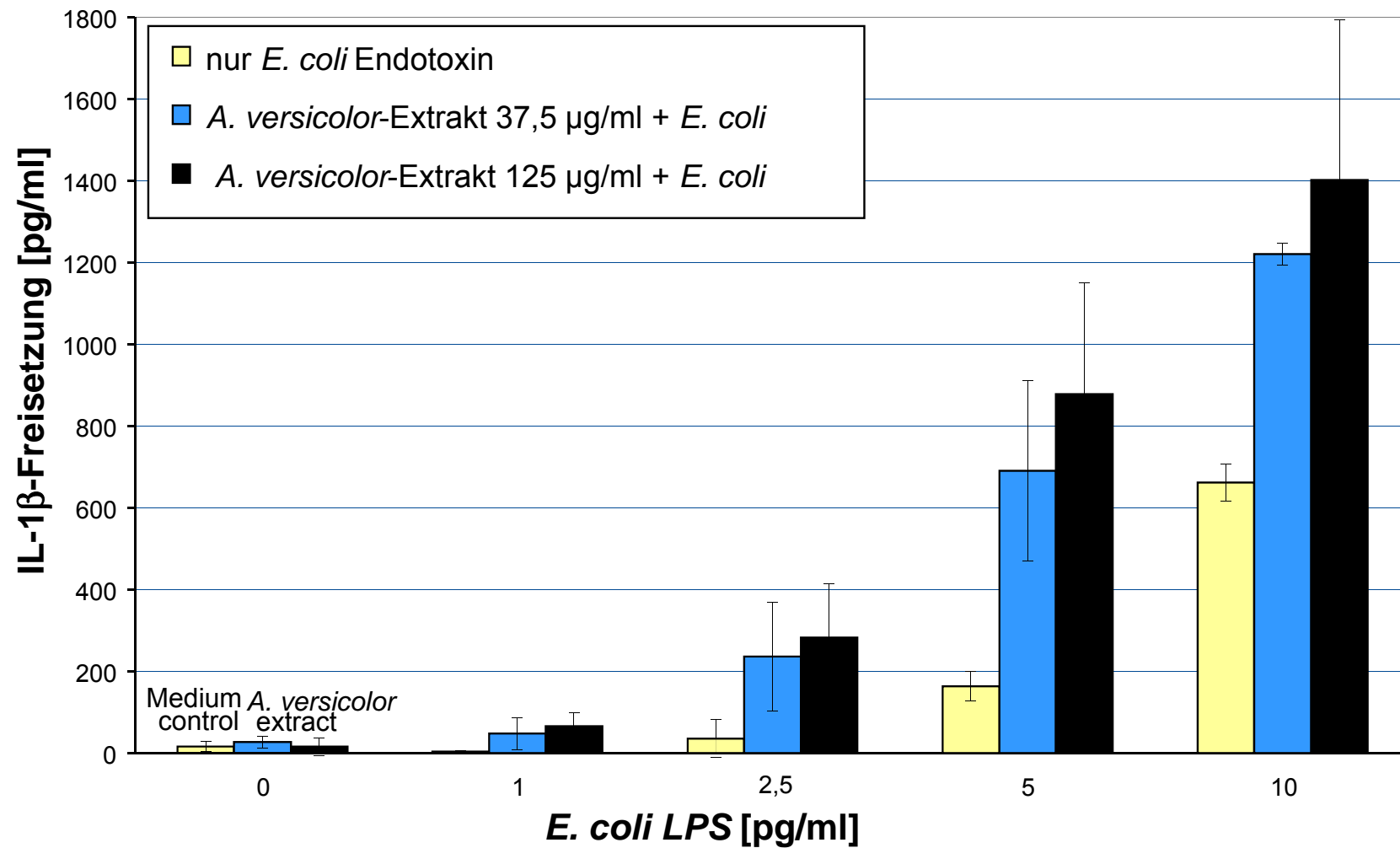
Liebers V et al. Assessment of airborne exposure to endotoxin and pyrogenic active dust using electrostatic dustfall collectors (EDCs). J Tox Environmental Health 2012; 75:501-507

Stimuli - spezifische Aktivierung

PAMPs	Rezeptor (PRR)
<ul style="list-style-type: none"> • LPS-<i>E. coli</i> (Gram-negative Bakterien) • Mannan (<i>C. albicans</i>) 	TLR-4
<ul style="list-style-type: none"> • Peptidoglykane (Gram-positive Bakterien) • Lipoproteine (Mycobakterien) • Lipopeptid (Pam₃ Cys)^{*1} • Zymosan A (Zellwandbestandteil von <i>Saccharomyces cerevisiae</i>^{*2}) 	TLR-2
<ul style="list-style-type: none"> • β-Glucane von <i>A. fumigatus</i> • Curdlan (lineares β-1,3-Glucan aus <i>Agrobacterium biovar</i> bzw. <i>Aliccaligenes faecalis</i>) 	Dectin-1

^{*1}spezifischer TLR-1/TLR-2-Ligand, ^{*2}über TLR-2/TLR-6-Komplex und Dectin-1

Synergistische Effekte von LPS und *A. versicolor*



Originalarbeit 619

Organischer Staub am Arbeitsplatz: Messung der pyrogenen Aktivität

Organic Dust at Workplaces: Measurement of Pyrogenic Activity

Pneumologie 2010; 64: 619 – 625

Autoren

V. Liebers, S. Brinkert, H. Stubel, T. Brüning, M. Raulf-Heimsoth

Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 75:501–507, 2012
Copyright © Taylor & Francis Group, LLC
ISSN: 1528-7394 print / 1087-2620 online
DOI: 10.1080/15287394.2012.674919



ASSESSMENT OF AIRBORNE EXPOSURE TO ENDOTOXIN AND PYROGENIC ACTIVE DUST USING ELECTROSTATIC DUSTFALL COLLECTORS (EDCs)

Verena Liebers, Vera van Kampen, Jürgen Bünger, Maria Düser, Heike Stubel,
Thomas Brüning, Monika Raulf-Heimsoth

Allergologie, Jahrgang 35, Nr. 8/2012, S. 413–424

Bioaerosole – mehr als nur Allergene: komplexe Situationen an Arbeitsplätzen

V. Liebers, S. Brinkert, T. Brüning und M. Raulf-Heimsoth

Int Arch Occup Environ Health (2004) 77: 136–141
DOI 10.1007/s00420-003-0479-9

SHORT COMMUNICATION

Jakob Hjort Bonlokke · Mads Thomassen · Sven Viskum
Oyvind Omland · Eva Bonefeld-Jørgensen
Torben Sigsgaard

**Respiratory symptoms and ex vivo cytokine release are associated
in workers processing herring**

[International Journal of Hygiene and Environmental Health 216 \(2013\) 402–407](#)

Determination of inflammatory responses to *Aspergillus versicolor* and endotoxin with human cryo-preserved blood as a suitable tool

Stefanie Punsmann*, Verena Liebers, Heike Stubel, Thomas Brüning, Monika Raulf-Heimsoth

Institute of Prevention and Occupational Medicine, German Social Accident Insurance (IPA), Institute of the Ruhr-Universität Bochum, Bochum, Germany

OPEN ACCESS Freely available online



**Ex Vivo Cytokine Release and Pattern Recognition
Receptor Expression of Subjects Exposed to Dampness:
Pilot Study to Assess the Outcome of Mould Exposure to
the Innate Immune System**

Stefanie Punsmann*, Verena Liebers, Anne Lotz, Thomas Brüning, Monika Raulf

Zusammenfassung

- Pyrogene Aktivität von Staubproben kann mittels VBT erfasst werden
- Stimulusabhängige Mediatorenfreisetzung (unterschiedliche PRRs)
- VBT liefert zusätzliche Informationen zur Beurteilung einer Probe im Vergleich zu herkömmlichen Methoden

Forschungsbedarf → Beurteilung → Risikoabschätzung