

Endotoxine und Bakterien im Befeuchterwasser von Raumluftechnischen Anlagen in Büroräumen

K. Pohl, A. Kolk, E. Arnold, M. Raulf-Heimsoth

Zusammenfassung Eine stichprobenartige Untersuchung von Befeuchteranlagen in 16 Bürobetrieben hatte zum Ziel, die Qualität des Befeuchterwassers nach VDI 6022 Blatt 1 zu überprüfen und nach den Hygieneanforderungen zu beurteilen. Neben dem Gehalt an Bakterien und Endotoxinen wurden der Proteingehalt, die Antigenität und die pyrogene Aktivität der Befeuchterwasserproben bestimmt. Für vier Bürobetriebe, deren Befeuchterwasser zunächst hohe mikrobielle Kontaminationen aufwies, wurden bei einer zweiten Messserie sowohl Befeuchterwasserproben untersucht als auch Raumlufmessungen durchgeführt. Im Befeuchterwasser aus 17 von 35 Raumluftechnischen (RLT-)Anlagen wurde der Orientierungswert nach VDI 6022 von 1 000 KBE/ml für Bakterien überschritten. Die Analysen der Raumlufproben zeigten, dass die Konzentration von Bakterien und Endotoxinen sowohl am Lüftungsauslass als auch in der Raumluf der Außenluftkonzentration entsprach. Eine potenzielle Gefährdung des Wartungspersonals von RLT-Anlagen besteht jedoch, da bei deren Reinigung Aerosole eingeatmet werden können. Deshalb sind bei diesen Beschäftigten persönliche Schutzmaßnahmen und eine arbeitsmedizinische Vorsorge erforderlich.

Endotoxins and bacteria in the humidifier water of air conditioning systems for office rooms

Abstract A random sample study of humidifier equipment in 16 office businesses aimed to test the quality of humidifier water against VDI 6022 part 1 and evaluate it according to hygienic standards. Aside from the content of bacteria and endotoxins, the protein content, antigenicity, and pyrogenic activities were also determined for the humidifier water samples. In four of the office businesses whose humidifier water at first showed high microbial contamination, a second measurement series studied both their humidifier water samples and their room air measurements. The orientation value of 1,000 KBE/ml for bacteria given in VDI 6022 was exceeded in the humidifier water in 17 of 35 technical air devices. The analyses of the room air samples indicated that the concentration of bacteria and endotoxins found in both the ventilator vents and in the room air itself corresponded to outside air concentrations. Yet there still is a potential hazard for the maintenance personnel working on technical room air equipment because aerosols could be inhaled as the equipment is serviced. This means that personal protective measures and occupational medical attention is necessary for these workers.

1 Einleitung

Bisher geht man davon aus, dass schlecht gewartete Raumluftechnische (RLT-)Anlagen mit mikrobiell verunreinigtem Befeuchterwasser die Raumluf mit Bakterien und Endotoxinen belasten können [1; 2] Die Inhalation solcher

Organismen und Stoffe kann Erkrankungen wie die Befeuchterlunge (exogene allergische Alveolitis, EAA) oder das Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) auslösen. Solche Erkrankungsfälle werden in der Literatur z. B. für Beschäftigte in Druckereien oder auch in Textilbetrieben mehrfach beschrieben [3 bis 7]. Eine stichprobenartige Untersuchung von Befeuchteranlagen in Bürobetrieben hatte zum Ziel, die Qualität des Befeuchterwassers nach VDI 6022 Blatt 1 [8] zu überprüfen und nach den Hygieneanforderungen zu beurteilen.

2 Material und Proben

Für die Untersuchung wurden in 16 Bürobetrieben insgesamt 54 Materialproben aus 35 Befeuchteranlagen und dazugehörigen Wasserzuleitungen (Referenzwerte) entnommen. Das Baujahr der Anlagen lag in den 1970er Jahren (10 %), 1980er Jahren (60 %), 1990er Jahren (25 %) und im 21. Jahrhundert (5 %).

Im mikrobiologischen Labor des Berufsgenossenschaftlichen Instituts für Arbeitsschutz – BGIA wurden die Befeuchterwasserproben auf ihren Gehalt an Bakterien (Gesamtkoloniezahl auf CaSo-Agar, Inkubation bei 30 °C und Auswertung nach 24 bis 72 h), auf das Vorkommen von Legionellen (Verfahren gemäß ISO/CD 11731-2) [9] und auf den Gehalt an Endotoxinen untersucht. Zur Bestimmung der Endotoxinaktivität in den Befeuchterwasserproben wurde der chromogen-kinetische Limulus-Amöbocyten-Lysat-(LAL)-Test eingesetzt. Die Messung erfolgte in Anlehnung an das für die Untersuchung von Luftproben beschriebene Standardverfahren [10]. Es wurde der Testkit Kinetic-QCI der Fa. Cambrex Bio Science Walkerville Inc., Walkerville, Maryland, USA, verwendet. Im Bereich Allergologie/Immunologie des Berufsgenossenschaftlichen Forschungsinstituts für Arbeitsmedizin (BGFA) wurden weiterhin der Proteingehalt nach Lowry im Mikrotestverfahren, die pyrogene Aktivität mithilfe des sogenannten In-vitro-Pyrogentests (IPT) und die Antigenität, d. h. Nachweis der Immunoglobulin G(IgG)-bindenden Komponenten, der Proben bestimmt [11]. Der IPT erlaubt über die Bestimmung der Konzentration der Endotoxine von gramnegativen Bakterien hinaus auch die Detektion von bakteriellen und anderen Pyrogenen (Fieber auslösenden Substanzen). Der Test wurde in Anlehnung an das von der Arbeitsgruppe Prof. Hartung, Universität Konstanz, entwickelte Pyrogencheck-Verfahren durchgeführt. Er beruht auf folgendem Prinzip: Nach Kontakt mit entsprechenden Pyrogenen werden aus weißen Blutkörperchen (Monozyten und Granulozyten) *in vitro* Signalstoffe ausgeschüttet, die die Reaktion des Körpers steuern und die Krankheitssymptome letztendlich mitbewirken. Zur Durchführung des Tests wurde verdünntes heparinisertes Blut mit den Befeuchterwasserproben zusammengebracht, 16 h bei 37 °C inkubiert und anschließend wurden die freigesetzten proinflammatorischen Mediatoren, in unserem Fall Interleukin-1 β (IL-1 β) mittels ELISA-Technik (ELISA, enzyme-

Dr. med. Elisabeth Arnold, Dr. rer. nat. Klaus Pohl,

Verwaltungs-Berufsgenossenschaft, Mainz.

Dr. rer. nat. Annette Kolk,

Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz – BGIA, Sankt Augustin.

Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Monika Raulf-Heimsoth, Berufsgenossenschaftliches Forschungsinstitut für Arbeitsmedizin (BGFA) Institut der Ruhr-Universität Bochum, Bochum.

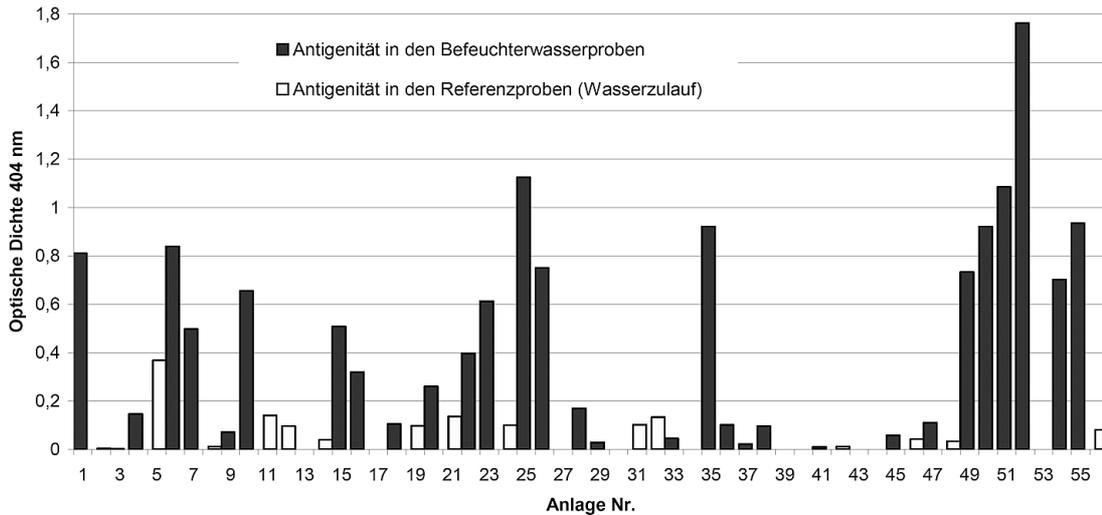


Bild 1. Antigenität der Befeuchterwasserproben: Optische Dichte bei 404 nm (Antigenitätsbestimmung – Differenz zwischen positiven und negativen Seren).

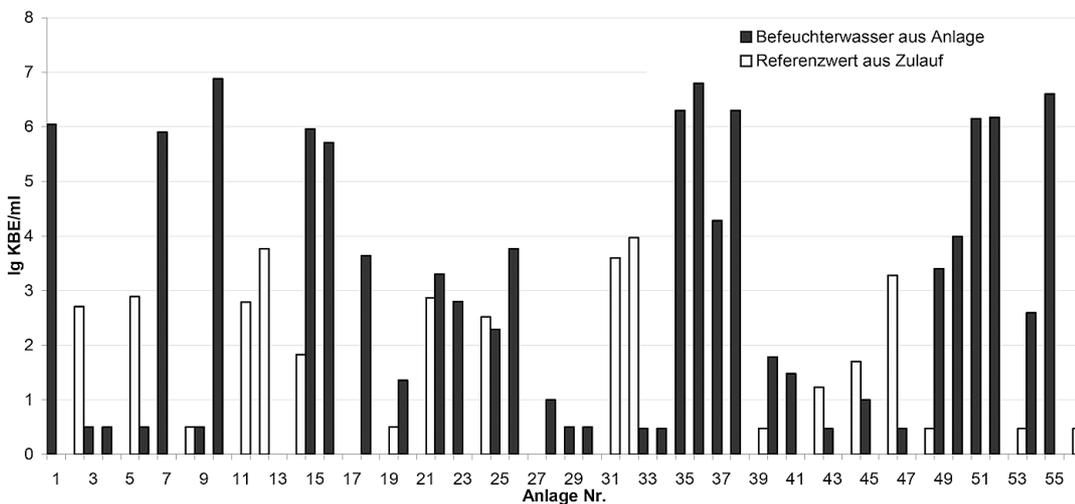


Bild 2. Bakterien-Gesamtkoloniezahl im Befeuchterwasser (KBE/ml, logarithmische Darstellung).

linked immuno sorbent assay) quantifiziert. Die Nachweisgrenze für den IL-1B-Test liegt bei 3,9 pg/ml. Die Antigenität des Befeuchterwassers wurde mit drei unterschiedlichen Seren (Verdünnung 1 : 2 500) bestimmt. Es handelt sich um zwei Seren, die negativ auf ein Standard-Befeuchterwasser reagierten, d. h. keine signifikante Bindung an Befeuchterwasser-Antigene aufwiesen, und um ein Serum mit positiver Reaktion auf Standard-Befeuchterwasser. Die optische Dichte bei 404 nm wird als Maß der Antikörperbindung und damit der Antigenität bewertet. Als erhöhte Antigenität wird im vorliegenden Fall eine Absorption bei 404 nm bewertet, die größer ist als der zweifache Mittelwert der Negativkontrolle (Bild 1).

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchungen des Befeuchterwassers

3.1.1 Bakterien (Gesamtkoloniezahl GKZ)

Die Ergebnisse zeigen deutliche Überschreitungen des Orientierungswertes nach VDI 6022 Bl. 1 von 1 000 (10^3) KBE/ml¹⁾ für Bakterien in 17 von 35 Sprühbefeuchteranlagen. Elf der 35 Anlagen hatten sogar mehr als 500 000 ($10^{5,7}$)

KBE/ml (Proben 1, 7, 10, 15, 16, 35, 36, 38, 51, 52 und 55). Die höchste Bakterienkonzentration lag bei 7 500 000 ($10^{6,9}$) KBE/ml (Probe 10). Nachträgliche Recherchen ergaben, dass diese Anlage zum Zeitpunkt der Probenahme ohne die sonst übliche Zugabe von Desinfektionsmittel betrieben wurde. Dieser technische Mangel wurde anschließend sofort behoben. Die 18 Referenzwerte wiesen mit Ausnahme von vier Proben (Probe 12, 31, 32, 46) Gesamtkeimzahlen von weniger als 1 000 KBE/ml Bakterien auf (Bild 2).

3.1.2 Legionellen

In keiner der untersuchten Wasserproben wurden Legionellen nachgewiesen.

3.1.3 Endotoxine (LAL-Test)

Endotoxine sind hitzestabile Bestandteile von Bakterien. Sie können bei Menschen, abhängig von der Konzentration in der Luft, akute Symptome eines Inhalationsfiebers auslösen, z. B. Husten, Fieber, Muskel- und Gliederschmerzen. Ist man Endotoxinen längerfristig in höheren Konzentrationen aus-

¹⁾ KBE = Kolonie bildende Einheiten

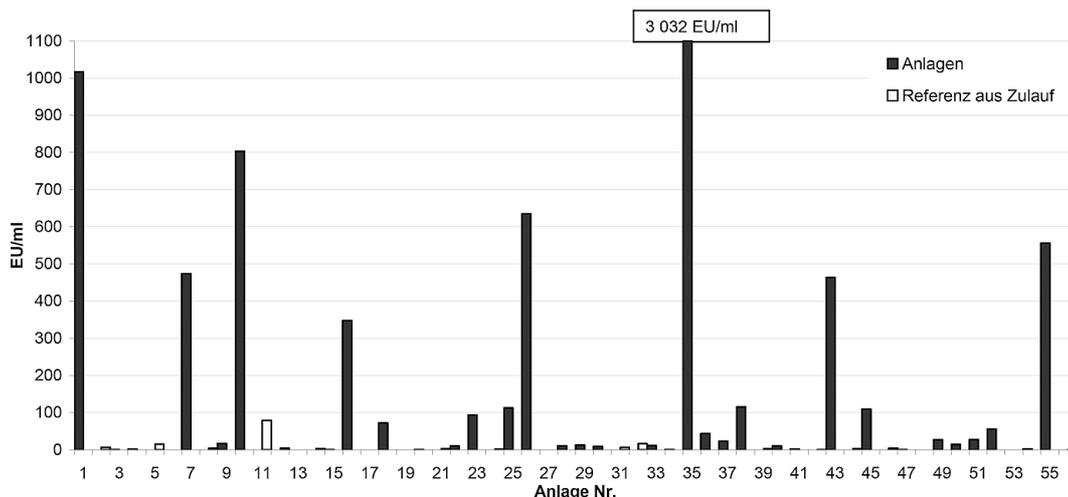


Bild 3. Endotoxinaktivität im Befeuchterwasser von RLT-Anlagen in 16 Bürobetrieben.

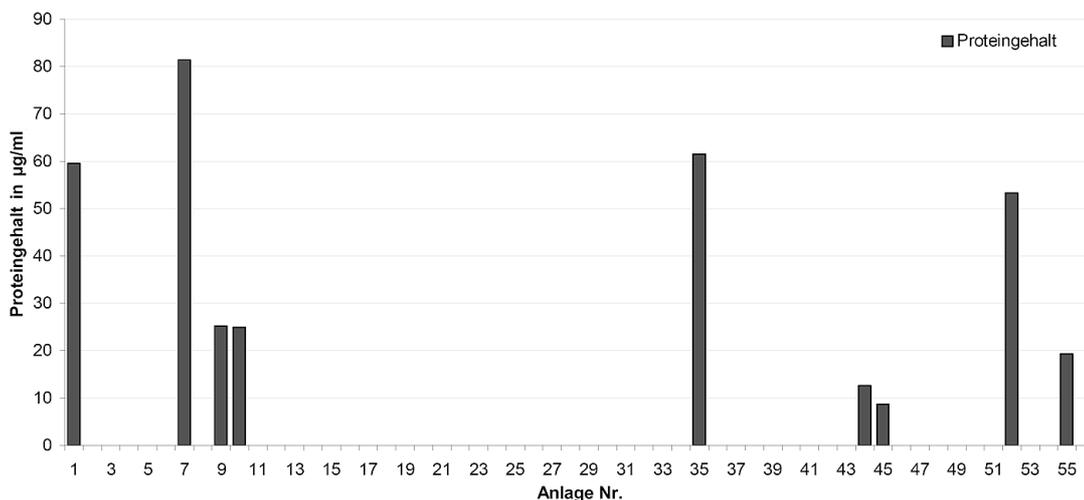


Bild 4. Proteingehalt im Befeuchterwasser.

gesetzt, kann es zu chronischen Lungenerkrankungen kommen. Aus bakteriell besiedeltem Wasser können Endotoxine als Aerosole freigesetzt werden. Zur Bestimmung der Endotoxinaktivität in den Befeuchterwasserproben wurde der chromogen-kinetische Limulus-Amöbocyten-Lysat (LAL)-Test eingesetzt; die höchste Endotoxinaktivität betrug 3 032 EU²⁾/ml (Probe 35, Bild 3). Ein Orientierungswert wurde für diese Messgröße bisher nicht festgelegt.

3.1.4 Proteingehalt und Bestimmung der Interleukin-1 β -Freisetzungskapazität mittels modifiziertem Pyrogentest (IPT)

Nur in neun Befeuchterwasserproben konnte die Proteinkonzentration quantifiziert werden (Anlagen 1, 7, 9, 10, 35, 44, 45, 52 und 55) (siehe Bild 4). In den restlichen Proben lag sie unterhalb der Nachweisgrenze von 10 μ g/ml.

Mithilfe des modifizierten Pyrogentestes IPT wurde die pyrogene Aktivität der Befeuchterwasserproben analysiert. Bild 5 zeigt in logarithmischer Auftragung, dass durch einige Befeuchterwasserproben die im Test verwendeten Zellen derart stimuliert wurden, dass IL-1 β in erhöhtem Maße freigesetzt wurde.

²⁾ EU = Endotoxin units

3.1.5 Antigenität (mit negativen und positiven Kontrollseren)

Bild 1 zeigt, dass 18 Befeuchterwasserproben eine erhöhte Antigenität aufweisen.

3.2 Untersuchungen der Raumluft

In vier Bürobetrieben, deren Befeuchterwasser in den Voruntersuchungen eine hohe mikrobielle Kontamination aufwies, wurden bei einer wiederholenden Messung neben der Befeuchterwasser-Materialprobe auch Raumluftmessungen für Endotoxine und Bakterien durchgeführt. Jede Befeuchteranlage war in einer RLT-Anlage integriert und wurde regelmäßig gewartet. Die angefeuchtete Luft durchströmte mehrere Filtersysteme (F5, F7 und F9 nach DIN EN 799) und wurde erst danach in die Büroraumluft abgegeben.

3.2.1 Ergebnisse aus vier Betrieben

Die in der Tabelle aufgeführten Daten aus Material- und Luftproben zeigen, dass die mikrobielle Belastung des Befeuchterwassers in der Büroraumluft nicht wiederzufinden ist. Vielmehr entspricht die Konzentration von Bakterien und Endotoxinen am Lüftungsauslass und im Raum selbst der

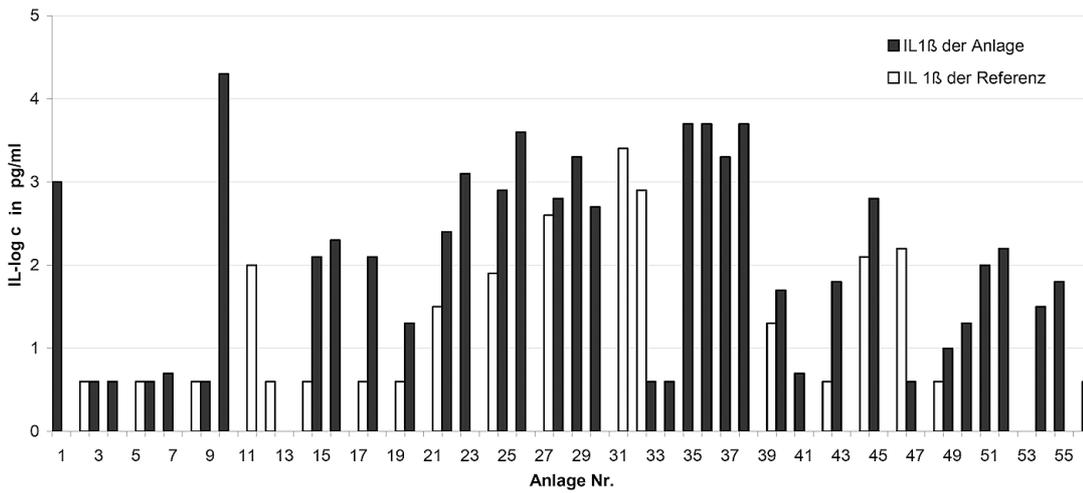


Bild 5. Interleukin-1β-Freisetzungskapazität mittels modifiziertem Pyrogentest IPT.

Ergebnisse der Materialproben und der Luftproben.

Betrieb 1: November 2005					
Bakterien	Materialprobe	Raumluftprobe	Luftauslass	Außenluft	
Anlage 1	60 KBE/ml	115 KBE/m ³	190 KBE/m ³	185 KBE/m ³	
Anlage 2	30 KBE/ml	< 10 KBE/m ³	< 10 KBE/m ³		
Referenz	17 KBE/ml				
Endotoxine					
Anlage 1	10,22 EU/ml	0,76 EU/m ³		1,60 EU/m ³	
Anlage 2	1,58 EU/ml	0,12 EU/m ³			
Referenz	0,40 EU/ml				
Betrieb 2: November 2005					
Bakterien	Materialprobe	Raumluftprobe	Luftauslass	Außenluft	
A-Bau	< 3 KBE/ml	75 KBE/m ³	10 KBE/m ³	75 KBE/m ³	
Referenz A	50 KBE/ml				
B-Bau	10 KBE/ml	80 KBE/m ³	30 KBE/m ³		
Referenz B	1900KBE/ml				
Endotoxine					
A-Bau	463,4 EU/ml	1,18 EU/m ³		0,80 EU/m ³	
Referenz A	3,1 EU/ml				
B-Bau	108 EU/ml	0,20 EU/m ³			
Referenz B	3,8 EU/ml				
Betrieb 3: November 2005					
Bakterien	Materialprobe	Raumluftprobe	Luftauslass	Außenluft	
Anlage 1	6,6 x 10 ⁶ KBE/ml	310 KBE/m ³	315 KBE/m ³	215 KBE/m ³	
Anlage 2	1,9 x 10 ⁴ KBE/ml	130 KBE/m ³	130 KBE/m ³		
Anlage 3	2,0 x 10 ⁶ KBE/ml				
Referenz Anlage 3	< 3 KBE/ml				
Endotoxine					
Anlage 1	43,8 EU/ml	0,43 EU/m ³		0,44 EU/m ³	
Anlage 2	23,3 EU/ml	0,19 EU/m ³			
Anlage 3	115,2 EU/ml				
Referenz Anlage 3	2,9 EU/ml				
Betrieb 4: Januar 2006					
Bakterien	Materialprobe	Raumluftprobe	Luftauslass	Ref-Büro	Außenluft
Wäscher/Halle	4,0 x 10 ⁶ KBE/ml	1 365 KBE/m ³	385 KBE/m ³		245 KBE/m ³
Referenz	< 3 KBE/ml				
Seminarraum				> 26280 KBE/m ³	
Endotoxine					
Wäscher/Halle	556 EU/ml	26,1 EU/m ³			
Referenz	0,455 EU/ml				
Seminarraum				5 EU/m ³	

Außenluftkonzentration. Das zusätzlich untersuchte Artenspektrum aus Betrieb 4 ergab ebenfalls keine Hinweise auf eine Übertragung von Bakterien in die Raumluft. Während im Befeuchterwasser nur *Pseudomonas*-Arten gefunden wurden, wurden in der Raumluft nur *Micrococcus*-Arten und *Acinetobacter* bestimmt. Dieses Ergebnis wird durch die Erfahrungen der Abteilungen Arbeitsmedizin und Leistung der Verwaltungs-Berufsgenossenschaft (VBG) unterstützt, da es aus Bürobereichen von Verwaltungsbetrieben in den vergangenen Jahren keine entsprechenden Berufskrankheiten-Anzeigen gab. Auch unveröffentlichte Mitteilungen anderer Mitarbeiter im Berufsgenossenschaftlichen Messsystem Gefahrstoffe (BGMG) unterstreichen diese Resultate. Darüber hinaus findet man bestätigende Hinweise in betriebsinternen Messberichten anderer Mitgliedsbetriebe der VBG. Eine Gefährdung des Wartungspersonals von Befeuchteranlagen ist jedoch nicht auszuschließen. So besteht die Möglichkeit, dass Techniker beim Reinigen der Anlagen Aerosole einatmen. Sie sollten sich deshalb durch das Tragen von Persönlicher Schutzausrüstung – Atemschutz FFP2, Schutzbrille und Schutzhandschuhen – vor entsprechenden Einwirkungen schützen.

4 Diskussion und weiteres Vorgehen

Beim Vergleich der 54 Befeuchterwasserproben war in vielen Fällen eine Übereinstimmung von Auffälligkeiten der einzelnen Parameter zu beobachten. In allen Tests fielen die Befeuchterwasserproben Nr. 1, 7, 10, 16, 26, 35, 52 und 55 auf. Erhöhte Werte sprechen für eine erhöhte mikrobielle Belastung. Die Pearson-Korrelation ergab zwischen der Bakterienkonzentration und dem Proteingehalt einen Wert von $r = 0,34$ und zwischen der Bakterienkonzentration und der Antigenität von $r = 0,33$. Damit besteht aber kein enger Zusammenhang zwischen den ausgewerteten Parametern. Der für einen hygienisch einwandfreien Betrieb Raumlufttechnischer Anlagen in Büroräumen in der Richtlinie VDI 6022 Blatt 1 vorgegebene Orientierungswert von

1 000 KBE/ml für die Bakterien-Gesamtkeimzahl wurde bei nahezu der Hälfte der untersuchten Befeuchterwasserproben aus Bürobetrieben nicht eingehalten. Elf der 35 Befeuchteranlagen zeigten eine Gesamtkeimzahl für Bakterien von mehr als 500 000 KBE/ml. Der Praktiker vor Ort sieht sich konstruktionsbedingten Problemen gegenüber. Handlungsbedarf liegt bei der Planung von Befeuchteranlagen, besonders der Revisionsöffnungen und hier konkret bei der Zugänglichkeit von beiden Seiten, damit z. B. Wärmetauscher, Tropfenabscheider und Luftleitbleche hygienisch einwandfrei gewartet werden können.

In der Raumluft wurde im Vergleich zur Außenluft keine signifikante Erhöhung der Konzentration von Bakterien und Endotoxinen beobachtet. Eine mögliche Erklärung ist das Vorliegen der Biologischen Arbeitsstoffe als Aerosol, das aufgrund von frühzeitigen Abscheidungen an Filtern und im Leitungssystem dann im Büroraum nicht mehr vorhanden ist. Unterstützt wird dieses Ergebnis durch die Erfahrungen aus der Arbeitsmedizin, dass in Bezug auf das Berufskrankheitengeschehen in den letzten Jahren keine relevanten Erkrankungen bei Beschäftigten in Bürobereichen beobachtet wurden.

Soweit dieses Ergebnis für den Bürobereich beruhigend ist, sollte dennoch auf die erhebliche Gefährdung des Wartungspersonals von Befeuchteranlagen hingewiesen werden. Dieses Personal muss vor der zu erwartenden mikrobiellen Belastung und der Gefahr der Inhalation von Aerosolen durch Persönlichen Atemschutz FFP2 sowie das Tragen von Schutzbrille, Schutzkleidung und Schutzhandschuhen geschützt werden. Des Weiteren sind arbeitsmedizinische Vorsorgeuntersuchungen nach der Biostoff- und Gefahrstoffverordnung verpflichtend bzw. anzubieten.

Danksagung

Wir danken allen Mitarbeitern in der Analytik, besonders Frau Angelika Flagge, BGFA, Bochum, und für die Luftprobenahmen Frau Margot Maskus und Herrn Dipl.-Biol. Gerd Schneider, BGIA, Sankt Augustin.

Literatur

- [1] Hugenholtz, P.; Fuerst, J. A.: Heterotrophic bacteria in an air-handling system. *Appl. Environm. Microbiol.* 58 (1992) Nr. 12, S. 3914-3920.
- [2] Senkpiel, K.; Ohgke, H.: Aquatische Mikroorganismen in einem durch Düsenbefeuchter erzeugten Wasser-/Luft-Aerosol. *Forum Städte-Hygiene* 46 (1995), September/Okttober, S. 297-300.
- [3] Kateman, E.; Heederick, D.; Pal, M. D.; Smeets, M.; Smid, T.; Spitteler, M.: Relationship of airborne microorganisms with the lung function and leucocyte levels of workers with a history of humidifier fever. *Scand. J. Work Environm. Health* 16 (1990), S. 428-433.
- [4] Baur, X.: Befeuchterlunge und Befeuchterfieber, Allergische Erkrankungen durch Luftbefeuchter und Klimaanlage. *Dtsch. Ärztebl.* 86 (1989), S. 1864-1868.
- [5] Küter, B.: Gefährdung durch Bakterien und Schimmelpilze in Luftbefeuchtern und Klimaanlage von Druckereien – Technische Prävention. *Zbl. Arbeitsmed.* 43 (1993), S. 293-295.
- [6] Engelhart, S.; Sennekamp, J.; Gilges, S.; Pleischl, S.; Exner, M.: Arbeitsplatzbezogene Beschwerden bei Exposition gegenüber mikrobiell kontaminiertem Befeuchterwasser. *Gefahrstoffe – Reinhalt. Luft* 60 (2000), S. 65-69.
- [7] van Kampen, V.; Papenfuß, F.; Baur, X.; Küter, B.; Raulf-Heimsoth M.: Vergleich des Erkrankungsrisikos hinsichtlich einer exogen allergischen Alveolitis durch kontaminiertes Befeuchterwasser bei Beschäftigten in zwei Druckereien. *Atemw.-Lungenkrkh.* 27 (2001), S. 351-352.
- [8] VDI 6022, Blatt 1: Hygiene-Anforderungen an Raumlufttechnische Anlagen und Geräte. Berlin: Beuth 2006.
- [9] Pleischl, S.; Frahm, E.; Langer, B.; Märtesheimer, I.; Richter, T.; Szewzyk, R.; Schaefer, B.; Schwien, U.; Treder, W.: Ergebnisse eines Ringversuchs zum Vergleich zweier Nachweisverfahren für Legionellen in Wasserproben aus dem DIN ad-hoc-Arbeitskreis „Legionellen“. *Bundesgesundheitsbl. Gesundheitsforsch. Gesundheitsschutz* 42 (1999), S. 650-656.
- [10] Verfahren zur Bestimmung der Endotoxinkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. In: *Messung von Gefahrstoffen – BGIA-Arbeitsmappe*. Kennzahl 9450, 28. Lfg. IV/02. Hrsg.: Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitsschutz – BGIA. Erich Schmidt, Berlin 1989 – Losebl.-Ausg.
- [11] Raulf-Heimsoth, M.; Franke, G.; Küter, B.; Flagge, A.; Gellert, B.; Brüning, T.: Bestimmung immunologischer Parameter zur Überprüfung der Effektivität des Desinfektion raumlufttechnischer Anlagen. *Allergologie* 26 (2003), S. 322-324.