

**Wetenschappelijk ondersteuningsprogramma ter bescherming van de werknemers**

**programma PS 50/47 en PS 50/48**

**Validatie van de microbiologische en chemische methoden ter controle van de arbeidsplaats.**

**EINDRAPPORT**

**1. Auteurs**

Dr. Nicole Nolard <sup>1</sup> (Promotor), Dr Camille Chasseur <sup>1</sup>

Professor Michel Marlier <sup>2</sup>, Professor Georges Lognay <sup>2</sup>

(1) Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid  
Afdeling Mycologie  
Juliette Wytsmanstraat 14 - 1050 Brussel  
Tel.: 02/642 55 17 - Fax.: 02/642 55 19  
[n.nolard@iph.fgov.be](mailto:n.nolard@iph.fgov.be) - [c.chasseur@iph.fgov.be](mailto:c.chasseur@iph.fgov.be)  
Programma PS 50/47

(2) Unité de Chimie générale et Organique  
Faculté universitaire des Sciences Agronomiques  
de Gembloux  
2, Passage de Déportés - 5030 Gembloux  
Tel : 081/62.22.26 - Fax : 081/62.22.27  
[m.marlier@fsagx.ac.be](mailto:m.marlier@fsagx.ac.be) - [lognay.g@fsagx.ac.be](mailto:lognay.g@fsagx.ac.be)  
Programma PS 50/48

**2. Sleutelwoorden:** binnenklimaten, gezondheid van de werknemers, microbiologische contaminaties, biomerkers

**3. Inleiding :**

De problemen van biocontaminatie in de binnenklimaten (woning en werkomgeving) hebben geleid tot een bewustwording van hun invloeden op de gezondheid en de moeilijkheid om de verschillende parameters te omlijnen.

Het doel van dit onderzoeksprogramma bestaat erin om objectieve en efficiënte analytische methoden te ontwikkelen die het mogelijk maken om de aanwezigheid van biologische (schimmels en bacteriën) en chemische (ergosterol, mycotoxinen, MVOCs, endotoxinen, ...) agentia te evalueren, die door schimmels en bacteriën worden geproduceerd en schadelijk kunnen zijn in de werkomgeving.

Dit onderzoek is gesteund op 2 complementaire hoofdlijnen:

- a. De ontwikkelingen voor wat betreft de microbiologische aspecten houden de wijze van staalname in, het gebruik van aangepaste supplementaire milieu's, de verfijning van de centielwaarden van de voorafgaande werkzaamheden alsook het diversifiëren van de bezochte sites. Bij de samenwerking van de 2 onderzoeksteams heeft het WIV de uitbreiding van de website [www.indoorpol.be](http://www.indoorpol.be) uitgewerkt, om aldus een breder gebied te bestrijken voor wat betreft de biocontaminatie (industriële- en landbouwsectoren, ziekenhuizen, scholen, kinderkribben, zwembaden en vrijetijdscentra, ...).
- b. Gelijktijdig werd de hoeveelheid van schimmelbiomerkers (ergosterol, MVOCs, ...) door de FUSAGx bekeken: chromatografische en spectrometrische procedures werden op punt gesteld. De toepassing van deze procedures in het kader van het opvolgen van airconditioningssystemen heeft als doel objectieve drempelwaarden te bepalen (centielwaarden) die stimuleren om preventieve maatregelen te nemen en verbeteringen aan te brengen. Met het WIV werden andere arbeidsplaatsen bezocht..

Het project steunt op een geheel van gecoördineerde methoden tussen beide partners en vestigt de aandacht op de vereiste interdisciplinariteit. Tijdens de werkzaamheden heeft het college van deskundigen, elke 6 maand, de evolutie van de werkzaamheden kunnen controleren en specifieke beleidsvoorstellen kunnen adviseren waarmee rekening werd gehouden.

## 4. Methode

Dit onderzoek beoogt naar het invoeren van onderzoeksprocedures, de controle van de arbeidsplaatsen door het gebruik van beproefde microbiologische technieken en het analytisch onderzoek van specifieke biomerkers van micro-organismen (ergosterol, endotoxinen, MVOCs).

De experimenten werden op de volgende arbeidsplaatsen uitgevoerd:

- Kantoorgebouwen, met of zonder airconditioning
- Gebouwen met archieven, boeken
- Gebouwen voor industrieel gebruik (draadsnij-olie)
- Laboratorium dat gecontamineerde materie manipuleert
- Gebouw voor agro-industrieën (meelindustrie)

Een algemene voorstelling van de gebruikte methoden kan men bekijken op de vernieuwde versie van de website [www.indoorpol.be](http://www.indoorpol.be). De details van de procedures van staalname en de analyses zijn terug te vinden in het volledige eindrapport. Zij omvatten :

### A. Procedures van staalname

- Staalname van de lucht voor microbiologische analyses (herlevende kiemen, ergosterol, MVOCs)
- Staalname van stof dat zich bevindt op een glad medium, voor microbiologische analyses (herlevende kiemen)
- Staalname van vloeistoffen voor microbiologische analyses (herlevende kiemen, ergosterol, endotoxinen)
- Staalname van stof uit tapijt en aanverwanten voor microbiologische en biochemische analyses

### B. Analyseprocedures

- Herlevende microflora (lucht, oppervlakte, vloeistoffen en stof)
- Biochemische analyses (ATP, endotoxinen, ergosterol, MVOCs)

## 5. Resultaten

### Kantoorgebouwen: studie van de luchtbevochtigers in luchtbehandelingsinstallaties

De verspreiding van micro-organismen en hun restanten in het werkmilieu kan een onaangenaamheidsfactor veroorzaken. Rekening houdend met de specificiteit van deze microflora is de bekomen immuniteit niet aangepast aan dit type van potentiële aanvaller.

Richtwaarden die op centielwaarden zijn gebaseerd betreffende de microbiologische- en biochemische evaluaties worden hieronder vermeld.

Water luchtbevochtiger - Conductiviteit	
Centielen	µS/cm
5	85
25	620
50	824
75	1135
95	2470

Water luchtbevochtiger - pH	
	pH-eenheid
Gemiddelde	8,35
Standaardafwijking	1,06
Min :	4,25
Max :	10,77

Water luchtbevochtiger - Bacteriën 25°C – CFU/ml		
Centiel	Berekende waarden	Afgeronde waarden
5	110	100
25	3.700	5.000
50	23.000	25.000
75	165.500	200.000
95	1.887.000	2.000.000

Water luchtbevochtiger - Bacteriën 37°C – CFU/ml		
Centiel	Berekende waarden	Afgeronde waarden
5	0	0
25	63	50
50	600	500
75	8.825	10.000
95	590.000	500.000

Water luchtbevochtiger – Schimmels 25°C – CFU/ml		
Centiel	Berekende waarden	Afgeronde waarden
5	0	
25	2	
<b>50</b>	<b>11</b>	<b>10</b>
75	63	<b>50</b>
95	548	<b>500</b>

Vanuit kwalitatief standpunt, de geïdentificeerde schimmels in 417 luchtbevochtigers behoren in hoofdzaak tot de geslachten :

*Exophiala spp.* (44%), *Acremonium spp.* (37%), *Phoma spp.* (17%), *Phialophora spp.* (9%), *Black Yeast* (7%), *Fusarium spp* (6%)

Water luchtbevochtiger - ATP – lichteheid		
Centiel	Berekende waarden	Afgeronde waarden
5	18	<b>20</b>
25	250	<b>250</b>
<b>50</b>	<b>680</b>	<b>700</b>
75	2.300	<b>2.500</b>
95	9.000	<b>10.000</b>

Centielen	Ergosterol	
	Sediment	Water
25	-	-
<b>50</b>	<b>0.9</b>	-
75	<b>3</b>	<b>30 &lt; E &gt; 90</b>
90	<b>5.5</b>	<b>150 &lt; E &gt; 490</b>
	<b>µg/g</b>	<b>ng/l</b>

Een voorlopige schaal « van netheid » wordt gevormd op basis van de centielen 50, 75 en 90/95, dat een hulpmiddel kan zijn bij de beslissing voor de onderhoudsverantwoordelijke om preventieve- of curatieve maatregelen te nemen.

Voorstel van hulpmiddel bij de beslissing ingeval van microbiologische contaminatie van water van een luchtbevochtiger	
tussen 0 en 75	bevredigende beoordelingsstaat op het vlak van fungi
tussen 75 en 95	op te volgen; opnieuw een staal nemen 15d ná een onderhoud
groter dan 95	identificeren en oplossen van het probleem 15d ná een volledig onderhoud

### Brassicasterol

De zwarte gisten behorend tot de geslachten *Exophiala sp.* en *Phialophora* zijn zeer frequent aanwezig in luchtbevochtigers. Een grondige analyse van de gevormde sterolen van 12 *Exophiala jeanselmei* - stalen heeft, naast ergosterol, geleid tot het aantonen van een bijkomende molecule : **brassicasterol**

Water luchtbevochtiger - Endotoxinen		
Centile	Berekende waarden	Afgeronde waarden te onthouden
25	18	
<b>50</b>	<b>46</b>	<b>50</b>
<b>60</b>	<b>75</b>	
<b>70</b>	<b>107</b>	<b>100</b>
75	146	
90	298	
95	549	<b>&gt;500</b>
In eenheden UE/ml (Eenheden Endotoxinen per ml) 10 UE/ml = 1 ng/m		

Voorstel van hulpmiddel bij de beslissing in functie van de gemeten concentratie aan endotoxinen in water van luchtbevochtiger	
<50 UE/ml	bevredigende beoordelingsstaat
>50 en <100 EU/ml	op te volgen; opnieuw een staal nemen 15d ná een onderhoud
>100 en <500 UE/ml	Snelle correctieve maatregelen te nemen; opnieuw een staal nemen 15d ná een onderhoud
>500 UE/ml	Onmiddellijke correctieve maatregelen

### Kantoorgebouwen: studie van de microbiologische kwaliteit van de omgevings- en pulsietucht

Wij hebben, voor de bacteriën en de schimmels in de lucht, verschillende centielen berekend die bekomen werden uit 166 microbiologische enquêtes in gebouwen uitgerust met centrale luchtbehandelingsinstallaties.

Centiel	Buitenlucht	Buitenlucht	Omgevings - lucht	Omgevings - lucht	Binnenlucht Pulsie	Binnenlucht Pulsie
Centielen	<b>EB,25°C</b>	<b>HSB,37°C</b>	<b>EB,25°C</b>	<b>HSB,37°C</b>	<b>EB,25°C</b>	<b>HSB,37°C</b>
<b>5</b>	50	0	25	13	0	0
<b>25</b>	100	25	75	63	38	25
<b>50</b>	213	63	150	125	100	75
<b>75</b>	363	138	275	238	175	138
<b>95</b>	713	450	588	550	375	338
<b>n</b>	122	126	809	812	223	223
<b>Max.</b>	2738	1525	2525	1850	1126	913

*EnvB: Mesophilic Environmental Bacteria; H-SB: Mesophilic Human-Source Bacteria*

Centielen	Omgevingslucht		Pulsielucht		Buitenlucht*	
	HS	DG18	HS	DG18	HS	DG18
<b>5</b>	<13	<13	<13	<13	(38)	(88)
<b>25</b>	<13	<13	<13	<13	(125)	(200)
<b>50</b>	13	25	<13	13	(250)	..(388)
<b>75</b>	50	63	25	38	(663)	(713)
<b>95</b>	263	350	175	250	(1163)	(1325)
<b>N° (totale data)</b>	739	739	205	205	117	117
<b>Max.</b>	2225	2038	2225	1888	2225	>2375

\*: *Seizoenschommelingen, geen referentie.*

Wij hebben dit op een gelijkaardige manier uitgevoerd voor het stof dat zich op gladde dragers bevond en hetwelke we teruggevonden hebben in vasttapijten (zie volledig rapport)

### Metaalverwerkende-industrieën

Sporadische analyses werden uitgevoerd op draadsnijvloeistoffen om de hoeveelheid biocontaminatie te bepalen. De gecontamineerde stalen door schimmels bevatten eveneens ergosterol. De gehalten aan endotoxinen waren vaak zeer hoog in de gebruikte oliën die werden onderzocht en vaak gepaard gaande met een belangrijke hoge hoeveelheid aan bacteriën. (bijvoorbeeld : endotoxinen : 76 944 UE/ml – gramnegatieve bacteriën : 6 000 000 CFU/ml). Echter waren er stalen met een geringe hoeveelheid aan gramnegatieve herlevende bacteriën toch een hoog gehalte aan endotoxinen. Dit bewijst de complementariteit om dit bacteriologisch en analytisch te benaderen.

Andere omgevingen zijn eveneens het onderwerp geweest van gelijkaardige onderzoeken zoals laboratoria waar gecontamineerde materie worden gemanipuleerd, gecontamineerde archiefzalen, bedrijven waar synthetische vezels worden geproduceerd, sites waar ontsmettende werken worden uitgevoerd ter bescherming van de werknemers, enz.

### CONCLUSIE

De werkzaamheden die door het WIV samen met de FUSAGx werden verricht, hebben de procedures voor staalname en analyse opgeleverd en het objectiveren van de biocontaminatie in de werkomgeving. Voorlopige indicatieve richtwaarden werden voorgesteld. Het geheel van de uitgevoerde studies maakt valorisatie mogelijk.. Verschillende complementaire onderzoekslijnen hebben onze aandacht gevestigd op:

1. Een pre-normatief aspect van de ontwikkelde procedures (overgang van het niveau van procedures naar het niveau van richtlijnen) gevalideerd en opgesteld onder gestandaardiseerde vorm, samen met « normatieve » ringtest tussen laboratoriumpartners.
2. De dagelijkse ervaring vergroten de databases die de richtwaarden ondersteunen en vermeerderen de analytische campagne in nog meer gediversifieerde omgevingen. In dit verband zou een gecoördineerd werk met een interdisciplinair team en een netwerk van artsen dienen ontwikkeld te worden. Dit zou eerst gericht zijn op de preventie en de exacte definitie

van de risico's op de gezondheid.

3. Onderzoek van specifieke micro-organismen in bijzondere omgevingen., door de opsporing van substanties zoals MVOCs, mycotoxinen en endotoxinen (die de aanwezigheid van contaminaties en schadelijke substanties aantonen) vragen bijzondere aandacht.
4. Bovendien hebben recente werkzaamheden aangetoond dat men een commensalisme kan hebben tussen bacteriën en schimmels. Er is daar een onderzoeksgebied dat in aanmerking zou kunnen komen. In die zin zouden de competenties van de mycoloog, de bacterioloog en de scheikundige een goede basis vormen van complementariteit.

De voorafgaande opsomming is in geen enkel opzicht volledig noch hiërarchisch ingedeeld. Zij gaat uit van discussies die door de resultaten van het onderzoek worden verklaard. Het lijkt immers van belang voor beide partners om de ingeslagen weg verder te zetten, want de sociaal-economische gevolgen van de biocontaminatie houdt direct verband met het welzijn op het werk en vallen onder een facet van volksgezondheid.

Na afloop van dit onderzoek hebben verschillende denkpijlers ons ertoe aangezet om deze problematiek onder een globaler aspect te bekijken, dat behoort tot het ontwikkelingsbeleid.

De problemen van contaminaties in de binnenklimaten hebben geleid tot een bewustwording van een problematiek die moeilijk te omlijnen is doordat ze uitgestrekt en multifactorieel is. Inderdaad is het verband tussen oorzaak en gevolg uiterst ingewikkeld, om het benadrukken van een gezondheidsprobleem en potentiële schadelijke micro-organismen, bijzonder in de werkomgeving. Biotische, abiotische en zelfs psychologische factoren zijn in een analytisch perspectief te integreren. De toepassing van een discussie-actie daaromtrent vereist een vakoverschrijdende benadering die zowel onderzoek, informatie als vulgarisatie impliceren en die door een regelgeving worden ondersteund. De coördinatie zou op dit gebied tot de oprichting van een federale structuur moeten leiden die de noodzakelijke wetenschappelijke, geneeskundige en juridische bekwaamheden verenigen in overleg met de werkomgeving.