

Opiniërend

Waarde van het meten van levende micro-organismen bij binnenmilieu-klachten in gebouwen

Diny van Faassen¹ en Ineke Thierauf²

Trefwoorden: micro-organismen, meten, binnenmilieu, gezondheid, richtwaarden

Samenvatting

Duidelijke dosis-respons relaties tussen de mate van blootstelling aan levende niet-pathogene micro-organismen in de binnenlucht en de effecten op de gezondheid zijn niet gevonden in de literatuur. Om deze leemte op te vullen hebben verschillende commerciële adviesbureaus in Nederland op basis van beschikbare literatuur een consensus bereikt over richtwaarden van bepaalde micro-organismen in de binnenlucht. Deze richtwaarden zijn in veel gevallen zeer laag. Deze lage niveaus zijn mogelijk alleen relevant voor mensen met een verzwakt immuunsysteem. We vergeleken deze richtwaarden voor diverse soorten micro-organismen in de binnenlucht met de richtwaarden voor “clean rooms” en met internationale lijsten met risicocategorieën van pathogene micro-organismen. Op basis van deze en andere relevante internationale literatuur, komen wij tot 4 nieuwe niveaus van richtwaarden voor concentraties in de binnenlucht van cultiveerbare micro-organismen. Bovendien geven we een aantal aanbevelingen voor de meet-strategie, -methoden en -voorwaarden. De waarde van metingen van de totale hoeveelheid micro-organismen d.m.v. moleculaire technieken wordt besproken. We concluderen dat bij sommige specifieke klachten het de moeite waard is om cultiveerbare micro-organismen te meten, en de uitkomsten te vergelijken met de door ons aanbevolen 4 niveaus van richtwaarden.

1. Inleiding

In 2014 is een experimentele online masterclass over herkennen, evalueren en beheersen van biologische risico's op de werkvloer voor arbeidshygiënist georganiseerd met subsidie van de Nederlandse Vereniging voor Arbeidshygiëne (van Faassen en Hoogveld, 2015). Eén van de deelnemende arbeidshygiënist diende een casus in over het nut van metingen van levende micro-organismen (MO) in de binnenlucht bij klimaatklachten in kantoren. Deze casus leverde zoveel vragen op, dat we in de literatuur zijn gedoken, en het resultaat met onze collega's willen delen in het TTA en tijdens congressen. Als we spreken over levende MO (bacteriën en schimmels), bedoelen we 'te kweken op voedingsbodems' (zie figuur 1). Een deel van deze bacteriën kan overigens voorkomen in een vorm, die niet te meten is door kweken op voedingsbodems (Li et al., 2014). De betekenis hiervan

Abstract

Clear dose-response relations between health effects and level of exposure to viable non-pathogenic micro-organisms in indoor air are not found in literature. In the Netherlands several commercial consultant organizations agreed about maximum levels of certain (groups of) micro-organisms in indoor air. For several micro-organisms these levels are quite low, and in addition are only relevant for subjects with a weakened immune system. We compared these levels with those for clean rooms. Furthermore we checked the pathogenicity of the micro-organisms in international lists. We propose 4 new levels of guidelines for concentrations in indoor air for different levels of pathogenicity of the micro-organisms. Moreover we give some recommendations for the measurement strategy, methods and conditions. Finally we discuss the value of indirect measurements of micro-organisms with molecular methods. In conclusion, for some specific indoor air complaints it is worthwhile to measure cultivable micro-organisms, and compare the data with the guidelines we have recommended.

voor de arbeidshygiëne is (nog) niet in te schatten, daar niet bekend is of deze vorm infectieuze of toxische effecten kan veroorzaken.

In het voor de masterclass gebruikte Arbokennisdossier Biologische Agentia staat weinig informatie over dit onderwerp. In de nieuwste druk van het Arbo-Informatieblad (AI-blad) 9 - Biologische agentia (2014) wordt hiervoor verwezen naar :

1. De oude richtlijn van de Nederlandse Verenigingen van Arbeids- en Bedrijfsgeneeskunde en van Arbeidshygiëne (NVAB en NVVA, 1989);
2. Richtwaarden van de Kring Binnenmilieu Advies van de Vereniging van Leveranciers Luchttechnische Apparaten (VLA, 2011);

¹ Arbeidshygiënist en biologische veiligheidsprofessional, Biosafety Consult. Correspondentieadres: Ravensboschstraat 23, 6336 XG, Hulsberg, 06 51717810; e-mail: diny@biosafetyconsult.nl

² Arbeidshygiënist

Casus 1: Slecht schoonmaakonderhoud en hoge temperatuur in kelderopslag

De lucht in een kelder van een bibliotheek wordt als benauwd en warm ervaren. De medewerkers verblijven maar kort in deze ruimte, alleen om boeken op te halen en weg te zetten. Er is mogelijke sprake van aantasting van de bakstenen muren door oude lekkages. De bakstenen muren zijn ruw, slordig gerepareerd met cement, en met de hand is cementstof eraf te wrijven. De temperatuur is in deze ruimte rond de 24 °C. De lucht in luchtbehandelingskast blijkt niet vervuild te zijn met MO. In de lucht van de kelder zelf worden vooral Gram-positieve bacteriën (afkomstig van de menselijke huid) aangetroffen, deels in hoeveelheden boven de in het AI-blad opgenomen richtwaarden (Micrococcus-soorten (670 KVE/m³), Staphylococcus aureus (810 KVE/m³). Daarnaast Staphylococci (390 KVE/m³) en verder Bacillus-soorten (40 KVE/m³). Opvallend is de afwezigheid van Gram-negatieve bacteriën, welke ook niet worden verwacht in zo'n droge en warme ruimte. Verder zijn de gebruikelijke schimmels niet aangetroffen.

Waarschijnlijk wordt de benauwde lucht voor een deel veroorzaakt door stof (incl. stof van de ruwe stenen en cement zelf en mens-gebonden bacteriën). Het stof blijft hangen aan de ruw gevoegde bakstenen muren. Door beweging van mensen en de luchtcirculatie komt dit stof steeds weer in de lucht. Als oplossing werd voorgesteld de bakstenen muren te coaten met materiaal dat de muren glad, reinigbaar en stootbestendig maakt en de ruwe uitsteeksels van cement etc. te verwijderen. Tevens werd aanbevolen de temperatuur terug te brengen tot 20 °C of iets lager, omdat dit voldoende is om de lichamelijke matig inspannend werkzaamheden in deze ruimte te verrichten en hierdoor de groei van Gram-positieve bacteriën wordt vertraagd.

Conclusie: In warme, droge omgevingen komen enkel verhoogde hoeveelheden Gram-positieve bacteriën voor, waaronder *S. Aureus*. De bron kan bestaan uit niet voldoende te reinigen oppervlakken in combinatie met werkzaamheden van personen. Immers alle mensen geven deze MO af aan de omgevingslucht. Door hoge temperatuur, beschikbaarheid van een voedingsbron (stof) en vocht kan de hoeveelheid van deze bacteriën op vervuilde oppervlakten (en daardoor in de lucht) toenemen.

Casus 2: Huidinfecties: door Staphylococcus aureus in stof van radiatorbekleding?*

Vier van de vijf mannen die werkzaam zijn in dezelfde ruimte hebben specifieke gezondheidsklachten, namelijk etterende wonden aan de armen. Drie van de vier medewerkers met deze klachten zijn tevens verkouden/griepig. Er is geen centrale klimaatinstallatie aanwezig in het pand. Iedere ruimte heeft een eigen airco-unit om op zeer warm dagen te kunnen koelen. Het betreft een oud pand dat van zich zelf al koel is, waardoor de airco's sporadisch worden gebruikt. De ruimte heeft ook radiatoren, waarvan de omkasting bekleed is met tapijt. Medewerkers klagen over een stoffige werkomgeving. De medewerkers eten altijd op de werkplek.

In de omgevingslucht van deze ruimte is met behulp van een RSC-sampler een concentratie gevonden van de bacterie *Staphylococcus aureus* van gemiddeld (3.400 KVE/m³) (3 metingen op verschillende plaatsen). In de referentieruimte werden geen *S. aureus* in de lucht gevonden. De concentraties van de andere bacteriën en schimmels/gisten in de lucht van de ruimte kwamen overeen met die in de referentieruimte. Op twee contactafdrukken van de radiatorbekleding was overgroei van de kweekplaat met *S. aureus* te zien, terwijl de andere contactafdrukken (op andere locaties in de ruimte en in de referentieruimte) waarden beneden de 50 KVE/16 cm² gaven.

De concentratie van *S. aureus* in de omgevingslucht is 3 x zo hoog als onze aanbevolen richtwaarde (zie tabel 2)! *S. aureus* is een typische veroorzaker van etterende huidinfecties. *S. aureus* kan heel lang overleven in droge omstandigheden. De aanwezigheid van een voedingsbron (stof met etensresten, dat waarschijnlijk niet verwijderd wordt uit het tapijt op de radiatorbekleding) en een hogere temperatuur tijdens verwarming door de radiatoren bevorderen de groei (optimale groeiomstandigheden). Als de radiator aan staat kan de hierdoor ontstane convectie verspreiding van *S. aureus* door de lucht veroorzaken. Kleine verwondingen van de huid kunnen bij een hoge blootstelling aan *S. aureus* leiden tot infectie, met name bij mensen met griep, die extra gevoelig zijn voor infecties met dit organisme. Aanbevolen werd de radiatorbekleding van tapijt te verwijderen, het schoonmaakbeleid aan te scherpen en de ruimte eenmalig goed te laten reinigen voor de start van het stookseizoen. De problemen waren toen opgelost.

Conclusie: Heel specifieke klachten bij gevoelige groepen medewerkers kunnen toegeschreven worden aan blootstelling aan hoge concentraties van bepaalde soorten MO. Voorwaarde is wel dat de meetmethoden en -meetstrategie correct zijn uitgevoerd. De bron komt opgespoord worden door verdachte bronnen te bemonsteren, te analyseren en de positieve bron te verwijderen.

*Met dank aan S. Wassenaar, Cursus HEBBA van Biosafety Consult, Eindhoven, 2012.



Figuur 1 Bacteriën uit lucht na kweken op voedingsbodem

3. Richtwaarden voor oppervlaktebesmetting (zonder referenties).

De richtwaarden van de VLA omvatten voor veel MO erg lage waarden (< 100 KVE/m³). Als de uitslagen van metingen boven deze lage waarden liggen, kan onnodige onrust ontstaan bij werknemers en werkgevers. Vooral als er mogelijke binnenmilieuklachten zijn bij grotere aantallen personen.

2. Het nut van meten van micro-organismen zonder duidelijke normen

Er zijn geen gezondheidskundig onderbouwde grenswaarden voor het inademen van infectieuze MO in gebouwen noch zijn deze op korte termijn te verwachten, omdat er geen dosis-responsrelaties bekend zijn voor deze blootstellingsweg (Gezondheidsraad, 2012). Dit in tegenstelling tot blootstelling via de voeding waarvoor in sommige gevallen wel grenswaarden bestaan, b.v. via de Europese Verordening voor kwaliteitscriteria voor voedingsmiddelen (EU, 2005). Wetenschappers bijeen in het Sloan symposium over MO tijdens het congres Healthy Buildings Europe 2015 in Eindhoven, houden het stellen van richtwaarden voor binnenlucht nog steeds voor onmogelijk. Wel is er recent een review gepubliceerd met gegevens over normaliter voorkomende concentraties van schimmels in ruimten (Nevalainen, 2015)

De meeste MO die aangetoond zijn in gebouwen, leveren geen directe gezondheidsklachten. Het zijn over het algemeen dezelfde soorten als die op het menselijk lichaam en in de buitenlucht worden aangetroffen. Als in werkruimten en/of klimaatinstallatie te veel MO aanwezig zijn, is dit meestal een signaal voor vervuiling en/of te weinig schoonmaken (zie casus 1). Bepaalde gezondheidsklachten zoals benauwdheid of andere ademhalingsklachten, oogirritatie en huidklachten kunnen veroorzaakt worden door chronische ziekten of psychosociale overbelasting. Echter dit soort klachten kan ook veroorzaakt worden door te veel stof in de lucht en/of op oppervlakten.

Aan dit stof kan van alles gehecht zijn. Zoals allergenen uit uitwerpselen van de huisstofmijt, levende MO en bestanddelen van dode MO (endotoxines van Gram-negatieve bacteriën en beta-glucanen van schimmels) (zie casus 2). Sommige mensen zijn allergisch voor bepaalde soorten MO, zoals de schimmel *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria alternata* of *Cladosporium herbarum* (Nevalainen, 2015). Andere mensen kunnen door verminderde weerstand gevoelig zijn voor infecties door de (huid en neus) bacterie *Staphylococcus aureus* (zie casus 2). Om een oorzakelijke relatie te vinden tussen de blootstelling en de klachten kan ervoor gekozen worden om bepaalde soorten MO te meten. Als de resultaten van de metingen aanwijzingen geven voor mogelijke bronnen, kunnen overdrachtswegen en eventuele reinigingsmethoden afgeleid worden conform het toepassen van de (bio)arbeidshygiënische strategie. Soms zijn maatregelen mogelijk op het niveau van de medewerker, zoals vaccinatie, preventief medisch onderzoek of behandeling met specifieke antibiotica.

In bijzondere gevallen zullen de arbeidshygiënist en in de gezondheidszorg de adviseur infectiepreventie (vroeger ziekenhuishygiënist genoemd) en bedrijfsarts moeten samenwerken. Immers, niet alle soorten MO zijn gevoelig voor gebruikelijke desinfectantia als ethanol, isopropanol, en actief chlooroplossing. Voor een effectieve behandeling met antibiotica dient informatie beschikbaar te zijn over het al dan niet resistent zijn tegen bepaalde antibiotica van de bij een geïnfecteerde medewerker voorkomende MO.

3. Bestaande richtwaarden voor levende MO in binnenlucht en voorstel voor nieuwe waarden

Bij het nadenken over richtwaarden voor niveaus van levende MO in de binnenlucht zijn van belang:

- De aanwezige concentraties van MO in kiemvormende eenheden/m³ lucht (KVE/m³) en de methode van meten;
- Het risico voor de gezondheid van een specifiek MO. Voor het risico voor de gezondheid bestaan internationaal lijsten met indelingen in risicoklassen conform pathogeniteit van bacteriën en schimmels (zie www.cogem.net).

Als we ervan uitgaan, dat er tenminste twee soorten MO in de lucht van een gebouw aanwezig zijn, dan zijn de onderstaande richtlijnen met elkaar te vergelijken (zie tabel 1):

- de richtlijn voor MO in kantoren uit AI-blad 9 (2014) (gemeten met een biosampler gebaseerd op impactie op 1 specifieke voedingsbodem voor bacteriën en 1 voedingsbodem voor gisten/schimmels). Deze richtlijn is gebaseerd op de richtwaarden van de Kring Binnenmilieu Advies van de Vereniging van Leveranciers Luchttechnische Apparaten (VLA, 2011);
- de normen voor clean rooms (Good Manufacturing Practice (GMP), 2008), die gebaseerd zijn op metingen met een één-plaatsysteem met een voedingsbodem waarop zowel bacteriën, gisten als schimmels groeien.

Tabel 1 Bestaande richtwaarden voor concentraties van levende MO in lucht (KVE/m³)*

Niveau van benodigde maatregelen	VLA-richtwaarden voor algemene ruimten (per soort MO)	Clean rooms	
		Klasse	Totaal aantal bacteriën, schimmels en gisten
Laag	500 per soort	D	200 totaal
Middel	100 per soort	C	100 totaal
Hoog	10 per soort	B	10 totaal

* KVE: kiemvormende eenheden

Opvallend is, dat de VLA-richtlijn en het AI-blad in hun risico-indeling van soorten afwijken van de gebruikelijke indeling van risicoklassen door internationale overheidsorganen (1 = niet pathogeen, tot 4 is altijd pathogeen). Zo worden bijvoorbeeld sommige schimmels van risicoklasse 2 (zoals *Aspergillus fumigatus*), die alleen gevaarlijk zijn voor hiervoor gevoelige medewerkers, door de VLA afwijkend ingedeeld in hun hoogste risicocategorie. De indicator organismen voor stof zijn vooral huidbacteriën, zoals micrococen en staphylococen, die bij ieder mens zeer massaal aanwezig zijn (risicoklasse 1). Het is vreemd om deze bacteriën te classificeren als "schadelijkheid matig" (voor *Staphylococcus aureus*, risicoklasse 2, zie verderop). In tabel 2 presenteren we vier nieuwe richtwaarden voor totaal aantal levende MO in de lucht, die gebaseerd zijn op (inter)nationale richtlijnen voor diverse groepen van MO in de binnenlucht. Voor de indeling in risicoklasse is gebruik gemaakt van de jaarlijkse updates van de COGEM-rapporten over pathogene bacteriën en schimmels (zie www.cogem.net). We maken hierbij een onderscheid in families van bacteriën en schimmels (bijv. grampositieve bacteriën), en niet in geslacht (bijv. *Streptococcus*) of soort (bijv. *Staphylococcus aureus*). Voor het meten van de levende MO wordt een één-plaatsysteem gebruikt op basis van een impactor met meerdere openingen, bv. Andersen-sampler of een daarmee geijkte centrifugale impactor zoals de RCS-sampler.

Bij deze indeling kunnen de volgende mogelijke bronnen van MO in gebouwen geïdentificeerd worden:

- grampositieve bacteriën komen vooral voor in stof van mensen of dieren (zie casus 1 en 2);
- schimmels komen voor in de buitenlucht, stof, groente- en fruitafval, waterreservoirs, bouwmaterialen (zie casus 3);
- gramnegatieve bacteriën komen voor in waterreservoirs, groente- en tuinafval, riolering;
- sporevormende bacteriën komen vooral voor in ziekenhuis-omgevingen;
- *Aspergillus fumigatus* en *Penicillium olsonii* zijn gevonden op rottende planten;
- altijd pathogene, via de lucht overdraagbare MO zijn afkomstig van besmettelijke mensen of dieren, dan wel besmette omgevingsmonsters als mest, stof waterreservoirs.

4. Wijze van meten (relatief, indicatief, kwalitatief, kwantitatief, meetomstandigheden)

De wijze van meten van levende MO in de lucht is nog steeds in ontwikkeling. De VLA-kring Binnenmilieu Advies heeft een protocol opgesteld (overgenomen door AI-9), waarbij met name gelet wordt op de verschillen in concentraties in de binnenlucht en buitenlucht, en in de weg die de lucht aflegt in het ventilatiesysteem voor en na het filter. Overgenomen uit dit protocol (Uit VLA-richtlijn

Tabel 2: Voorstel richtwaarden concentraties van levende MO in binnen lucht in KVE/m³

Soort MO	Totaal KVE/m ³	Indeling van schadelijkheid	Onderbouwing
Grampositieve bacteriën van risicoklasse 1 of 2 (zoals micrococen, streptococen, staphylococen)	1000	Laag	NVAB/NVVA-richtlijn (1989), uitgaande van tenminste 2 soorten
Schimmels van risicoklasse 1 (niet pathogeen of allergen, of toxine-producerend, zoals de meeste <i>Aspergillus</i> - en <i>Cladosporium</i> -soorten)	1000	Laag	Zwitserland (Masclaux, 2013); Haanstra en Boerstra 2005, uitgaande van 2 soorten; gemiddeld voorkomen in woningen (Peeters, 2007) en gebouwen (Nevalainen, 2015)
Gramnegatieve bacteriën van risicoklasse 1 of 2 (zoals <i>E. coli</i> , <i>P. aerogenes</i>)	500	Matig	Afgeleid uit door Gezondheidsraad (2012) voorgestelde grenswaarde voor endotoxine (= 90 EU/m ³ ipv 200 EU/m ³ ten tijde van de VLA-richtlijn van 2011).
Sporevormende bacteriën van risicoklasse 2 (<i>Clostridium</i> - of <i>Bacillus</i> -soorten)	500	Matig	VLA-richtlijn (richtlijn voor MO per soort)
Schimmels van risicoklasse 2 (potentieel pathogene, allergene of toxische, zoals <i>Aspergillus fumigatus</i> en <i>Penicillium olsonii</i> of <i>marneffii</i>)	100	Matig	Eigen inschatting, overeenkomend met een middel-clean room (klasse C) (GMP, 2008), en Nieuw Zeeland (Fouad et al., 1996)
Bacteriën van risicoklasse 3 (in grotere hoeveelheden altijd pathogeen, overdracht via de lucht, zoals veroorzakers van antrax, Q-koorts, Legionellose)	10	Hoog	Górny (2013)

Casus 3: Klimaatkast als bron (Thierauf, 2007)

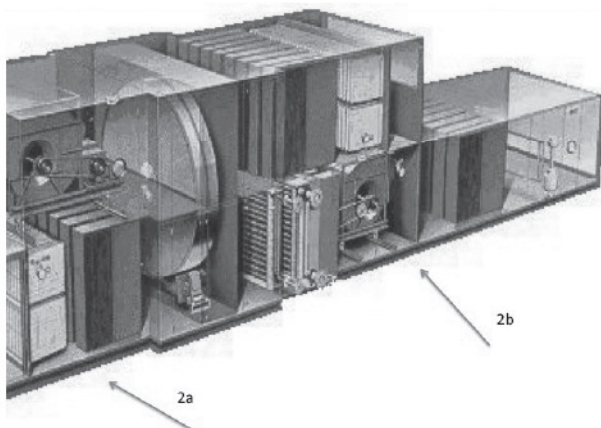
In een groot laboratoriumgebouw met kantoren waren veel aspecifieke gezondheidsklachten, met name irritatie van ogen en slijmvliezen. Bovendien werd de lucht als muff ervaren. De roosters van de warmtewisselaars in de inductie-units van de luchtbehandelingskast (LBK) bleken ernstig vervuild. Dat leverde geurhinder van ingebrand stof en belemmerde de verse luchttoevoer. Op veel plaatsen waren complete stofdekens te zien. Om de eigenaar te overtuigen van de noodzaak van schoonmaak, werden MO in de binnenlucht en in de LBK gemeten. In de LBK bleken meer en ook andere MO aanwezig te zijn dan in de buitenlucht. Bovendien kwamen deze MO zelfs levend aan in de werkruimten (zie Tabel 3). De gemeten waarden in de binnenlucht lagen beneden de door ons gestelde richtwaarden. Alleen aan het criterium dat in de LBK minder MO mogen voorkomen dan buiten, werd in dit geval niet voldaan.

Conclusie: alleen het meten van MO in de lucht buiten en in de werkruimten zonder extra onderzoek van het luchtbehandelingssysteem zou in dit geval geen antwoord opgeleverd hebben over de oorzaak van de binnenmilieu klachten.

utiliteitssector, 2011) is de volgende beschrijving: "De installatie is in normaal bedrijf en op de nominale capaciteit. De metingen dienen plaats te vinden op de volgende locaties (zie figuur 2):

1. In buitenlucht in nabijheid van aanzuigrooster.
2. Aanvoerlucht in luchtbehandelingskast direct na de filtersectie (2a) en nadat de lucht ook alle overige kastdelen (verwarmingselement, koelelement, warmtewiel/kleppensectie en bevochtigingsectie) heeft gepasseerd (2b). Dit kan zijn bij de toevoerventilator. Het is echter aan te bevelen de meting uit te voeren op een plaats in de kast met een lagere luchtsnelheid. De deur van de luchtbehandelingskast wordt tijdens de monsternamen gesloten.
3. In inblaasrooster in ruimte (indien aanwezig).
4. Ruimtelucht in ruimte met klachten.
5. Ruimtelucht in ruimte zonder klachten (referentiemeting).

De luchtbehandelingskasten moeten een microbiologisch zo schoon mogelijke lucht produceren. Voor inblaaslucht in de werkruimte geldt als richtlijn dat het aantal MO gelijk of lager moet zijn dan het aantal in de lucht gemeten in de luchtbehandelingskast (na het filter). Er mag geen significante toename van het totaal aantal bacteriën en/of schimmels (in KVE/m³) worden gemeten. Indien in het



Figuur 2 Schematische weergave luchtbehandelingskast. De pijlen refereren naar meetlocaties, voor beschrijving zie hierboven bij punt 2 (VLA, 2011)

monster van de buitenlucht < 10 KVE/m³ van een bepaald MO aangetroffen worden, moet voor de verderop in het ventilatiesysteem gemeten waarden een default waarde van 10 KVE/m³ worden aangehouden (zie ook casus 3).

Het protocol van de VLA gaat uit van relatieve, kwantitatieve metingen. Daar er een grote variatie is in de gemeten waarden in de binnenlucht op bepaalde tijden, wordt er daarnaast gekeken naar verschillen in de soorten bacteriën en schimmels tussen binnen- en buitenlucht (relatieve, kwalitatieve metingen). Deze worden vergeleken met richtlijnen betreffende dit onderwerp:

Voor blootstelling aan schimmels geeft de American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1999) aan, dat de concentratie in de binnenlucht in het algemeen lager moeten zijn dan de concentratie in de buitenlucht. Daarnaast mag er binnen geen soort worden aangetroffen die normaal niet aanwezig is in de buitenlucht (in een overeenkomstig seizoen). Voor andere MO zou een soortgelijke benadering kunnen gelden (Gezondheidsraad, 2012). Deze overwegingen van de Gezondheidsraad zijn voor bepaalde soorten bacteriën moeilijk te realiseren, aangezien er binnen een kantoor meestal meer huidbacteriën te vinden zijn dan buiten.

Het meten met apparatuur die levende MO meet moet plaatsvinden onder sterk gecontroleerde hygiëne, zoals: het gebruik van nieuwe disposable handschoenen; voldoende laten drogen van de gedesinfecteerde meetkop (anders wordt niets gemeten); volledig afsluiten met tape van de verpakking waarin het monster verstuurd wordt; direct versturen naar het laboratorium bij een temperatuur lager dan 15°C en gecontroleerde kweekomstandigheden. Tijdens het meten zelf is voldoende afstand tot de meetapparatuur nodig om er zeker van te zijn dat de onderzoeker de meetomstandigheden niet te veel beïnvloedt. De meting in de buitenlucht moet voldoende ver verwijderd zijn van een eventuele niet-relevante bron van bioaerosolen. Indien mogelijk moet de meetsensor niet worden geplaatst in de nabijheid van mogelijke bronnen van micro-organismen, zoals koeltorens, opgeslagen organisch materiaal of dichte begroeiing met bomen of planten. Het gebruiken van een blanco monster is nood-

Tabel 3 Voorkomen van bacteriën en schimmels in binnenlucht en luchtbehandelingskast (LKB)

Micro-organismen	Gemeten hoeveelheid (in KVE/m ³)		
	Buiten	Ruimte	LBK
Staphylococcus-species	100	410	780
Bacillus-species	--	410	920
Micrococcus-species	120	210	610
Cladosporium-species	140	230	820
Penicillium-species	-	60	410
Aspergillus fumigatus	10	60	120

zakelijk. Een blanco monster doorloopt alle stappen van plaatsing in de meetapparatuur, vervoer en analyse, maar wordt niet aan de binnenlucht blootgesteld. Ook is het aan te bevelen om duplo-metingen uit te voeren voor de situaties, die essentieel zijn voor de beoordeling van het eventuele probleem.

Metingen van levende MO met een air-sampler zijn lokale en momentopnamen. Er kunnen grote verschillen optreden als op een ander moment en/of op een andere plaats gemeten wordt (Reponen, 2015). Vaak worden er in de praktijk heel hoge concentraties van MO in de lucht gemeten, die verhinderen dat specifieke soorten gedetecteerd kunnen worden (overgroeide platen). Ook grote verschillen tussen duplo-metingen vragen om meer metingen.

Voor het meten van schimmels zijn NEN-EN-ISO-normen ontwikkeld: NEN-EN 16000-19: 2014 beschrijft de monsternamenstrategie voor schimmels; NEN-EN 16000-20:2014 de methode voor het tellen van het aantal schimmelsporen. Het aantal sporen van schimmels in de lucht is te meten met een hemocytometer (plaat onder microscoop) na extractie van het stof in de lucht dat verzameld is op een filter (Takehiro, 2014). Hiermee kan echter geen specificatie van de soort schimmels gegeven worden. De geschreven norm voor het meten van bacteriën en endotoxine (NEN-EN 13098) is in 2014 de commentaar-ronde ingegaan.

In de meest recente versie van het AI-blad 9 over Biologische Agentia worden moleculaire metingen van MO genoemd. In een artikel over metingen op varkenshouderijen wordt geconcludeerd dat moleculaire metingen in stofmonsters mogelijkheden bieden om snel en meer monsters te analyseren, maar dat er een verlies is aan informatie over de levensvatbaarheid (en dus infectievermogen) van de gemeten MO (Heederik, 2013). Immers testen op de soort en hoeveelheid van een bepaald stuk DNA (d.m.v. PolymeraseChain Reaction (PCR)-technieken) meet ook de aanwezigheid van dode en niet-cultiveerbare organismen. Op het recente congres over Healthy Buildings in 2015 worden de DNA sequencing technieken ook veelbelovend genoemd, maar aangegeven dat ze ook een reeks onzekerheden met zich mee te brengen. Zoals een beperkte kwantificeerbaarheid en onzekerheid over het identificeren van de soort, zoals *Staphylococcus aureus* en

het missen van zeldzame maar mogelijk wel belangrijke soorten (Peccia, 2015). Net als bij metingen van cultiveerbare, levende MO wordt ook bij de PCR-technieken alleen de soorten gemeten, waarnaar gezocht wordt.

Dode MO kunnen overigens wel gezondheidsrisico's veroorzaken door blootstelling aan hun afbraakproducten, waarvoor sommige personen overgevoelig zijn. Voorbeelden zijn: endotoxine (onderdeel van celwand van Gram-negatieve bacteriën), mycotoxine (celwand van schimmels), allergenen (bijv. in schimmelsporen of -deeltjes, of de glucanen uit de celwand van schimmels). Vorming van exotoxinen door MO treedt alleen op door levensvatbare MO, en dan nog in speciale situaties. Door onder andere Chemelot Innovation and Learning Labs in Geleen wordt gewerkt aan een moleculaire methode die onderscheid kan maken tussen de hoeveelheid levende en dode MO van bepaalde soorten bacteriën (Luo et al., 2010). Deze moleculaire methode geeft dan snel (na enkele dagen) ook een beeld van de mogelijk infectieuze organismen.

Indirecte methoden voor het meten van bacteriën en schimmels die gebruikelijk zijn in de voedingswereld (ATP- en NAD-test) zijn te gebruiken voor het meten van oppervlakte-besmettingen. Ze bleken goed te correleren met het aantal aanwezige levende schimmels (Takehiro, 2014). Maar ook deze methoden meten zowel dode als levende organismen. Bovendien is hun gevoeligheid laag: de ATP-methode is pas boven 100.000 bacteriën per bemonsterd oppervlak te gebruiken (leaflet ATP en UV van Vereniging van Schoonmaak Research, 2012).

Richtwaarden voor concentraties in oppervlakte-monsters, gemeten met afdrukplaten, kunnen afgeleid worden uit de Europese richtlijn voor clean rooms (GMP, 2008). Omgerekend naar een Rodac-plaatje van 16 cm² geldt voor een laag-gekaracteriseerde clean-room (klasse D) maximaal 38 KVE, voor een C-room 19 en voor een B-room 4. De Vereniging voor Schoonmaakresearch heeft een praktijkrichtlijn gepubliceerd, waarin uitgegaan wordt van een gemiddelde van 5 afdrukjes gedurende 10 seconden en een druk overeenkomend met gemiddeld 500 gram. Bij een gemiddelde boven 58 KVE/16 cm² is de uitkomst onvoldoende. Een gemiddelde van 19 KVE/16 cm² wordt beschouwd als matig (VSR, 2007) (zie casus 2).

5. Conclusies over het nut van meten van levende MO in binnenlucht bij klimateklachten in kantoren

MO zijn niet te vermijden, we zitten er als mens vol mee. Vragen in de praktijk van de arbeidshygiënist zijn: kunnen er ook teveel zijn, welke concentraties in de binnenlucht komen voor in ruimten zonder klachten? Belangrijk is geen onnodige onrust te veroorzaken door MO onnodig als gevaarlijk te benaderen. Vandaar dat we vier nieuwe richtwaarden voor concentraties van cultiveerbare, levende MO in de binnenlucht voorstellen. Deze richtwaarden zijn grotendeels gebaseerd zijn op de internationale indeling van MO in 4 risico-classes. In sommige situaties kunnen metingen van levende MO in binnenlucht bijdragen aan het verhelderen van mogelijke oorzaken en bijdragen aan het verbeteren van binnenmilieuklachten van één of meerdere personen. Het gaat dan bijvoorbeeld om de volgende situaties:

1. Er is onrust over blootstelling aan een bepaald MO, waarvoor een medewerker allergisch of gevoelig is of kan zijn, bijv. *Aspergillus fumigatus*. De snelle PCR-technieken zijn dan de aangewezen methodes om dat te meten. Het zoeken naar een specifieke schimmel op een algemeen voedingsmedium voor schimmels kost veel (3-5 dagen) tijd. Ook bestaat er een grote kans dat die specifieke schimmel niet gevonden wordt, door overgroei van de platen met andere, niet schadelijke schimmels in de binnenlucht. Een meting van de levensvatbare schimmels geeft mogelijk een onderschatting van de totale hoeveelheid waarop de persoon kan reageren, omdat delen van schimmels ook allergene eigenschappen kunnen hebben. Als "richtwaarde" geldt dan de hoeveelheid van deze schimmel in de binnenlucht ten opzichte van die in de buitenlucht. De concentratie in de lucht waarbij klachten ontstaan, kan verschillen tussen individuen. Een oorzakelijke relatie tussen de gedetecteerde MO en de klachten bij een bepaalde persoon, kan bevestigd worden d.m.v. het meten van antilichamen tegen de specifieke schimmel in het bloed (door bijvoorbeeld Dalphin/Rebouw, een laboratorium in Frankrijk die gespecialiseerd is in schimmel-antilichamen, R. Houba, 2014, persoonlijke mededeling), of door het meten van indicatoren voor specifieke afweerreacties zoals de hoeveelheid neutrofiële cellen in neuslavage-vloeistof (Douwes et al, 1999).
2. Bij klachten over slecht schoonmaakonderhoud kan het zinnig zijn om de aanwezigheid van te veel stof in de binnenlucht (met daarin bijv. veel huidbacteriën) aan te tonen. Als richtwaarde kan dan gelden $500 \text{ KVE/m}^3 \times \text{aantal op de kweekplaat met het oog te onderscheiden geslachten (b.v. Staphylococci)}$. Er hoeft dan niet nader geïdentificeerd te worden op soorten. Schimmels en gram-negatieve bacteriën zijn in normale kantooromgevingen zonder vochtproblemen niet te verwachten.

3. Als een bepaalde bron verdacht wordt, zoals schimmelgroei door natte plekken, de aanwezigheid veel dieren of andere bronnen van MO in de directe omgeving. In dat geval is een vergelijking nuttig van een meting van alle concentraties van de in tabel 2 onderscheiden MO in een ruimte met klachten van de medewerkers, en een meting in een ruimte zonder klachten.
4. Er bestaat verdenking op de besmetting van een oppervlakte. Dit oppervlak kan dan bemonsterd worden met steriele wattenstaafjes in fysiologisch zout, of Rodac-afdrukplaatjes. Als norm hiervoor kan 50 KVE bacteriën of schimmels/16 cm² gebruikt worden. Dit is afgeleid van de waarde die de Vereniging van Schoonmaakbedrijven in 2007 heeft voorgesteld, en die ook gehanteerd wordt door de Nederlandse Voedsel en Warenautoriteit.
5. Er bestaat een verdenking van besmettingen in klimaatinstallaties. Hiervoor kunnen de richtlijnen rond klimaatinstallaties zoals aangegeven in AI-blad 9 (SDU, 2014), gehanteerd worden (zie paragraaf 4). Daarnaast bestaan er ook een richtlijn voor maximale besmettingen van luchtbevochtigingswater van klimaatinstallaties (voor totaal bacteriën en schimmels 1000 KVE/ml (VDI 6022, 2011), en voor *Legionella* in leidingwater (100 KVE/l (AI-blad 32, 2013)).

De voorgestelde richtwaarden voor concentraties garanderen niet, dat geen enkele medewerker klachten kan ontwikkelen bij lagere concentraties. Immers sommige personen hebben een erfelijke verhoogde gevoeligheid voor luchtweg-allergenen (atopische constitutie) of voor endotoxine. Ook wordt de afweer tegen potentieel pathogene MO beïnvloed door individuele kenmerken als leeftijd, (chronische) ziekten, gebruik van afweer onderdrukkende medicijnen, missen van milt of rook- en voedingsgewoonten. Aan te raden is om in individuele gevallen deze individuele kenmerken na te vragen.

6. Aanbevelingen voor het aanpassen van richtwaarden voor MO in binnenlucht van kantoren

De indeling in AI-blad 9 van MO naar schadelijkheid en de daaruit voortvloeiende richtwaarden voor KVE/m³ wijkt af van de gebruikelijke indeling in risicoklassen door de overheidsorganen als COGEM en in de internationale literatuur. Sommige MO, die alleen gevaarlijk zijn voor hiervoor gevoelige medewerkers worden afwijkend ingedeeld in de hoogste risicocategorie. Een ander vreemd voorbeeld is het als "matig schadelijk" beoordelen van huidbacteriën. Daarom hebben we vier nieuwe richtwaarden opgesteld, waarbij we zijn uitgegaan van de meest recente (inter)nationale richtlijnen en een gezondheidskundige onderbouwing. Deze vier richtwaarden kunnen als volgt worden samengevat:

Groep 1: Richtlijn 1000 KVE/m³ Gram-positieve bacteriën van risicoklasse 1 en 2 en schimmels van risicoklasse 1. Hun schadelijkheid is laag. Dit zijn niet-pathogene, allergene of toxine-producerende MO, en de opportunistische

pathogene bacteriën (risicoklasse 2). Deze zijn alleen gevaarlijk voor mensen met verminderde weerstand.

Groep 2: Richtlijn 500 KVE/m³ Gram-negatieve bacteriën van risicoklasse 1 en 2 en sporevormende bacteriën. Hun schadelijkheid is matig. Personen die extra gevoelig zijn voor endotoxine, kunnen klachten krijgen. Sporevormende bacteriën kunnen zich gemakkelijker verplaatsen, en zijn resistenter tegen desinfectiemiddelen door hun sporen.

Groep 3: Richtlijn 100 KVE/m³ Schimmels van risicoklasse 2. Hun schadelijkheid is matig. Alleen voor mensen die extra gevoelig zijn voor deze soorten schimmels. Het zijn potentieel pathogene, allergene of toxine-producerende schimmels.

Groep 4: Richtlijn 10 KVE/m³ Bacteriën van risicoklasse 3. In grotere hoeveelheden altijd pathogeen, met overdracht via de lucht incl. heel specifieke, virulente types van een bacterie van risicoklasse 2 die besmettelijk is via inademing, zoals de stam *Legionella pneumophila* serogroep 1.

7. Literatuur

- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (1999) Bioaerosols: Assessment and Control. In: Macher J. editor. Cincinnati, Ohio: American Conference of Governmental Industrial Hygienists
- AI-blad 9 (2014) Biologische Agentia. Den Haag: Sdu Uitgevers
- AI-blad 32 (2013) Legionella. Den Haag: Sdu Uitgevers
- COGEM (18-12-2014) Classificatie pathogene schimmels, virussen en bacteriën (CGM/141218-03). www.cogem.net
- Douwes J, Dubbeld H, Zieten L, van Doekes G, Wouters I, Steerenberg P, Heederik D (1999). Blootstelling aan microbiële agentia bij GFT-composteerders. Tijdschrift voor Toegepaste Arbeetwetenschap 6; 2: 18-24. EU (2005)
- VERORDENING (EG) Nr. 2073/2005 VAN DE COMMISSIE van 15 november 2005 inzake microbiologische criteria voor levensmiddelen. https://www.nvwa.nl/txmpub/files/?p_file_id=25842
- EU-GMP (2008): The Rules Governing Medicinal Products in the European Union. Volume 4: EU Guidelines to Good Manufacturing Practice. Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products
- Faassen D, van Hoogveld, B. (2015). Een model voor een online-masterclass over biologische risico's op de werkvloer. Tijdschrift voor Bedrijfs- en verzekeringsgeneeskunde. 23; 3: 113-116
- Fouad H, Baird G. (1996). Indoor air quality in New Zealand office buildings: studies of airborne bacteria and fungi. Proc. Indoor Air 1996, S. Yoshizawa et al, Eds, Japan 2, 67-72
- Gezondheidsraad (2012). Brief met advies over gezondheidskundige advieswaarden voor biologische agentia : Publicatienr. 2012/35
- Górny R. (2016). <https://oshwiki.eu/wiki/Bioaerosols>
- Haanstra L, Boerstra AC (2005) Handboek Gezonde Kantoorgebouwen, juni 2005. ISSR/SBR Rotterdam
- Heederik D (2013). Potential public health consequences of exposure assessment for *Staphylococcus aureus* : commentary on the paper by Masclaux et al. Ann. Occ. Hyg.; 57: 545-549
- Li L, Mendis N, Trígui H, Oliver JD, Faucher SP (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. Frontiers in Microbiology; 5: 1-22
- Luo JF, Lin WT, Guo Y (2010). Method to detect only viable cells in microbial ecology. Appl. Microbiol. Biotechnol. ; 86: 377-384
- Masclaux FG, Sakwinska O, Charriere N, Semaani E, Oppliger A (2013). Concentration of airborne *Staphylococcus aureus* (MRSA and MSSA), total bacteria, and endotoxins in pig farms. Ann. Occ. Hyg.; 57: 550-557
- Nevalainen AI (2015). Indoor fungi: companions and contaminants. Indoor Air; 25: 125-156
- NVAB/NVVA-richtlijn (1989) Protocol Onderzoeksmethoden (micro-)biologische binnenlucht verontreinigingen. Rapport Studiegroep Meetmethoden DGBF
- Peeters E (2007). Handboek binnenmilieu. Rotterdam: GGD.
- Peccia J (2015). Revolution/evolution DNA sequencing to identify indoor micro-organisms. Abstract/paper nr. 540. Proceedings Healthy Buildings Europe 2015
- Reponen T. (2015). Microbial sampling in building surveys: how to choose a sampling method? Abstract/paper nr. 387. Proceedings Healthy Buildings Europe 2015
- Takehiro E, Takeshi W, Mizue S, Ko Takashi G, Kuniaki M. (2014) Abstract in Proceedings of Indoor air 2014, Topic A3: Indoor air Microbiology
- Thierauf I (2007). Meting van micro-organismen in de lucht , wat doe ik ermee? NVvA Nieuwsbrief, thema infectieziekten; 3: 27-32
- VDI 6022 Blatt 1 (2011). Hygiene Anforderungen an Raumlufttechnische Anlagen und Gerate): <https://www.vdi.de/technik/fachthemen/bauen-und-gebaeudetechnik/fachbereiche/technische-gebaeudeausrustung/richtlinienarbeit/richtlinienreihe-vdi-6022-raumlufttechnik-raumluftqualitaet/>
- VLA (2011) Meetprotocol micro-organismen utiliteitssector deel 1 A : <http://www.vla.nu/wp-content/uploads/2014/03/MEETPROTOCOL-deel-1A.pdf>
- Vereniging Schoonmaak Research (VSR) (2007.) Praktijkrichtlijn PR 2-2: Voor het ontwikkelen van basisvoorwaarden, een risicoanalyse, beheersmaatregelen en monitoringsysteem voor reiniging en desinfectie in voedingsmiddelenbedrijven: http://www.vsr-org.nl/images/stories/Praktijkrichtlijnen_VSR-PR_2-2.pdf
- Vereniging Schoonmaak Research (VSR) (2012). ATP en UV voor het beoordelen van kwaliteit van schoonmaak: <http://www.vsr-org.nl/images/stories/ATP-ultraviolet.pdf>