

Luftburet enzym som riskmarkör vid arbete i reningsverk för avloppsvatten

*Ragnar Rylander
Anna Calo*



Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten Utveckling (SVU) är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området. Projekt bedrivs inom hela det VA-tekniska fältet under huvudrubrikerna:

Dricksvatten
Ledningsnät
Avloppsvatten
Management

SVU styrs av en kommitté, som utses av styrelsen för Svenskt Vatten AB. För närvarande har kommittén följande sammansättning:

Agneta Granberg, ordförande	Göteborgs Stad
Daniel Hellström, sekreterare	Svenskt Vatten
Stefan Johansson	Skellefteå kommun
Charlotte Lindstedt	Göteborg Vatten
Lena Ludvigsson-Olafsen	Smedjebackens kommun
Margareta Lundin Unger	Kungsbacka kommun
Kenneth M. Persson	Sydvatten AB
Lars-Gunnar Reinius	Stockholm Vatten AB
Mats Rostö	Gästrik Vatten AB
Bo Rutberg	Sveriges Kommuner och Landsting
Lena Söderberg	Svenskt Vatten
Ulf Thysell	VA SYD
Fred Ivar Aasand, adjungerad	Norsk Vann

Författarna är ensamma ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan återopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

Svenskt Vatten Utveckling
Svenskt Vatten AB
Box 47 607
117 94 Stockholm
Tfn 08-506 002 00
Fax 08-506 002 10
svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se

Svenskt Vatten AB är servicebolag till föreningen Svenskt Vatten.

Rapportens titel:	Luftburet enzym – riskmarkör vid arbete i reningsverk för avloppsvatten
Title of the report:	Airborne enzyme – a marker of risk during work in sewage water treatment plants
Rapportnummer:	2011-07
Författare:	Ragnar Rylander, BioFact Miljömedicinska Forskningscentrum, Lerum Anna Calo, Studiekonsult, Örebro
Projektnummer:	10-122
Projektets namn:	Luftburet enzym – riskmarkör vid arbete i reningsverk för avloppsvatten
Projektets finansiering:	Svenskt Vatten Utveckling
Rapportens omfattning	
Sidantal:	26
Format:	A4
Sökord:	Endotoxin, enzymer, hälsopåverkan
Keywords:	Endotoxin, enzymes, health effects
Sammandrag:	Luftburet endotoxin och två olika enzymer har mätts i 10 olika reningsverk för avloppsvatten. Det fanns ett nära samband mellan endotoxin och enzymet N-acetylhexosaminidas (NAHA). Utgående från tidigare riskuppskattningar för endotoxin föreslås 50 NAHA som ett tröskelvärde för medicinska risker.
Abstract:	Airborne endotoxin and two enzymes were measured in 10 different sewage treatment plants. There was a close relation between endotoxin and N-acetylhexosaminidase (NAHA). Based on previous data on risk evaluations for endotoxin, 50 NAHA is suggested as a threshold for medical risks.
Målgrupper:	Driftsledare och anställda vid avloppsreningsverk
Omslagsbild:	Riskerna uppträder där vattnet agiteras (R Rylander, BioFact)
Rapport:	Finns att hämta hem som PDF-fil från Svenskt Vattens hemsida www.svensktvatten.se
Utgivningsår:	2011
Utgivare:	Svenskt Vatten AB © Svenskt Vatten AB

Förord

Hälsorisker i samband med arbete i reningsverk för avloppsvatten undersöktes första gången 1954 och våra egna undersökningar började 1975. I dessa kunde vi, efter inrådan av dåvarande professorn i mikrobiologi Lars Åke Hanson, visa att endotoxiner från bakterier var en av de substanser i reningsverksmiljön, som kunde ge upphov till olika medicinska symptom. Under de följande åren undersöktes sambandet mellan exponering för endotoxin och symptom av många olika forskargrupper. Denna rapport redovisar det senaste projektet där målsättningen varit att pröva en metod för bestämning av riskexponeringen, som är enklare än mätning av endotoxin och som kan utföras av reningsverkens egna laboratorier.

Projektet har inneburit många och upprepade besök vid olika reningsanläggningar och har i många fall engagerat flera personer, ibland under längre tider. Vi vill framföra vårt tack till alla dessa och särskilt till Marcel Minnegal vid Kumla reningsverk, Annette Johanson, Ryaverket i Göteborg och Ola Andersson vid Lerums reningsverk. Som alltid i avslutade forskningsprojekt har nya frågor väckts och det är vår förhoppning att arbetet skall kunna gå vidare med den yttersta målsättningen att skydda de anställda vid reningsverk och förebygga att arbetsrelaterade symptom och sjukdomar uppkommer.

Innehåll

Förord.....	3
Sammanfattning.....	6
Summary.....	7
Förkortningar.....	8
1 Inledning.....	9
1.1 Avloppsvatten	9
1.2 Exponering	9
1.3 Medicinska effekter och riskbedömning.....	10
2 Projektets målsättning	11
3 Material och metoder	12
3.1 Provtagning	12
3.2 Analys av enzymer	12
3.3 Analys av endotoxin	13
4 Resultat.....	14
4.1 Vattenprover.....	14
4.2 Luftprover	15
5 Kommentarer	18
5.1 Metodfrågor	18
5.2 Riskvärdering	18
5.3 Gränsvärde	19
6 Slutsatser	20
7 Referenser.....	21
Appendix 1	23
Appendix 2 Exempel på mätprotokoll	26

Sammanfattning

Arbete i avloppsreningsverk kan ge upphov till hälsoproblem i form av luftvägsbesvär, ovanlig trötthet, feber, huvudvärk och diarré. För att mäta exponeringen för avloppsvatten och därmed också risken för medicinska effekter har man tidigare analyserat mängden endotoxin med tanke på substansens kraftiga inflammatoriska effekt. Metoden att bestämma endotoxin är relativt dyr och tidskrävande. I det aktuella projektet har prövats om riskbedömningen kan göras genom att bestämma mängden av två olika bakteriemögelzymer – hydrolas (BH) och N-acetylhexosaminidas (NAHA). Mätningar har utförts på ett 100-tal olika arbetsplatser i 10 reningsverk med varierande ålder och kapacitet. Resultaten visade att mätningar av NAHA hade en bättre mätsäkerhet. NAHA påvisades i avloppsvatten och i luften vid olika arbetsplatser. Det fanns ett samband mellan mängden NAHA och endotoxin både i avloppsvatten och i luftprover. Mängderna NAHA var i regel låga men vid de arbetsplatser där avloppsvattnet agiterades eller i samband med rengöring av pumpar och spolning av bassänger uppmättes höga värden. Baserat på tidigare erfarenheter rörande risker vid exponering för endotoxin, föreslås att en exponering för mer än 50 NAHA enheter/m³ under mer än 15 minuter medför en ökad risk för medicinska effekter.

Summary

Work in sewage treatment plants may cause health problems in terms of airways symptoms, unusual tiredness, fever, and diarrhoea. To measure the exposure and thus the risks involved earlier studies have analysed the amount of airborne endotoxin in view of its inflammagenic properties. The method to measure endotoxin is cumbersome and rather expensive. The present project was undertaken to assess if risk evaluations could be made by determining the amounts of two different mould/bacterial enzymes – hydrolase (BH) and N-acetylhexosaminidase (NAHA). Measurements were performed at around 100 work sites in 10 different sewage treatment plants of varying age and capacity. The results demonstrated that NAHA had a smaller methodological error than BH. NAHA was present in the sewage water and in the air at different worksites. There was a relation between the amounts of NAHA and endotoxin both in the water and in air samples. The amounts of NAHA were generally low but high values were found at worksites where the water was agitated or when cleaning pumps or basins. Based on previous experience regarding the risk of endotoxin exposure, it is suggested that an exposure above 50 NAHA units/m³ during more than 15 minutes will increase the risk of medical effects.

Förkortningar

NAHA	Mögel- och bakterie enzymet N-acetylhexosaminidas
BH	Bakterieenzymet hydrolas
p	Värden understigande 0,05 anger signifikanta skillnader
SEM	Standardfel för medelvärdet, anger spridningen av värdena
Korr koeff	Spridningen runt en linje

1 Inledning

1.1 Avloppsvatten

Vattnet i avloppsreningsverk kommer från många olika källor. Spillvatten kommer från industrier och hushåll med vatten från rengöring, disk, tvätt och vattentoaletter. Dagvatten kommer från avvattning av mark – gator, parker, grönområden och takytor. Kylvatten kommer från olika industriella processer.

Avloppsvatten innehåller en rikhaltig mikrobiell flora och den största mängden finns under sensommaren och hösten (Stampi et al 2000, Pascual et al 2001, Pražmo et al 2003, Opplinger et al 2005). I spillvattnet finns bakterier och virus från människans tarmar och hud. I dagvattnet finns förutom bakterier också svampar (mögelceller) och andra mikroorganismer (Korzeniewska 2011).

Av speciellt intresse bland bakterierna är så kallade Gramnegativa bakterier som på sin cellvägg har en speciell förening – endotoxin eller lipopolysackarid. Detta ämne har förmåga att framkalla inflammation och kan ge symptom från hud, lungor och mag-tarmkanal (Rylander 2007).

Bland svampar finns en mängd olika arter som härstammar framför allt från dagvattnet. Några vanliga arter är *Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum* och *Trichoderma*. Svampar har i sin cellvägg flera olika ämnen, som kan framkalla inflammation och påverka immunsystemet. β -glukan är en polyglukosförening som bygger upp cellväggen och som finns i olika former och med olika vattenlöslighet. Detta ämne kan framkalla inflammation men också nedsätta immunförsvaret (Rylander 2010). Kitin är ett annat ämne som finns i cellväggen hos mögelsvampar och som har satts i samband med allergiska reaktioner.

Förutom de agens som finns i avloppsvattnet kan det under transport och lagring bildas olika ämnen varav det viktigaste är svavelväte. Detta mycket giftiga ämne är en välkänd riskfaktor och övervakningsprogram för att förhindra exponering för svavelväte finns vanligtvis i reningsverken. Denna typ av exponering berörs inte i det följande.

1.2 Exponering

Vid arbete i reningsverk utsätts (exponeras) man för avloppsvatten genom kontakt eller genom inandning av små vätskepartiklar (aerosoler). Sådana bildas framför allt vid arbetsprocesser eller platser där avloppsvattnet agiteras t ex vid luftning, spolning och slampressning (Brandi et al 2000, Fracchia et al 2006). I regel är exponeringen utomhus låg utom strax ovanför luftningsbassänger eller inlopp i bassänger. Inomhus ökar risken för aerosoler, särskilt i lågt ventilerade utrymmen eller i samband med arbete i bassänger eller vid renovering av pumpar.

1.3 Medicinska effekter och riskbedömning

Arbete i reningsverk kan ge hälsopåverkan i form av mag-tarmsymptom, ovanlig trötthet, ledvärk och irritation i luftvägarna. Dessa slutsatser grundas på flera omfattande undersökningar av vilka den första publicerades 1954 (Anders 1954). Senare har tillkommit undersökningar från flera andra länder (Rylander et al 1976, Lundholm och Rylander 1983, Melbostad et al 1994, Laitinen et al 1994, Rylander 1999, Douwes et al 2001, Thorn och Kerekes 2001, Hansen et al 2001, Thorn et al 2002, Thorn och Beijer 2004, Krajewski et al 2004, Smit et al 2005, Heidal et al 2010).

Eftersom exponeringsrisken är störst vid arbetsmoment där avloppsvattnet agiteras, är det möjligt att göra en grov riskbedömning genom att uppskatta graden av agitering vid olika arbetsplatser. Ofta behövs dock mätningar av ett specifikt ämne för att få precisa exponeringsvärden. Dessa värden kan användas i riskbedömningen eller som undervisningsmaterial i arbetet på att förhindra uppkomst av hälsopåverkan.

I tidigare undersökningar har man framför allt gjort mätningar av endotoxin (Thorn et al 2002, Smit et al 2005, Heidal et al 2010). Metoderna för att bestämma endotoxin är dock komplicerade och analysen måste göras på speciallaboratorier. Det är också en stor variation mellan upprepade mätningar på samma mätplats och analyserna är dyra (Chun et al 2002).

Ett alternativ till mätning av endotoxin kunde vara att mäta andra beståndsdelar i mikroorganismer som förekommer i avloppsvatten och använda dessa som en indikator på exponeringen, även om det ämne som mäts i och för sig inte behöver ge upphov till hälsoproblem. En sådan beståndsdel är enzym från mikroorganismer. I en tidigare rapport (Rylander 2009) undersöktes bakterienzymet hydrolas (BH) med delvis osäkra resultat. Det finns ytterligare en kommersiellt tillgänglig metod som mäter enzymet N-acetylhexosaminidas (NAHA). Detta enzym har tidigare använts för att påvisa förekomst av mögel (Reeslev et al 2003, Rylander et al 2010) men har inte undersökts i vad avser exponering på reningsverk.

2 Projektets målsättning

I det aktuella forskningsprojektet har möjligheten att använda bakterieenzymer för att bestämma graden av exponering för avloppsvatten undersökts med följande specifika frågeställningar:

1. Finns enzymen NAHA och BH i avloppsvatten och i luften vid olika arbetsplatser i reningsverk?
2. Samvarierar mängderna enzym med mängden endotoxin?

För att belysa dessa frågeställningar gjordes undersökningar i olika avloppsreningsverk och samtidigt undersöktes de olika metodernas tillförlitlighet.

3 Material och metoder

3.1 Provtagning

Undersökningar har utförts på reningsverken i Bollnäs, Ekebo, Floda, Jönköping, Kumla, Lerum, Nyvång, Ryaverket (Göteborg), Varberg och Öresundsverket (Helsingborg). Prover av avloppsvatten har tagits i olika delar av verken.

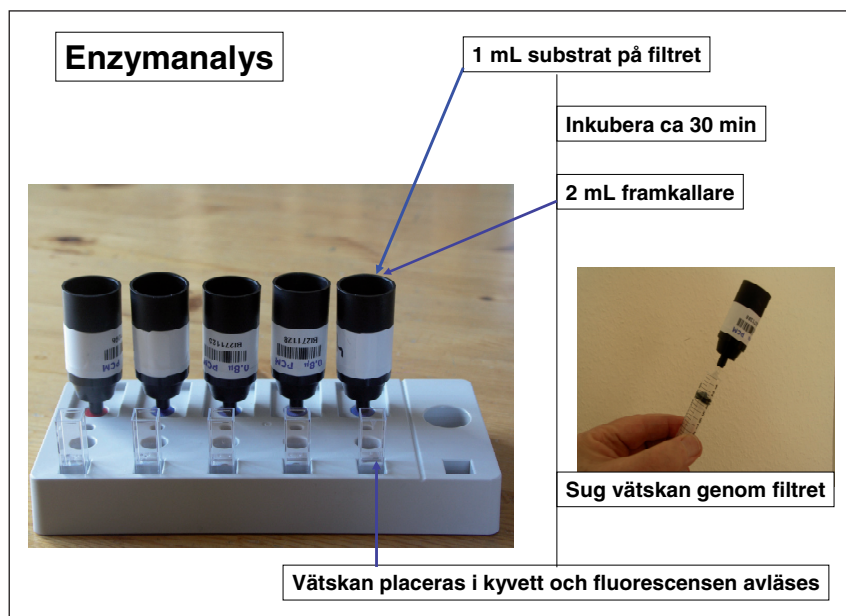
Luftprover har tagits med en pump med hög kapacitet (10–20 l/min, Gardner Denver VTF 3, USA) samt med en pump med mindre kapacitet avsedd för personburen utrustning (2 l/min, AirLite Sample Pump, SKC Inc, EightyFour PA; USA). Luftprover togs under 15–60 minuter och uppsamlades på en kommersiellt tillgänglig filterenhet som är förladdad med ett celluloacetatfilter (Mixed Cellulose Esters, 25 mm PCM Cassettes, 0,8 µm porstorlek, Zefon International, Inc., Ocala, FL, USA). Med tanke på att luftburet endotoxin i tidigare undersökningar insamlats med en annan typ av filterutrustning gjordes några provtagningar med sådana filter (Millipore HAWP celluloaester, 0,8 µm porstorlek, Billerica, MA, USA).

I undersökningen karakteriserades de olika arbetsplatserna där prover togs med hänsyn till agiteringsgraden av avloppsvatten eller slam. Agiteringsgraden varierade mellan olika verk vid samma typ av arbetsplats; så kunde t ex inloppet vid ett verk innebära kraftig agitering och vid ett annat verk en långsam vattenström. Vid klassificeringen i agiteringsgrad gjordes därför en subjektiv bedömning av graden av agitering av vatten eller slam just på den arbetsplatsen. Arbetsplatser där vattnet stod stilla eller rörde sig endast obetydligt och där ingen transport av slam förekom klassificerades som agiteringsgrad 1. Arbetsplatser med måttliga vattenrörelser, flöden mellan bassänger och utlopp samt sakta bearbetning av slam gavs agiteringsgrad 2 och arbetsplatser med forsande vatten, skvättande slam och kraftig luftning gavs agiteringsgrad 3.

3.2 Analys av enzymer

För analys av enzymer i vattnet sattes 100 µl avloppsvatten till 1 ml substrat för bakterieenzymet hydrolas (BH) eller för mögel/bakterieenzymet N-acetylhexosaminidas (NAHA) (Mycometer A/S, Köpenhamn, Danmark). Efter en framkallningstid, som bestäms av temperaturen, i regel ca 30 minuter, tillsattes en framkallare och fluorescensen i proven avlästes med en Picofluor fluorometer (Turner Designs, Sunnyvale, CA, USA). Detta värde dividerades med 10 och avrundades till närmaste heltal för att minska metodbetingad spridning. Resultaten uttrycktes om enheter per ml (E/ml).

För analys av luftproven sattes 1 ml enzymsubstrat direkt till filtret. Efter en inkubationstid på ca 30 minuter tillsattes 2 ml framkallare och vätskan sögs ut genom filtret. Vätskan sattes till en kyvett och behandlades på samma sätt som ovan. Resultaten uttrycktes som E/m³. Analysförfarandet för enzym illustreras i Figur 3-1.



Figur 3.1 Analys av enzym (bild R Rylander)

3.3 Analys av endotoxin

Mängden endotoxin i vatten- och luftprover analyserades med en utrustning för automatiserad avläsning och en reaktion med endotoxin baserad på reaktiviteten med Limuluslysats (Endosafe PTS, Charles River, Charleston SC, USA). Vattenproverna späddes med en glukansbuffert varefter 4 x 25 µl sattes till en analysplatta med Limulusextrakt och avlästes i en spektrofotometer. Resultaten uttrycktes i endotoxinenheter (EU)/ml. 10 EU motsvarar ca 1 nanogram endotoxin. För luftproverna sattes två ml endotoxinfritt vatten till luftfiltret och sögs sedan genom filtret. Vätskan späddes i en glukansbuffert och behandlades på samma sätt som vattenproverna. Resultaten uttrycktes som EU/m³.

4 Resultat

4.1 Vattenprover

4.1.1 Upprepade analyser av samma prov

En sammanfattning av resultaten från 10 upprepade analyser av 2 olika vattenprov redovisas i Tabell 4-1.

Tabell 4-1 Spridningen för NAHA och BH (E/ml) i 2 försök med 10 analyser av samma vattenprov. SEM = standardavvikelse för medelvärdet.

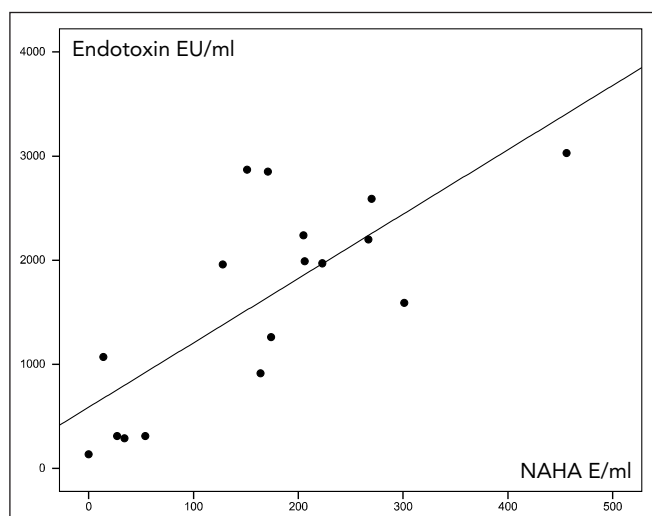
Mått	NAHA	BH
Försök 1		
Medelvärde	749	3 071
SEM	8	974
Försök 2		
Medelvärde	222	2 070
SEM	14	94

Resultaten visar att mängden BH var högre än mängden NAHA. Variationen i värden mellan de olika proverna var i det första försöket högre för BH än för NAHA. Ett mindre antal upprepade analyser av endotoxin i vatten gjordes också ($n = 5$, medelvärde 7020 EU/ml, SEM = 145). Detta visar att spridningen mellan upprepade provtagningar var relativt liten också för denna analys.

4.1.2 Samband mellan tre analysparametrar

Mängderna endotoxin, BH och NAHA analyserades vid 2 tillfällen i 7–10 olika vattenprover. Det fanns signifikanta samband mellan NAHA och endotoxin (korr koeff = 0,694, $p = 0,002$) och mellan NAHA och BH (korr koeff = 0,579, $p = 0,007$). Det fanns inget samband mellan BH och endotoxin.

Sambandet mellan mängden endotoxin och NAHA i vattenprover redovisas i Figur 4-1. Figuren visar att det fanns ett nära samband mellan mängden NAHA och mängden endotoxin i avloppsvatten.



Figur 4-1
Sambandet mellan mängden endotoxin och NAHA i prover från avloppsvatten (korr koeff = 0,694, $p = 0,002$).

4.2 Luftprover

4.2.1 Upprepade mätningar på samma plats

Tabell 4-2 visar resultaten från två försök med 10 mätningar vid samma arbetsplats.

Tabell 4-2 Spridningen för NAHA och BH (E/m³) i två försök med 10 analyser av luftprover vid samma arbetsplats. SEM = standardavvikelse för medelvärdet.

Mått	NAHA	BH
Slamtömning		
Medelvärde	81	954
SEM	13	393
Slampress		
Medelvärde	149	173
SEM	18	99

Resultaten visar att variationen mellan upprepade mätningar var högre för BH än för NAHA.

4.2.2 Jämförelse mellan olika filter och olika luftflöden

Mängden endotoxin bestämdes vid sju olika arbetsplatser genom parallella mätningar med cellulosacetatfilter med 0,8 µm porstorlek och cellulosaefterfilter med 0,8 µm porstorlek. De senare filtren gav i medeltal ett 3 gånger högre värde av endotoxin (range 1,7–8,6).

Mängden NAHA bestämdes vid samma arbetsplats med olika luftflöden genom filtret. Uppmätt värde i förhållande till värdet vid flödet 2 l/min redovisas i tabell 4-3.

Tabell 4-3 NAHA i filter insamlade med olika luftflöden Uppmätt värde i förhållande till värdet vid flödet 2 l/min. Medelvärde av 5 mätningar.

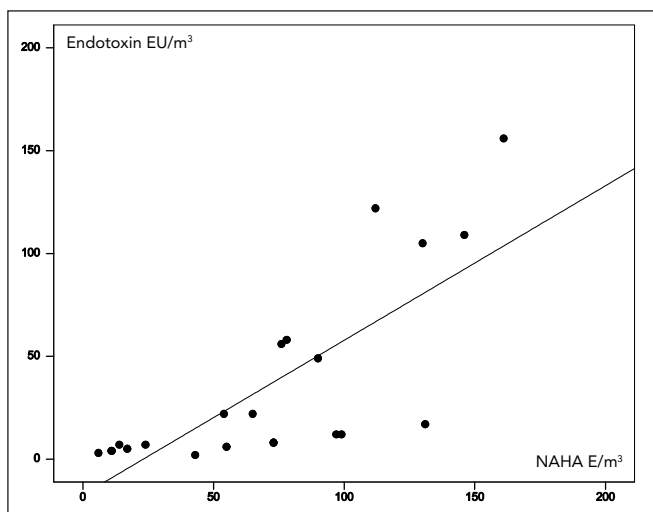
Provvolyt l/min	20	15	10	2
Värde rel 20 l	1	1,1	1	2,5

Mängderna NAHA uppmätta med filter med det lägsta flödet var högre än dem som uppmättes med högre flöden. En teoretisk beräkning av värden vid olika mängder luftburet NAHA samt olika provtagningsvolymmer visade att den minsta provtagningsmängden bör vara 100 liter luft för att man skall kunna dra säkra slutsatser av ett lågt NAHA värde och utesluta en risk.

4.2.3 Jämförelse mellan NAHA och endotoxin

Resultaten från samtidiga mätningar av NAHA och endotoxin i luften vid olika arbetsplatser illustreras i figur 4-2.

I likhet med vattenproverna fanns det ett signifikant samband mellan mängden NAHA och endotoxin. Vid låga värden för endotoxin fanns det enstaka värden med höga NAHA-mått medan höga mängder endotoxiner alltid var kopplade till höga mängder NAHA. Parallella mätningar av endotoxin och BH gjordes inte.

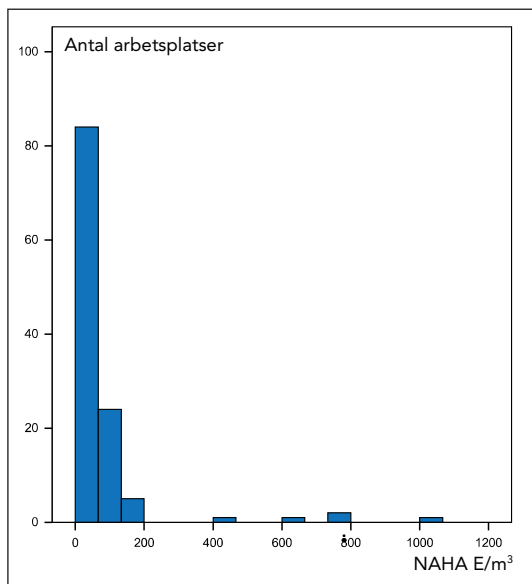


Figur 4-2

Sambandet mellan NAHA och endotoxin i luftprover från olika arbetsplatser i reningsverk (korr koeff = 0,844, $p < 0,001$)

4.2.4 Mätning vid olika arbetsplatser

Fördelningen av mängden NAHA vid de olika arbetsplatserna illustreras i figur 4-3.



Figur 4-3.

Mängden NAHA (E/m^3) vid olika arbetsplatser på reningsverk

Figuren visar att höga värden uppmätts vid relativt få arbetsplatser. Värden överstigande 50 NAHA E/m^3 uppmättes vid 40 av 118 arbetsplatser, framför allt sådana med hög agiteringsgrad eller i samband med lastning av slam.

Resultaten från mätningar vid arbetsplatser med olika agiteringsgrad av avloppsvattnet visade att det fanns ett signifikant samband mellan mängden BH och NAHA (korr koeff = 0,693, $p < 0,001$) samt mellan NAHA och endotoxin (korr koeff = 0,726, $p < 0,001$). En sammanfattning av mängderna vid arbetsplatser med olika agiteringsgrad redovisas i Tabell 4-4. Underlaget med enskilda mätvärden redovisas i Appendix 1.

Tabellen visar att det med ökande agitering fanns en högre mängd endotoxin, BH och NAHA. Det fanns ett signifikant samband mellan mängden NAHA och agiteringsgrad (korr koeff = 0,800, $p < 0,001$) samt mellan BH

Tabell 4-4 Mängden luftburet endotoxin (EU/m³), BH och NAHA (E/m³) vid arbetsplatser med olika grader av agitering av avloppsvatten.
n = antal mätningar samt medeltal och SEM (standardavvikelse för medelvärdet).

Grad	n Endotoxin	n BH	n NAHA
1 låg	3 -	14 12,2 (9,1)	18 3,3 (1,4)
2 måttlig	7 9,1 (2,3)	34 25,3 (8,8)	44 16,7 (2,8)
3 hög	16 48,7 (12,7)	20 1 179 (657)	56 132 (27,3)

och agiteringsgrad (korr koeff = 0,657, $p < 0,001$). Det framgår också att spridningen i värdena för BH var väsentligt högre än för NAHA, särskilt vid den högsta agiteringsgraden.

5 Kommentarer

5.1 Metodfrågor

Resultaten visar att avloppsvatten innehåller såväl bakterieenzymet hydrolas (BH) som mögel/bakterieenzymet N-acetylhexosaminidas (NAHA). Detta är ett förväntat resultat med tanke på avloppsvattnets ursprung och sammansättning.

Luftprovtagningarna gjordes med provtagningsrör förladdat med filter. Handhavandet av detta är enklare än laddningen av filter i en kassett, en metod som använts i många tidigare undersökningar. En jämförelse mellan filtertyper visar att högre värden erhöles med en filtertyp som ofta använts i tidigare undersökningar. Detta beror troligen på en högre retention i de i denna undersökning använda filtren. Också luftvolymen som sögs genom filtret påverkade mätvärdet. Vid lågt luftflöde erhöles högre värden, troligen beroende på penetration av partiklar genom filtret vid högre luftflöden. Detta visar på det viktiga att standardisera filtertyp och provtagningsvolym när en metod sätts upp.

Vid analyserna var spridningen av mängden BH stor såväl vid mätningar i vatten som i luft. I ett tidigare projekt (Rylander 2009) visades att mängden BH på filter minskade snabbt under lagring. NAHA värdena hade en avsevärt mindre spridning och erfarenheter från tidigare projekt (Reeslev et al 2003) visar att en lagringstid på ett par veckor inte påverkar mängden NAHA uppsamlat på luftfilter. Mot denna bakgrund är mätningar av NAHA metodmässigt bättre än mätningar av BH.

Beträffande NAHA och endotoxin fanns det ett samband i såväl vatten- som luftprover. En högre mängd NAHA betyder alltså en högre mängd endotoxin. I tidigare undersökning kunde något samband mellan endotoxin och NAHA inte påvisas (Rylander 2009). Skillnaderna i resultat beror troligen på att analys-metoderna var olika. I detta projekt användes en datoriserad behandling och utspädning av proven i motsats till den tidigare använda tekniken där utspädningarna gjordes manuellt. Trots att precisionen är större med den nya metoden, är analys av endotoxin fortfarande mer komplicerad och avsevärt dyrare än analys av NAHA.

5.2 Riskvärdering

Erfarenheterna från de mätningar som gjorts i projektet visar att en exponering för höga halter endotoxin och enzym är relativt ovanlig i reningsverk. Detta överensstämmer med tidigare erfarenheter från undersökningar i Sverige och Nederländerna (Thorn et al 2002, Smit et al 2005). Utomhus är mängderna små men kan vara högre inomhus vid arbetsplatser där avloppsvattnet eller slammet agiteras eller i samband med rengöring av pumpar och spolning av bassänger. I det dagliga arbetet är sålunda den enklaste metoden för riskvärdering att identifiera arbetsplatser inomhus där aerosolbildning kan förekomma till följd av att vattnet eller slam är i rörelse eller agiteras.

Mätning av mängden luftburet NAHA kan användas för att beskriva risken för exponering för endotoxin och därmed risken för uppkomst av medicinska effekter. Mätningar av NAHA kan göras för att beskriva exponeringen vid en viss arbetsplats samt för att undersöka effekten av olika tekniska åtgärder t ex installation av ventilation eller förändring av en arbetsprocess. Resultaten från mätningar av NAHA kan också användas för att illustrera risken för exponering och sålunda motivera arbetstagare att vidta skyddsåtgärder.

Erfarenheterna från denna och tidigare undersökningar visar att risken för höga exponeringar för avloppsvatten uppträder vid vissa arbetsmoment och att man oftast arbetar en relativt kort tid vid samma arbetsplats. Detta gör att mätningar över en arbetsdag med personburen mätutrustning inte ger en korrekt bild av risken. Mätningar skall företas i anslutning till speciella arbetsmoment och förebyggande åtgärder vidtas utgående från dessa mätningar. För sådana mätningar, som kan omfatta relativt korta tidsmoment t ex i samband med spolning, rengöring och provtagning, är personburen utrustning inte lämplig eftersom pumpen har en låg provtagningsvolym.

5.3 Gränsvärde

Det ligger inte inom ramen för det aktuella forskningsprojektet att utarbeta värden för maximal exponering under arbetsdagen. Frågan kan dock belysas enligt följande. Undersökningen visar på ett nära samband mellan NAHA och endotoxin såväl i avloppsvatten som i luftprover. Teoretiskt skulle man kunna tillämpa erfarenheter från tidigare riskuppskattningar för endotoxin för att beräkna ett värde för NAHA, ovanför vilket risk för medicinska effekter föreligger. Förslag till gränsvärde för endotoxin på 50 EU/m³ har presenterats av The National Health Council i Nederländerna (Liebers et al 2006). Den i föreliggande undersökning generellt använda filtertypen gav ca 3 gånger lägre värde än den vid endotoxinanalyser vanligen använda filtertypen (sektion 4.2.2). Detta gör att värdet 50 EU/m³ motsvarar ca 17 EU i denna undersökning. Enligt det samband mellan endotoxin och NAHA som redovisats i Figur 4-2, skulle detta motsvara ett NAHA-värde på ca 45 E/m³. Värdet är naturligtvis osäkert men förvånansvärt nära det värde på 30 som i tidigare undersökningar med stor säkerhet indikerar förekomst av mögelväxt inomhus (Rylander et al 2010) och den gräns där en ökad risk för sjukdomarna sarcoidos och nattastma påvisats (Tercelj et al 2011a, Tercelj et al 2011b).

Exponeringstidens längd är också en viktig faktor. Erfarenheter från inhalationsförsök med rent endotoxin samt fallbeskrivningar från personal i reningsverk visar att effekter kan uppkomma efter en relativt kort exponering. I avsaknad av specifika undersökningar rörande sambandet mellan NAHA och hälsoeffekter, skulle ett värde på 50 NAHA E/m³ och en exponeringstid överstigande 15 minuter kunna användas som ett provisoriskt värde för högsta tillåtna exponering i reningsverk för avloppsvatten.

I appendix 2 visas ett exempel på protokoll från mätningar i ett reningsverk.

6 Slutsatser

Det finns ett samband mellan mängden endotoxin och NAHA i avloppsvatten och i luften. Mätning av enzymet NAHA ger därför ett mått på risken för endotoxinexponering och därmed medicinska risker vid arbete i reningsverk för avloppsvatten. Höga värden förekommer vid de arbetsplatser där vattnet eller slammet agiteras. På grundval av befintliga data är det troligt att en exponering för värden överstigande 50 NAHA E/m³ under mer än 15 minuter kan medföra risk för medicinska effekter.

7 Referenser

- Anders W. Der Berliner Kanal Betriebsarbeiter. Zeitschrift für Hygiene 1954; 139: 341–371.
- Brandi G, Sisti M, Amagliani G. Evaluation of the environmental impact of microbial aerosols generated by wastewater treatment plants utilising different aeration systems. J Appl Microbiol 2000; 88: 845–852.
- Chun DTW, Chew V, Bartlett K, et al. Second Inter-laboratory study comparing endotoxin assay results from cotton dust. Ann Agric Environ Med 2002; 9: 49–53.
- Douwes J, Mannetje A, Heederik D. Work-related symptoms in sewage treatment workers. Ann Agric Environ 2001; 8: 39–45.
- Fracchia L, Pietronave S, Rinaldi M, Martinotti MG. Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants. Water Res 2006; 40:1985–1994.
- Hansen ES, Hilden J, Klausen H, Rosendahl N. Wastewater exposure and health – a comparative study of two occupational groups. Occup Environ Health 2001; 60: 595–598.
- Heidal KK, Madsö L, Huser PO, Eduard W. Exposure, symptoms and airway inflammation among sewage workers. Ann Agric Environ Med 2010; 17: 263–268.
- Korzeniewska E. Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants – a review. Front Biosci 2011; 3: 393–407.
- Krajewski JA, Cyprowski M, Szymczak W, Gruchala J. Health complaints from workplace exposure to bioaerosols: a questionnaire study in sewage workers. Ann Agr Environ Med 2004; 11: 199–204.
- Laitinen S, Kangas J, Kotimaa M, Liesivuori J, Martikainen PJ, Nevalainen A, Sarantila R, Husman K. Workers' exposure to airborne bacteria and endotoxin at industrial wastewater treatment plants. Am Ind Hyg Ass 1994; 55: 1055–1060.
- Liebers V, Brüning T, Raulf-Heimsoth M. Occupational endotoxin-exposure and possible health effects on humans. Am J Ind Med 2006; 49: 474–491.
- Lundholm M, Rylander R. Work related symptoms among sewage workers. Brit J Ind Med 1983; 40: 325–329.
- Melbostad E, Eduard W, Skogstad A, Sandven P, Lassen J, Sostrand P, Heldal K. Exposure to bacterial aerosols and work-related symptoms in sewage workers. Am J Ind Med 1994; 25: 59–63.
- Oppliger A, Hilfiker S, Vu Duc T. Influence of seasons and sampling strategy on assessment of bioaerosols in sewage treatment plants in Switzerland. Ann Occup Hyg 2005; 49: 393–400.

- Pascual L, Pérez-Luz S, Yáñez MA, Santamaría A, Gibert K, Salgot M, Apraiz D, Catalán V. Bioaerosol emission from wastewater treatment plants. *Aerobiologia* 2001; 19: 261–270.
- Pražmo Z, Krysinska-Traczyk E, Skórska C, Sitowska J, Cholewa G, Dutkiewicz J. Exposure to bioaerosols in a municipal sewage treatment plant. *Ann Agric Environ Med* 2003; 10: 241–248.
- Reeslev, M. Miller, M. Nielsen, KF. Quantifying mold biomass on gypsum board: comparison of ergosterol and beta-N-acetylhexosaminidase as mold biomass parameters. *Appl Env Microbiol* 2003; 69: 3996–3998.
- Rylander R, Andersson K, Belin L, Berglund G, Bergström R, Hansson LÅ, Lundholm M, Mattsby I. Sewage worker's syndrome. *Lancet* 1976; 8: 478.
- Rylander R. Health effects among workers in sewage treatment plants. *Occup Environ Med* 1999; 56: 354–357.
- Rylander R. Endotoxin in the air – good or bad for you? *Clinical Pulmonary Med* 2007; 14: 140–147.
- Rylander R. Endotoxin och bakterieenzym i reningsverk för avloppsvatten. *Svenskt Vatten Utveckling* 2009-01.
- Rylander R. Organic dust induced pulmonary disease – the role of mould derived β -glucan. *Ann Agr Env Med* 2010; 17: 9–13.
- Rylander R, Reeslev M, Hulander T. Airborne enzyme measurements to detect indoor mould exposure. *J. Environ Monit* 2010; 12: 2161–2164.
- Smit LAM, Spaan S, Heederik D. Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *Am J Ind Med* 2005; 48: 30–39.
- Stampi S, Zanetti F, Crestani A, De Luca G. Occurrence and seasonal variation of airborne gram negative bacteria in a sewage treatment plant. *New Microbiol* 2000; 23: 97–104.
- Tercelj M, Salobir B, Rylander R. a Airborne enzyme in homes of patients with sarcoidosis. *Env Health* 2011; 10:8.
- Tercelj M, Salobir S, , Roncevic-Grezetic T, Rylander R. b Nocturnal asthma and domestic exposure to fungi. 2011, manuskript
- Thorn J, Kerekes E. Health effects among employees in sewage treatment plants. *Am J Ind Med* 2001; 40:170-179.
- Thorn J, Beijer L, Rylander R. Work-related symptoms among sewage workers: a nationwide survey in Sweden. *Occup Environ Med* 2002; 59: 562–566.
- Thorn J, Beijer L, Jonsson T, Rylander R. Measurements strategies for the determination of airborne bacterial endotoxin in sewage treatment plants. *Ann Occup Hyg* 2002; 46: 549–554.
- Thorn J, Beijer L. Work-related symptoms and inflammation among sewage plant operatives. *Int J Occup Environ Health* 2004; 10: 84–89.

Appendix 1

Provplats	Endotoxin	NAHA	BactiQuant	Agitering
Högtryckspolning			1049	3
Luftinblåsning			10	2
Spolning			55	3
Spolning			8	3
Rör till bassäng			127	3
Rengöring slampress			16	2
Avvattning			12	2
Luftventil stängd			54	2
Högtrycksvätt			9 729	3
Pumpstation			20	2
Pumpgrop			27	3
Sandfång			75	3
Reaktorhall			2	1
Reaktorhall			0	1
Pumpstation			5	1
Rensgaller			0	1
Sandfång			0	1
Containerhall			0	2
Inne i container			298	2
Kompostventilation			9	1
Högtrycksvätt			1 049	3
Luftning			10	2
Spolning försed.			55	2
Spolning slutsed			8	3
Utgående vatten			129	1
Rengöring			16	2
Slutavvattning			12	2
Vent avstängd			54	2
Högtrycksvätt			9729	3
Pumpstation			20	1
Pumpstation		658		3
Sandfång		0		2
Föravvattning		0		2
Rensning		0		1
Luftningsbassäng		0		2
Provtagning		0		1
Reaktor		0		1
Spolning		168		3
Pumpstation		5		1
Ventilationsrum		0		1
Luckhall över håll		775		3
Luckhall		12		3
Slamhall		27		2
Slamhall		93		3
Lucka slamhall		115		3
Slamhall inre		10		2
Slamhall inre		14		2
Slamhall trp		59		2
Luckhall öppen		104		2
Laboratorium		2	1	1
Luckhall		8	62	2
Luckhall		5	56	2
Luckhall		2	28	2

Provplats	Endotoxin	NAHA	BactiQuant	Agitering
Luckhall		7	14	2
Förtjockning		0	0	1
Förtjockning		0	1	1
Förtjockning		0	4	1
Förtjockning		0	0	1
Förtjockning		0	0	1
Slamrens		16	16	2
Slamrens		19	8	2
Slamrens		23	7	2
Slamrens		19	19	2
Slamrens		24	6	2
Slamrens		16	3	2
Luckhall		10	4	2
Luckhall		6	0	2
Luckhall		5	0	2
Luckhall		5	16	2
Luckhall		3	6	2
Luckhall		2	0	2
Slamrens		16	16	2
Slamrens		19	8	2
Slamrens		23	7	2
Slamrens		19	19	2
Slamrens		24	6	2
Slamrens		16	3	2
Inlopp		103	6	3
Inlopp		112	13	3
Inlopp		138	280	3
Inlopp		108	228	3
Inlopp		137	292	3
Inlopp		94	123	3
Inlopp		104	176	3
Inlopp		100	177	3
Inlopp		108	202	3
Inlopp		105	229	3
Utebassäng luftn.		14		2
Utebassäng luftn.		30		3
Inlopp		34		3
Inlopp		25		3
Inlopp		74		3
inlopp		71		3
Inlopp		67		3
Rensrum		45		3
Försediment		8		1
Försediment		5		2
Sandfång	7	14		3
Fettavskiljare		4		2
Fettavskiljare		9		2
Sandfång	5	17		2
Ink. vatten		35		3
Ink. vatten	22	54		2
Ink. vatten		24		3
Ink. vatten		3		3
Ink. vatten		33		3
Ink. vatten		32		3
Ink. vatten		28		3
Spolning tank		25		3
Slamhall		111		3
Slamcentrifug		440		3

Provplats	Endotoxin	NAHA	BactiQuant	Agitering
Stillband		3		1
Slamtransport		55		3
Slamtransport		63		3
Slamtransport		59		3
Slamtransport		112		3
Slamtransport		68		3
Slamhall	104	130		3
Slamhall	139	161		3
Slamhall	22	65		3
Slamhall	49	90		3
Slamhall	109	146		3
Renslucka		33		3
Ny hall		1		1
Slamhall		4		2
Luftningsbass.	12	99		3
Luftningsbass.	8	73		3
Sed.bassäng	14	24		1
Slamhall	126			3
Slamhall	9	76		3
Slamhall	6	6		3
Slamhall	8			3
Pumphall		2		1
Buffert		43		2
Slutsediment	4	25		3
Slampress		32		3
Slampress		26		3
Slamtransport		1047		3
Slamtransport		760		3
Luftbassäng ute		9		2
Plaskbass.	56	76		3
Plaskbass.	112	122		3
Inlopp	11	10		2
Inlopp 2	8	5		2
Luftning	7	24		2
Sediment	11	10		1
Sediment 2	8	5		1
Flockning	7	24		2
Inlopp	9	43		3
Inlopp 2	4	11		2

Appendix 2

Exempel på mätprotokoll

Mätprotokoll reningsverket X-stad **9 september 2011**

Målsättning

Målsättningen för undersökningen var att mäta exponeringen för N-acetylhexosaminidas (NAHA) för riskbedömning vid olika arbetsplatser.

Utförande

Luftprover (225 l) togs med filter (cellulosaacetat, porstorlek 0,8 µm) och analyserades för mängden NAHA enligt standardiserad metod (Mycometer A/S, Köpenhamn, Danmark). Mängden (aktiviteten) NAHA rapporteras som enheter/m³. 10 enheter motsvarar ca 2 ng NAHA.

Resultat

Mätplats	NAHA E/m ³
1. Inlopp	36
2. Luftningsbassäng	15
3. Sand/fettavskiljning	< 5
4. Samma med öppen lucka	< 5
5. Flockningsbassäng	< 5
6. Ventilationsrum	< 5
7. Sedimenteringsbassäng	< 5
8. Provtagningslucka utlopp	< 5
9. Avvattnings	< 5
10. Blandningsbassäng	< 5
11. Containerrum	< 5

Tolkning

Värdena representerar mätning vid en tidpunkt, vilket gör att de skall tolkas med försiktighet. Erfarenheter från omfattande mätningar i andra reningsverk visar dock att exponeringen vid en och samma arbetsplats är relativt lika mellan olika mättillfällen, varför också enstaka värden kan användas vid en riskbedömning.

Värden understigande 5 NAHA E/m³ är värden som normalt finns i luften. Gränsvärden finns inte ännu men mer än 15 minuters vistelse i mängder överstigande 50 NAHA kan troligen medföra risker för symptom. Bland mätplatserna på X-stads reningsverk fanns endast två arbetsplatser med något högre värden. En förebyggande åtgärd är att bära munskydd vid arbete på dessa ställen.



Box 47607, 117 94 Stockholm
Tel 08 506 002 00
Fax 08 506 002 10
E-post svensktvatten@svensktvatten.se
www.svensktvatten.se