

Ontwikkeling van een immunochemische methode voor de bepaling van rat-antigenen in de lucht

Ir. A. Hollander¹, P. van Run¹, I. Oortgiese¹, Dr. Ir. D. Heederik¹

Summary

In the Netherlands more than 4000 workers are exposed to allergens produced by laboratory animals. An immunochemical method is described to determine the level of rat-antigens in the air in the workplace. This method is very sensitive (up to 33.8 picograms/ml) and also rather reliable (variation-coefficient 8,6%).

This method is used in a pilot-study in which the effect of an increase of the number of animals and the use of filter-covers on the cages is studied. A higher number of animals results in an increase in antigen level, but this effect is far more pronounced at night, when animal activity is high. The use of filter-covers reduces antigen level significantly.

Samenvatting

Ruim 4000 proefdierwerkers staan tijdens hun werk bloot aan proefdierallergenen. Dit onderzoek beschrijft de ontwikkeling van een immunochemische methode om rat-antigenen te meten in de lucht. De methode is met een laagst meetbare concentratie van 33,8 pg/ml zeer gevoelig. Een variatiecoëfficiënt van de analyse van 8,6% geeft aan dat de methode ook nauwkeurig is.

De methode is toegepast in een kleinschalig interventie onderzoek. Er was een duidelijke toename van de concentratie zichtbaar bij een toename van het aantal dieren in de ruimte. Dit effect bleek 's nachts vele malen groter te zijn dan overdag. Het gebruik van filterkappen op de bakken waarin de dieren zich bevinden gaf een significante reductie van de concentratie van rat-antigenen in de lucht te zien.

Inleiding

Heederik en Smid (1988) schatten in hun literatuuroverzicht dat ongeveer 200 000 mensen worden blootgesteld aan biologische factoren tijdens hun werk. Tot deze groep behoren ruim 4000 proefdierwerkers. Het werken met proefdieren kan allergische rhinitis, conjunctivitis en astma veroorzaken. Deze allergische klachten worden aangeduid met de term proefdierallergie. In onderzoeken naar proefdierallergie zijn hoge klachtenprevalenties gevonden die variëren van 11% tot 44% (Lincoln e.a., 1974; Lutsky & Neuman, 1975; Taylor e.a., 1976; Gross, 1980; Cockcroft e.a., 1981; Davies en McArdle, 1981; Newman-Taylor e.a., 1981; Schumacher e.a., 1981; Slovak en Hill, 1981; Beeson e.a., 1983; Agrup e.a., 1986; Bland e.a., 1986; Vanables e.a., 1988; Kibby e.a., 1989). Deze prevalentiestudies zijn moeilijk te vergelijken, omdat de onderzoeken verschillen in opzet, definitie van proefdierallergie, selectie in de populatie, en blootstelling. Tot nu toe zijn nog maar drie longitudinale onderzoeken uitgevoerd. Davies e.a. (1983) vonden in een groep van 148 beginnende proefdierwerkers dat 22 (15%) in hun eerste jaar allergische klachten tegen de rat ontwikkelden. In 2% ging het om astmatische klachten. In het onderzoek van Botham e.a. (1987) varieerde de incidentie van 10% tot 37% in het eerste jaar van blootstelling. De gemiddelde astma-incidentie was 2% na één jaar blootstelling. Kibby e.a. (1989) vond bij 69 proefdierwerkers in een periode van twee jaar dat 9 proefdierwerkers (13%) klachten hadden ontwikkeld tegen allergenen op het werk. Het onderzoek van Kibby e.a. (1989) is ook het enige longitudinale onderzoek waarbij de mate van blootstelling aan rat-antigenen in de analyse is meegenomen. Ze vonden echter relatieve risico's (RR) kleiner dan één tussen het voorkomen van een proefdierallergie en de blootstelling. Hierbij moet worden opgemerkt dat het hier handelde om slechts enkele blootstel-

lingsmetingen per taak en een populatie van slechts 69 proefdierwerkers. De gevonden incidenties (Davies e.a., 1983; Botham e.a., 1987; Kibby e.a., 1989) komen grofweg met elkaar overeen en bevestigen de hoge prevalenties van proefdierallergie die zijn gevonden in de verschillende dwarsdoorsnede-onderzoeken.

De bron van de klachten is afkomstig van de proefdieren. Urine, haar, huid, speeksel en bloed worden gezien als de bronnen voor de allergenen, waarbij urine als bron van de meest potente allergenen wordt gezien (Schumacher 1980; Longbottom 1979; Lutsky e.a., 1985). Extracten van urine, haar, huid, speeksel en bloed geven echter in immunochemische testen aan dat er tussen de extracten een hoge mate van kruisreactiviteit bestaat (Walls en Longbottom, 1985). Dit duidt op overeenkomstige allergenen (allergene determinanten) in de extracten. Immunochemische methoden maken het mogelijk om de blootstelling aan proefdierallergenen te meten. Deze methoden kunnen gebruikt worden bij het leggen van een blootstelling-respons relaties. Een andere toepassing is het bekijken van de effectiviteit van maatregelen die als doel hebben de blootstelling te reduceren.

Ondanks het feit dat er nog geen blootstellingsnivo bekend is waaronder er geen sensibilisatie optreedt, zijn er in het buitenland onderzoeken gedaan naar de mogelijkheden om de allergeenconcentratie in proefdiercentra te reduceren.

Zo is het mogelijk om de concentratie te reduceren door het wegnemen van de bron, in dit geval de dieren. Hierbij kan gedacht worden aan het verminderen van het gebruik van proefdieren door andere systemen voor onderzoek, zoals het gebruik van weefselkweken. Ook kan gedacht worden om over te stappen op andere dieren. Zo vond Sakaguchi e.a. (1992) dat het gebruik van vrouwelijke muizen een reductie gaf van de gevoeligheid allergenen in de lucht variërend tussen de 40 en 90 procent. Vaak blijkt het vervangen van proefdieren heel moeilijk

1. Vakgroep Humane Epidemiologie en Gezondheidsleer Landbouwniversiteit Wageningen.

en moet de emissie van de allergenen worden verminderd. Zo vonden Edwards e.a. (1983) dat een verhoging van de luchtvochtigheid van gemiddeld 54% tot gemiddeld 77% tot een verlaging in concentratie leidde, die varieerde tussen 50% en 90% van de normale concentratie. Ook aan de kooien zelf kunnen veranderingen plaatsvinden die de blootstelling reduceren. Platts-Mills e.a. (1986) en Gordon e.a. (1992) vonden dat het gebruik van type beddingmateriaal van invloed is op de allergenenconcentratie in de ruimtes. Houtsnippers bleken voor een duidelijk lagere concentratie te zorgen dan zaagsel. Gordon e.a. (1992) vonden de laagste concentratie bij het gebruik van een tissue-achtig adsorptiemateriaal. Zij vonden een geometrisch gemiddelde rat-allergeenconcentratie van 2,47 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ bij het gebruik van dit adsorptiemateriaal en 7,79 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ bij het gebruik van zaagsel. Sakaguchi e.a. (1992) vonden een reductie van meer dan 50% bij het gebruik van maisschroot in vergelijking met houtsnippers. Gordon e.a. (1992) vonden bij het gebruik van een filterkap op de kooien (bakken) een significantie reductie van de concentratie van 75%. Ook het aantal dieren in de ruimte bleek van invloed op de concentratie. Uit hun resultaten bleek dat de concentratie met ongeveer 60 ng/m^3 per rat toenam.

Een andere manier is om de allergenen uit de lucht te verwijderen. Edwards e.a. (1983) vonden dat een reductie van de ventilatievoud (aantal luchtwisselingen) van 14,7 tot 7,7 keer per uur in de ruimte een 2 tot 15 voudige toename van de concentratie gaf. Swanson e.a. (1990) vonden in hun onderzoek dat een verhoging van de ventilatievoud een reductie van de concentraties veroorzaakte. Echter hiervoor was wel een hoog ventilatievoud nodig om voldoende reductie te krijgen, namelijk 172 keer per uur bij een bezetting van 300 ratten in de kamer. De normale ventilatievoud in proefdiercentra is ongeveer 15 wisselingen per uur.

Daarnaast kan het gebruik van speciale afzuigeenheden waarin de dieren zich bevinden zoals Ziemann e.a. (1992) beschrijven, of het afschermen van de kooien (Yamauchi e.a. (1989) bijdragen tot een reductie van de allergenenconcentratie.

Een probleem bij het reduceren van de blootstelling door technische maatregelen is echter, dat bij een verstoring van de dieren er een duidelijk toename van de allergenenconcentraties optreedt (Platts-Mills e.a., 1986; Gordon e.a., 1992). Deze toename is juist voor de proefdierwerkers belangrijk, omdat deze toename vaak tijdens werkzaamheden voorkomt en dus een grote bijdrage heeft tot de werkelijke blootstelling van de werknemers.

Een andere mogelijkheid om de blootstelling zo laag mogelijk te houden is het aanpassen van het werk waardoor zo weinig mogelijk contact optreedt met de dieren of materiaal van de dieren. Dit kan ook gebeuren door een goede hygiëne zoals was en omkleed procedures, dierenruimtes duidelijk afgescheiden van andere werkrumtes, nat reinigen, vaker reinigen enz. Ook kunnen persoonlijke beschermingsmiddelen voor kortdurend gebruik een oplossing geven. Echter bijvoorbeeld een 'airstreamhelm' geeft geen totale bescherming. Newill e.a. (1989) vonden dat astmatische mensen toch klachten kregen, zelfs bij het gebruik van de 'airstreamhelm'.

Dit onderzoek beschrijft de ontwikkeling van een methode om rat-antigenen¹ te meten in de lucht en een kleinschalig interventie onderzoek, waarbij is gekeken naar de

1. Hier zal verder worden gesproken over antigenen in plaats van allergenen, omdat in dit onderzoek wel eiwitten afkomstig van urine van ratten worden gemeten, maar nog niet bekend is of deze eiwitten ook allergenen zijn.

invloed van het aantal dieren in de ruimte en het gebruik van filterkappen op de bakken waarin de dieren zich bevinden, op de concentratie van antigenen in de lucht.

Materiaal en methoden

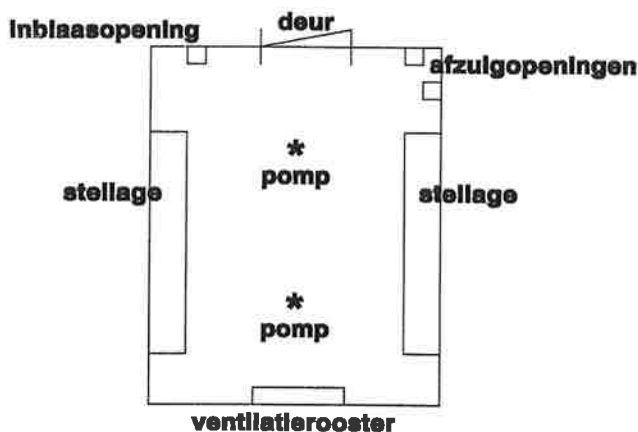
Inleiding

In één proefdierruimte zijn elke week tien extra bakken met ratten geplaatst. Elke bak bevatte 2 mannelijke Wistar ratten. In de eerste week is de kamer geheel leeg geweest. In de laatste week waren er in totaal 80 ratten in de kamer. De bakken zijn altijd gelijk verdeeld geweest over de stellages aan beide zijden van de kamer. Naast de invloed van het aantal dieren op de concentratie is ook gekeken of het aanbrengen van een filterkap op de bak, invloed had op de concentratie rat-antigenen in de lucht. In verband met praktische randvoorwaarden is dit alleen gedaan bij een bezetting van 40 ratten in de ruimte. Deze filterkappen zijn gedurende een week op bakken aanwezig geweest.

Proefdierkamer

De proefdierkamer bevond zich in het proefdiercentrum op de derde verdieping van de hoogbouw. Een plattegrond van de kamer is te zien in figuur 1. Tijdens de metingen was de kamer voorzien van een overdruk. De gemiddelde ventilatievoud was ongeveer 7 uur^{-1} . Het ventilatiesysteem van de kamer bestond uit één inblaasopening en twee afzuigopeningen. Onder het raam zat een klein ventilatierooster.

Figuur 1. Overzicht van de proefdierkamer



Stofmetingen

In de ruimte waren twee totaalstofpompen opgesteld (zie figuur 1). De stofmetingen zijn op een hoogte van ca. 1,5 m verricht. Het totaalstof is gedefinieerd als het stof dat gemonsterd wordt met een aanzuigsnelheid van 1,25 m/s in de aanzuigopening. Deze opening is gedurende de monstername naar beneden gericht. Voor de monstername werden Schleicher en Schüll PL050/1 filterhouders (doorsnede aanzuigopening: 2,0 cm) en glasvezelfilters (Whatman GF/A) met een doorsnede van 4,7 cm gebruikt. Het debiet van de pomp werd op 23,5 l/min ingesteld zodat de luchtsnelheid in de aanzuigopening 1,25 m/s bedroeg. Met een gasmeter werd het gemonsterde volume geregistreerd.

De stofmetingen werden overdag gedaan van ongeveer 9 uur tot 17 uur en 's nachts van 17 uur tot 9 uur. Gedurende een week vond de eerste meting plaats op maandag om 9 uur en de laatste meting op vrijdag 9 uur.

Antigeen-bepaling

– Materiaal

Bij de analyse wordt gebruikt gemaakt van een microtiterplaat van polystyreen (Greiner, hoge capaciteit, gam-masteriel, vlakbodem, typenr. 655061). Dit is een plaat met 96 putjes, die elk maximaal 300 µl vloeistof kunnen bevatten. De antigenen voor de standaard zijn verkregen door extractie van de eiwitten uit de urine van ratten. De urine is een mengsel van urine van oude (ouder dan drie maanden) en jonge ratten (jonger dan drie maanden) en van vrouwelijke en mannelijke ratten. De urine is uiteindelijk door de firma Diephuis opgewerkt (produktnr. 15.79; lotnr. X22488) en is geschikt voor huidpriktests, IgE-antilichaam analyse en antigeen-bepalingen. De antilichamen voor de antigeen-bepaling zijn verkregen door immunisatie van een konijn (witte Nieuwzeelander) met het extract van Diephuis. Deze antilichamen zijn gezuiverd door middel van ammoniumprecipitatie en dialyse. Een deel van de antilichamen is voorzien van een biotine label.

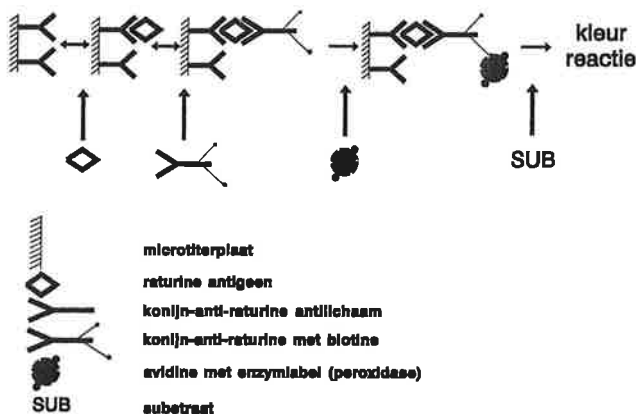
– Opwerking filters

De filters zijn in een centrifugebuis gebracht met 5 ml PBS (pH = 7,4). De buizen zijn 2 minuten op de vortex geplaatst en vervolgens gesoniceerd gedurende 2 minuten. Het water in het ultrasoonbad werd hierbij gekoeld. De vortex (5 minuten) en sonicatie procedure (2 minuten) zijn herhaald. De buizen worden vervolgens 5 minuten gecentrifugeerd met de swing-out rotor bij 5000 g (5500 RPM) en 10°C. Dan wordt het supernatant overgepipetteerd in een schone centrifugebuis en nogmaals gecentrifugeerd. Het supernatant wordt bij -20°C bewaard.

– Methode

Voor de bepaling van rat-antigenen in de lucht is een specifiek type EIA (Enzym-immuno-assay) gebruikt, namelijk de 'sandwich-methode'. Het principe van deze methode is dat het antigeen wordt ingevangen door twee antilichamen gericht tegen eiwitten uit de urine van ratten, waarvan de eerste is gekoppeld aan de wand van de microtiterplaat en het tweede antilichaam is voorzien van biotine. De werking van de ontwikkelde immunochemische methode voor rat-antigenen is schematisch weergegeven in figuur 2.

Figuur 2. Schematische weergave van de bepaling van rat-antigenen.



Tussen elke stap wordt de plaat gewassen met een wasbuffer (PBS-Tween20). Als eerste stap wordt een vaste concentratie van specifiek polyclonaal konijn-anti-raturine antilichaam door middel van een hydrofobe binding aan de wand van het putje gekoppeld. Na de wasstap worden de niet-gebonden plaatsen geïnactiveerd met gelatine

('nacoaten'). Hierna wordt de plaat geïncubeerd met verdunningen van de te bepalen monsters en een ijklijn van raturine-antigeen. De ijklijn wordt in tweevoud opgebracht en bestaat uit de volgende reeks; 1500, 1000, 750, 375, 250, 187,5, 125, 93,75, 62,5, 46,9 en 31,25 pg/ml. Alle monsters worden in tweevoud geanalyseerd. De analyse hiervan vindt echter plaats op twee verschillende dagen.

Na deze incubatie wordt op de plaat hetzelfde polyclonaal konijn-anti-raturine antilichaam gebracht. Deze antilichamen zijn nu echter gelabeld met biotine. Na de incubatie en wasstap wordt de plaat met avidine (waaraan het enzym peroxidase is gekoppeld) geïncubeerd. Na de laatste wasstap wordt het substraat toegevoegd. Het enzym zet het substraat om in een gekleurd reactieproduct. De reactie wordt gestopt met zoutzuur, waarna het resultaat met een EIA-reader worden uitgelezen bij 492 nm. Een hogere extinctie komt overeen met meer raturine-antigenen in het monster. Hierna wordt de concentratie berekend van ieder monster met behulp van het Softmax programma (versie 2.01, Molecular Devices Corporation, USA). De curve door de standaarden wordt bepaald met behulp van de 4 parameter methode.

Statistische verwerking

De gegevens zijn statistisch verwerkt met behulp van SAS (Statistical Analysis Software). Voor de variantieanalyse is gebruik gemaakt van de procedures PROC GLM en PROC REG. De waarden van de blootstellingsmetingen bleken beter te voldoen aan een lognormale verdeling dan aan een normale verdeling, zodat in de analyses gewerkt is met log-getransformeerde waarden.

Resultaten

Inleiding

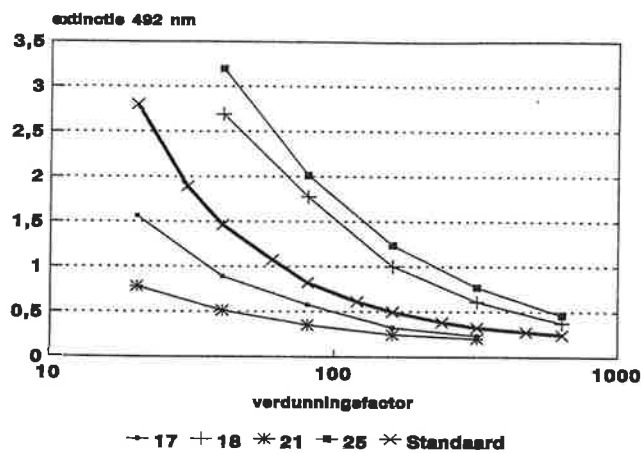
In totaal zijn er in de zes weken 67 totaalstofmonsters genomen. Naast deze 67 monsters zijn ook 16 blanco's meegenomen. De gemiddelde waarde van deze blanco's was in de antigeen-bepaling 33,8 pg/ml. Monsters met een waarde kleiner dan 33,8 pg/ml hebben een waarde meegekregen die lag op 2/3 van de gemiddelde waarde van de blanco's, namelijk 22,5 pg/ml. Omgerekend betekent dit een stofconcentratie van ongeveer 10 pg/m³ voor een totaalstofmeting van acht uur. Alle monsters zijn in duplo bepaald. De variatiecoëfficiënt van de analyse (CV_a) die uit de 67 duplo's is bepaald, is 8,6%.

In figuur 3a staan de verdunningslijnen van enkele monsters en de standaard. De monsters vertonen eenzelfde verloop als de standaard. Hieruit volgt dat de concentratie van een monster niet afhankelijk is van de verdunning waarop het geanalyseerd wordt. Dit beeld is zichtbaar in figuur 3b waar de concentraties berekend zijn bij de verschillende verdunningen. Alleen wanneer de concentratie wordt berekend bij één van de uiteinden van de standaardlijn treedt er een afwijking op.

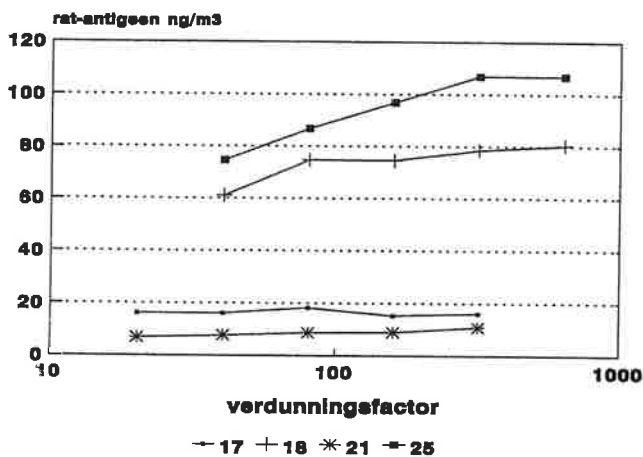
Tijdens de analyse zijn er ook standaarden (10 µg/ml) van muisurine en varkensurine meegenomen. Varkensurine gaf een reactie lager dan de detectiegrens. De muisstandaard gaf een reactie van 83 pg/ml. Dit geeft aan dat de methode zeer specifiek is voor het meten van rat-antigenen.

In tabel 1 zijn de gemiddelde blootstellingsmetingen per week te zien. Hierbij is geen onderscheid gemaakt tussen dag en nacht metingen. In de tabel valt op dat het gebruik van een filterkap grote invloed heeft op de concentratie van rat-antigenen. Deze komt overeen met de concentraties die gevonden zijn bij geen ratten in de ruimte. Tevens

Figuur 3a. Verdunningslijnen van de standaard en enkele monsters. Bij de standaard komt verdunningsfactor 20 overeen met 1500 pg/ml



Figuur 3b. Grafische weergave van de concentraties van enkele monsters gevonden bij de verschillende verdunningen



valt op dat de GSD's hoog zijn. Dit betekent dat er binnen een week een grote spreiding van de concentratie optreedt. In het volgende gedeelte is met behulp van variantie-analyse gekeken welke factoren bijdragen tot deze spreiding.

Tabel 1. Rekenkundig en geometrisch gemiddelde rat-antigeenconcentratie (ng/m³), geometrische standaarddeviatie, en minimum en maximum per aantallen dieren in de ruimte

totaal aantal dieren in ruimte	n	AM ng/m ³	GM ng/m ³	GSD	min	max
0	4	0.995	0.040	21.8	0.005	3.95
20	12	1.83	0.495	7.00	0.038	6.90
40 geen filterkap op bak	13	5.52	1.42	6.55	0.187	21.9
40 wel filterkap op bak	12	0.062	0.030	3.60	0.006	0.236
60	12	4.49	1.31	5.02	0.179	20.5
80	14	8.10	2.39	7.13	0.097	28.2

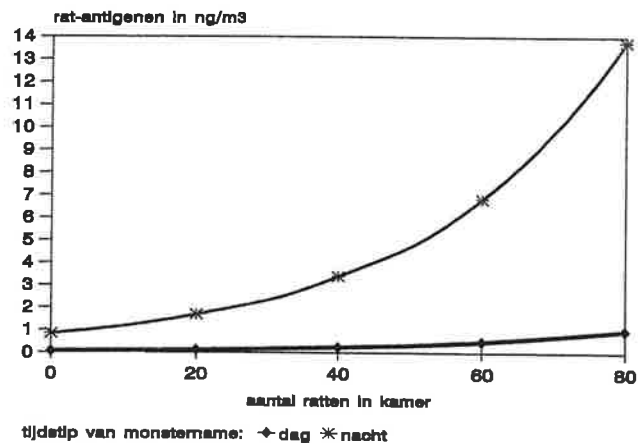
Variantie-analyse

In de variantie-analyse zijn in eerste instantie de volgende variabelen meegenomen:

- aantal dieren (van 0 tot en met 80 ratten in stappen van 20)
- tijdstip meting op dag (dag of nacht)
- gebruik filterkap (ja of nee)
- tijdstip meting in de week (maandag t/m vrijdag)
- plaats van de pomp (voor of achter in kamer)

Alleen het aantal dieren in de ruimte is in het model gebracht als continue variabele. De andere variabelen zijn nominale variabelen. Van deze vijf variabelen bleken alleen het aantal dieren, tijdstip van de metingen op de dag en het gebruik van een filterkap significant bij te dragen aan het model ($p = 0,0001$). Daarnaast bleek ook de interactieterm tussen filterkap en dag significant bij te dragen aan het model ($p = 0,0001$). De interactieterm tussen tijdstip van de metingen op de dag en het gebruik van een filterkap geeft aan dat de filterkap bij hogere concentraties tot een extra reductie van de antigeenconcentratie kan leiden. Uiteindelijk is gekozen voor het onderstaande model met een verklarende variantie (R^2) van 67 procent.

Figuur 4. Verloop van de rat-antigeen concentratie bij een toenemend aantal ratten in de kamer. De twee curves geven het verschil aan tussen de metingen overdag (♦) en 's nachts (*). Er wordt geen gebruik gemaakt van een filterkap

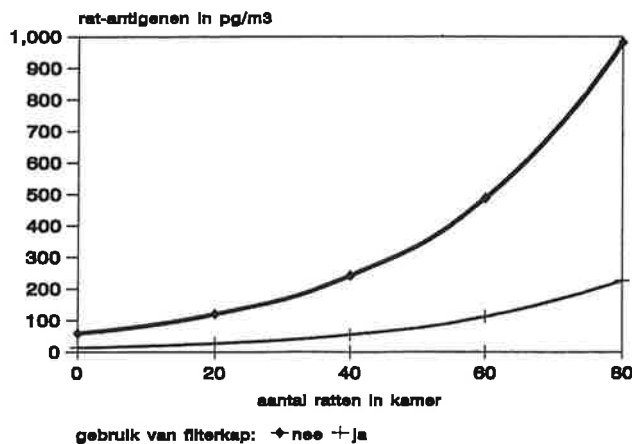


$$\ln \text{conc} = 6,73 + 0,035 * \text{aantal dieren} - 5,32 * \text{kap} - 2,64 * \text{dag} + 3,84 * \text{kap} * \text{dag}$$

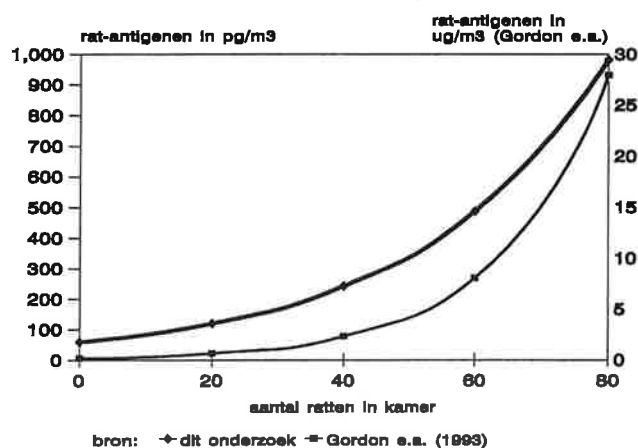
In de figuren 4 t/m 6 zijn de resultaten grafisch weergegeven, waarbij steeds dag of kap als constante factor is beschouwd. Figuur 4 geeft weer wat de invloed is van het aantal dieren en het tijdstip van de meting op de dag. Hierbij is duidelijk te zien dat de concentratie 's nacht aanzienlijk hoger is. Dit valt goed te verklaren omdat ratten nachtdieren zijn en dus 's nachts een grotere activiteit hebben. De ventilatie in de ruimte is niet verantwoordelijk voor de verschillen tussen dag en nacht omdat deze continu in bedrijf is. In figuur 5 (blz. 62) is te zien dat het aanbrengen van een filterkap op de kooien leidt tot een reductie van de concentratie.

In figuur 6 (blz. 62) zijn de resultaten vergeleken met de resultaten die zijn gevonden door Gordon e.a. (1992). Hieruit blijkt dat ondanks het grote verschil in absolute concentratie de toename per dier eenzelfde beeld laat zien. Het model van Gordon e.a. (1992) voorspelt een toename van de logaritme van de concentratie van 62 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ per dier en ons model voorspelt een toename van 35 pg/m^3 per dier.

Figuur 5. Verloop van de rat-antigeen concentratie bij een toenemend aantal ratten in de kamer. De twee curves geven het verschil aan tussen het wel (+) en niet (♦) gebruiken van een filterkap. De resultaten zijn gebaseerd op metingen overdag



Figuur 6. Verloop van de rat-antigeen concentratie bij een toenemend aantal ratten in de kamer. De twee curves geven het verschil aan tussen dit onderzoek (♦) en het onderzoek van Gordon e.a. (1992, ■)



Discussie en conclusies

De analysemethode is uitzonderlijk specifiek voor rat-antigenen. Een concentratie van muis-antigenen van 10 µg/ml gaf een reactie van 83 pg/ml aan rat-antigenen. Ook bleek de analysemethode bijzonder nauwkeurig en gevoelig te zijn. Een CV_a van 8,6% is zeer laag voor dit soort technieken en de blanco filters geven een detectiegrens van 33,8 pg/ml. Gezien de hoge concentraties die we in dit onderzoek gevonden hebben lijkt de methode zelfs uitermate geschikt voor de analyse van persoonlijke stofmonsters. In het onderzoek van Gordon e.a. (1992) werden persoonlijke antigeenconcentratie gevonden die 3 tot 10 maal hoger lager dan de stationaire metingen. Ondanks het feit dat er bij persoonlijke monstername een kleiner volume wordt aangezogen, moeten 8-uur durende metingen zeker voldoende antigenen opleveren om boven de detectiegrens uit te komen. Het is waarschijnlijk mogelijk om over een korte periode te meten, waardoor taakgerichte metingen mogelijk zijn.

Uit dit onderzoek blijkt dat het aantal dieren in een ruimte van invloed is op de antigeenconcentratie. Dit komt overeen met de resultaten gevonden door Gordon e.a. (1992). Bij het vergelijken van de twee onderzoeken blijkt dat er een groot verschil is in de absolute concentraties tussen de onderzoeken. Dit komt omdat de standaard in het onderzoek van Gordon e.a. (1992) wordt weergegeven

in µg drooggewicht. In ons onderzoek wordt de standaard weergegeven in ng raturine-eiwit. Ook zijn er verschillen tussen de gebruikte antilichamen. Dit betekent dat de absolute concentraties binnen een onderzoek goed te vergelijken zijn. Een absolute vergelijking tussen de verschillende onderzoeken is niet mogelijk, tenzij standaarden en monsters worden uitgewisseld zodat de methoden kunnen worden vergeleken. In de toekomst is dit voor eventuele normstelling noodzakelijk.

Het gebruik van een filterkap op een kooi bleek een aanzienlijke reductie te geven van de hoeveelheid rat-antigenen in de lucht. Toch moeten er enkele kanttekeningen bij deze resultaten worden vermeld.

Ten eerste bleek de luchtvochtigheid en temperatuur in de bakken aanzienlijk op te lopen. Dit zorgt voor een onbehaaglijk klimaat in de bakken voor de ratten. Ten tweede blijkt de concentratie in de ruimte wel terug te lopen, maar de vraag is of dit ook gebeurt met de blootstelling van de werknemers. Vaak zullen de werknemers tijdens het werken met de dieren de filterkap moeten verwijderen, waardoor toch een hoge blootstelling ontstaat. Ook worden de dieren dan verstoord waardoor er meer antigenen in de lucht zullen komen. Dat een verstoring en dus bewegingen van de dieren een grote invloed heeft op de antigeenconcentratie blijkt uit de metingen die 's nachts zijn gedaan. 's Nachts worden concentraties gevonden die vele malen hoger zijn dan de concentraties overdag.

Ten derde is er slechts in één proefdierkamer en bij één bezettingsgraad gemeten. Hoe het zit in andere kamers of in ander proefdiercentra is niet duidelijk. Het proefdiercentrum is redelijk oud (1955) met een inefficiënte afzuiging met een ventilatievoud van 7 uur⁻¹. Dit in tegenstelling de normale waarde van ongeveer 15 uur⁻¹. Tevens is de luchtbeweging tegen de zwaartekracht in, waardoor de stofdeeltjes langer zullen blijven zweven.

Dit onderzoek laat zien dat het mogelijk is om de antigeenconcentratie in proefdierruimtes aanzienlijk naar beneden te krijgen. Toch zijn er nog veel onduidelijke factoren. Verder onderzoek zal zich moeten richten op het verder bekijken van de analysemethode. Hierbij is het belangrijk om te kijken of de antigenen die in dit onderzoek worden gemeten overeen komen met de eiwitten waarop de mensen reageren, dus of we ook allergenen meten. Verder moet de persoonlijke blootstelling van de proefdierwerker worden gemeten. Hierbij zal ook moeten worden gekeken naar de taken die hoogbelastend zijn. Omdat er naast ratten ook veel met muizen wordt gewerkt is het zinvol om eenzelfde methode op te zetten om de allergenen van de muis te kunnen meten in stofmonsters.

Literatuur

- Agrup, G., Belin, L., Sjöstedt, L. and Skerfving, S., Allergy to laboratory animals in laboratory technicians and animal keepers, *Br. J. of Ind. Med.* 43 (1986) 192-198.
- Beeson, M.F., Dewdney, J.M., Edwards, R.G., Lee, D., Orr, R.G., Prevalence and diagnosis of laboratory animal allergy, *Clin. Allergy* 13 (1983) 433-442.
- Bland, S.M., Levine, M.S., Wilson, P.D., Fox, N.L., Livera JC, Occupational Allergy to laboratory animals: an epidemiological study, *J. Occup. Med.* 28 (1986) 1151-1157.
- Botham, P.A., Daavies, G.E., Teasdale, E.L., Allergy to laboratory animals: a prospective study of its incidence and of the influence of atopy on its development, *Br. J. Ind. Med.* 44 (1987) 627-632.
- Cockcroft, A., Edwards, J., McCarthy, P., Andersson, N., Allergy in laboratory animal workers, *The Lancet* (1981) 827-830.
- Davies, D.G., McArdle, L.A., Allergy to Laboratory animals: a survey by questionnaire, *Int Archs Allergy appl Immun* 64 (1981) 302-307.

- Davies, G.E., Thompson, A.V., Niewola, Z., Burrows, G.E., eo, Allergy to laboratory animals: a retrospective and a prospective study, *Br. J. Ind. Med.* 40 (1983) 442-449.
- Edwards, R.G., Beeson, M.F., Dewdney, J.M., Laboratory animal allergy: the measurement of airborne urinary allergens and the effects of different environmental conditions, *Lab Animals* 17 (1983) 235-239.
- Gordon, S., Tee, R.D., Lowson, D., Wallace, J., Newman Taylor, A.J., Reduction of airborne allergenic urinary proteins from laboratory rats, *Br. J. Ind. Med.* 49 (1992) 416-422.
- Gross, N.J., Allergy to laboratory animals: epidemiology, clinical, physiologic aspects, and a trial of cromolyn in its management, *J. Allergy Clin Immunol* 22 (1980) 158-165.
- Heederik, D., T. Smid, Beroepsmatige blootstelling aan organisch stof en de daarmee samenhangende risico's voor de gezondheid, *Directoraat Generaal van de Arbeid*, S-50, 1988, 152 p.
- Kibby, T., Powell, G., Cromer, J., Allergy to laboratory animals: A prospective and cross-sectional study, *J. Occup. Med.* 31 (1989) 842-846.
- Lincoln, T.A., Bolton, N.E., Garrrrett, A.S., Occupational allergy to animal dander and sera, *J. Occup. Med.* 16 (1974) 465-469.
- Lonbottom, J.L., Purification and characterization of allergens from the urines of mice and rats, *Uit: Advances in allergology and clinical immunology, Proceedings of the 10th international congress of allergology, Jurusalem, 1979*, 483-490.
- Lutsky, I., Fink, J.N., Kidd, J., Dahlberg, M.J.E., Yuninger, J.W., Allergenic properties of rat urine and pelt extracts, *J. Allergy. Clin. Immunol* 75 (1985) 279-284.
- Lutsky, I.I., Neuman, I., Laboratory animal dander allergy: I an occupational disease, *Annals of Allergy* 35 (1975) 201-205.
- Newill, C.A., Koegel, A.E., Prenger, V.L., Evans, R., Corn, M., Utilization of personal protective equipment by laboratory personnel at a large medical research institution, *Appl Ind Hyg* 8 (1989) 205-209.
- Newman Taylor, A.J., Myers, J.R., Longbottom, J.L., Spackman, D., Slovak, A.J.M., Immunological differences between asthma and other allergic reactions in laboratory animal workers, *Proceed British Thoracic Ass, Thorax* 36 (1981) 229.
- Platts-Mills, T.A.E., Heymann, P.W., Longbottom, J., Wilkins, S., Airborne allergens associated with asthma: particle sizes carrying dust mite and rat allergens measured with a cascade impactor, *J. Allergy. Clin. Immunol* 77 (1986) 850-857.
- Sakaguchi, M., Inouye, S., Miyazawa, H., Kamimura, H., Kimura, M., Yamazaki, S., Evaluation of countermeasures for reduction of mouse allergens, *Lab animal science* 39 (1989) 63-66.
- Schumacher, M.J., Characterization of allergens from urine and pelts of laboratory mice, *Mol Immunol* 17 (1980) 1087-1095.
- Schumacher, M.J., Tait, B.D., Holmes, M.C., Allergy to murine antigens in a biological research institute, *J. Allergy. Clin. Immunol* 68 (1981) 310-318.
- Slovak, A.J.M., Hill, R.N., Laboratory animal allergy: a clinical survey of an exposed population, *Br. J. Ind. Medicine* 38 (1981) 38-41.
- Swanson, M.C., Campbell, A.R., O'Hollaren, M.T., Reed, C.E., Role of ventilation, air filtration, and allergen production rate in determining concentrations of rat allergens in the air of animal quarters, *Am. Rev. Respir. Dis.* 141 (1990) 1578-1581.
- Taylor, G., Davies, G.E., Altounyan, R.E.C., Morrow Brown, H., Frankland, A.W., Morrison Smith, J. and Winch, R., Allergic reactions to laboratory animals, *Nature*, 260 (1976) 280.
- Venables, K.M., Tee, R.D., Hawkins, E.R., Gordon, D.J., eo, Laboratory animal allergy in a pharmaceutical company, *Br. J. Ind. Med* 45 (1988) 660-666.
- Walls, A.F. en Longbottom, J.L., Comparison of rat fur, urine, saliva, and other rat allergen extracts by skin testing, RAST, and RAST inhibition, *J. Allergy. Clin. Immunol* 76 (1985) 242-251.
- Yamauchi, T., Obara, T., Fukuyama, N., Ueda, T., Evaluation of a one-way airflow system in an animal room based on counts of airborne dust particles and bacteria and measurement of ammonia levels, *Lab Animals* 23 (1989) 7-15.
- Ziemann, B., Corn, M., Ansari, A.A., Eggleston, P., The effectiveness of the duo-flo bio-clean unit for controlling airborne antigen levels, *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 53 (1992) 138-145. ■