

# Projekt V1035032 Lena Palmberg

---

## Bakgrund och syfte

Lantbrukare har en ökad frekvens av kronisk bronkit och kroniskt obstruktiv lungsjukdom. Tidigare studier har visat att ansiktsmasker som reducerar exponeringen för partiklar också reducerar den uppkomna luftvägsinflammation som 3 timmars vägning av grisar leder till. Partiklar generellt har också visat sig ge luftvägsinflammation och en påverkan på den medfödda immuniteten. Syftet med föreliggande studie är att se om installation av en partikelavskiljare från CentriClean Systems AB minskar utvecklingen av luftvägsinflammation jämfört med exponering i stall utan partikelavskiljare.

## Material och metoder

Tolv friska, icke-rökande, frivilliga försökspersoner exponerades (6 kvinnor, 6 män, medelålder 23 (19-33)) i 3 timmar i svinstallarna. Personerna delades upp i två grupper (cross-over design) och exponeras för såväl partikelrenad luft som normal svinhusluft i en lottad turordning, med ca 2-4 veckors mellan exponeringarna. Hälften exponerades i vanligt stall först och andra hälften exponerades i stall med partikelseparator i först. Försökspersonerna var därmed sina egna kontroller.

Före och efter exponering gjordes lungfunktionsmätningar, bronkiell provokationstest med metakolin samt analys av kväveoxid (NO) i utandningsluften. Blodprov och nasalt lavage utfördes före och efter exponering. Direkt före och efter exponering mättes kroppstemperatur och peak expiratory flow (PEF) som ett mått på luftrörsförträngning. Försökspersonerna ombads också uppskatta upplevda (tolv) symptom på en 0-100 mm-skala, före och efter de bägge exponeringarna.

Den ena gruppen exponerades den 15 juni (utan partikelseparator) samt den 28 juni (med partikelseparator) och den andra gruppen 22 juni (med) och den 13 juli (utan).

En av försökspersonerna hade orimligt höga värden an inflammatoriska mediatorer i nässköljvätska vid förundersökningen. Vid läkarundersökningen hade det noterats att personen varit förkyld dagarna innan undersökningen. Därför har denna försöksperson exkluderats och alla statistiska beräkningar har gjorts på 11 försökspersoner.

Lungfunktion och kroppstemperatur som kan anses vara normalfördelade analyserades med ANOVA, följt av parat t-test. Övriga parametrar ansågs inte vara normalfördelade och analyserades med Friedman följt av Wilcoxon Matched Pairs test.

Avdelningarna står tomma i ungefär en vecka vid byte av grisar och då tvättas avdelningarna och underhålls. Under denna vecka installerades anläggningen med cykloner, så att den var redo att sättas igång när de nya grisarna kom.

Anläggningen bestod av 4 cykloner, 2 frekvensstyrda fläktar, spirorör för sammankoppling samt slangar för sugpunkter. Frekvensstyrningen såg till att anläggningen verkade mellan 08:00 och 20:00, 7 dagar i veckan under 15 veckor.

Innan installationen av anläggningen gjordes CFD-analyser (Computerized Fluid Dynamics) av avdelningarna för att se den bästa placeringen av sugpunkterna. Med informationen från CFD-analysen och uppbyggnaden av avdelningen i grisfarmen, bestämdes att placeringen av cyklonerna skulle vara i vardera hörn med 2 sugpunkter vardera, det vill säga 8 totalt.

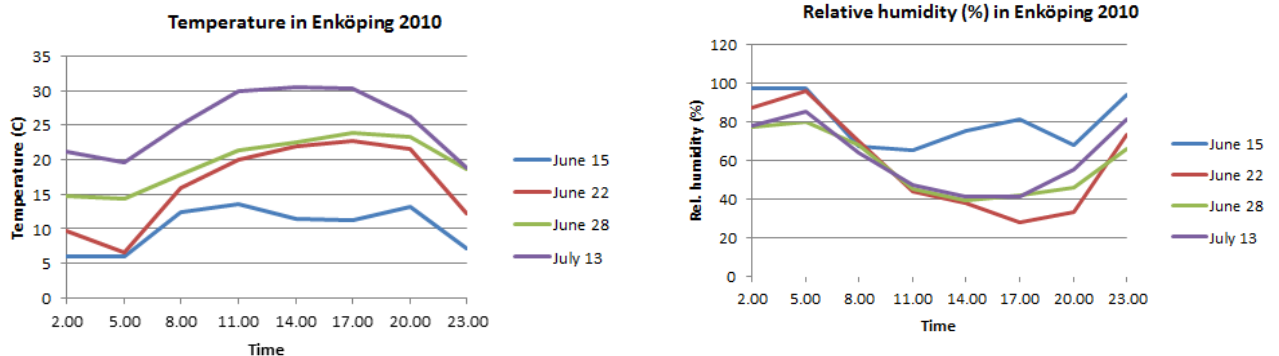


## Resultat

### Partiklar

Vid alla fyra exponeringstillfällen analyserades partikelstorlek, partikelantal, partikelfördelning och grundämnesanalys. Analyser utfördes dels med partikelräknare, men också med hjälp av ”stubbar”, vilka analyseras i svepelekronmikroskop.

Då antalet och storleken på partiklar sannolikt påverkas av gällande väderförhållanden samt svinhusventilationen, har uppgifter kring utomhustemperatur och luftfuktighet rekviderats från SMHI (Figur 1). Under alla fyra mättillfällena var det uppehåll och soligt. Den relativa luftfuktigheten varierar över dagen, men inte nämnvärt under exponeringsperioden som var den samma vid alla 4 exponeringstillfällena (kl 8-11). Temperaturdata indikerar dock att den grupp som blivit exponerad den 15 juni och den 28 juni hade avsevärt svalare utomhustemperaturer än den grupp som exponerades den 22 juni och den 13 juli. Temperaturskillnaden i utomhusluften ska dock regleras med svinhusventilationen så att förhållandena inomhus är konstanta över tid. Möjligtvis kan ökad inomhusventilation den 13 juli ha påverkat partikelhalterna.



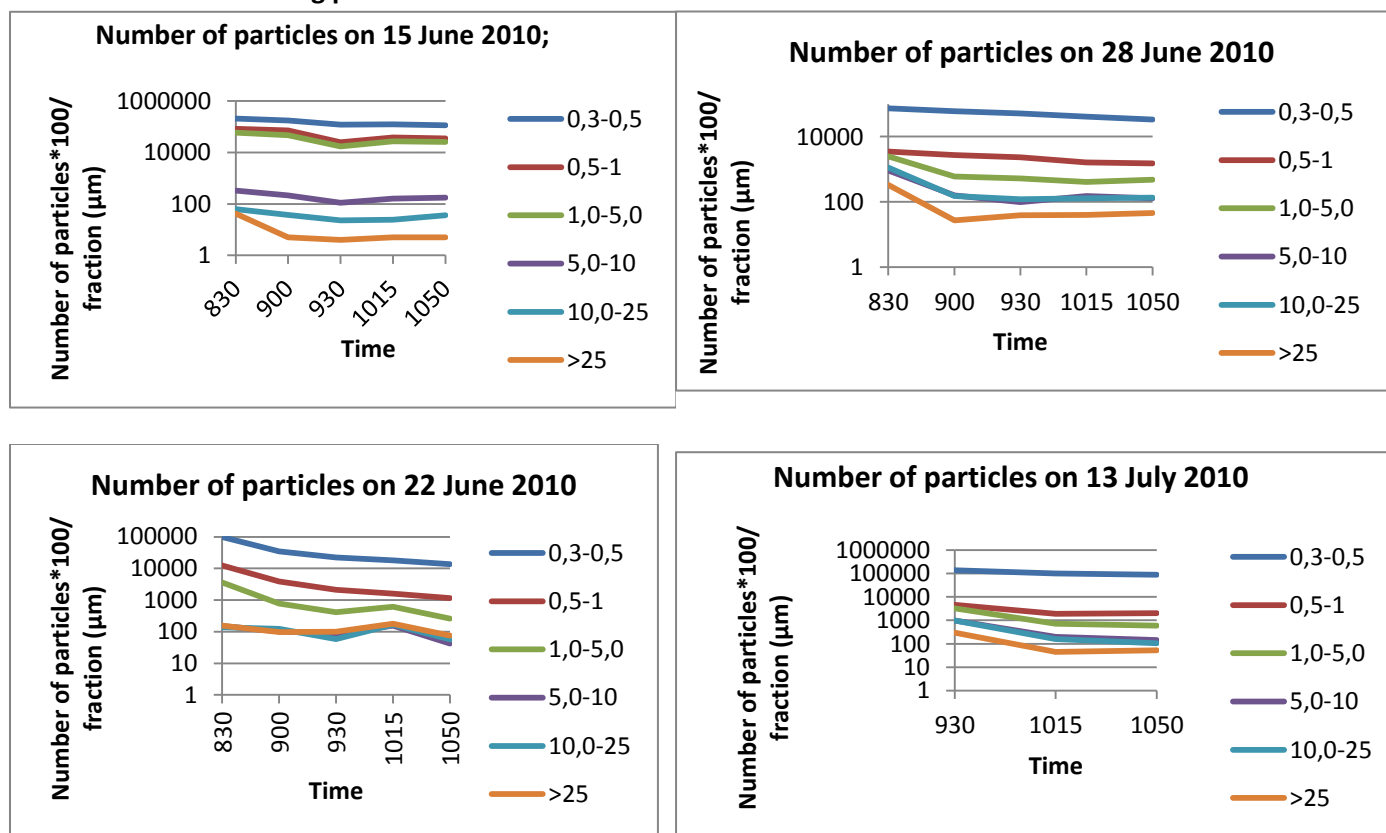
Figur 1

## Installationen

Det var omöjligt att få den totala luftvolymen att passera genom cyklonerna vilket skulle vara optimalt för reningen. Detta berodde på att cyklonerna kämpade mot ventilationssystemet. Det totala flödet för cyklonerna var  $1.5 \text{ m}^3/\text{s}$  och den maximala ventilationen var på  $10 \text{ m}^3/\text{s}$ . Anledningen att centricleans cykloner normalt sett är så effektiva, jämfört med detta projekt, är att 100% av luftflödet renas.

Med denna installations utförande kan energiförbrukningen anses orimlig för den tänkta kunden. Efter en lättare överslagsräkning är kostnaderna för att driva anläggningen proportionellt ohållbara.

### Partikelstorleksfördelning per mätillfälle:



Figur 2

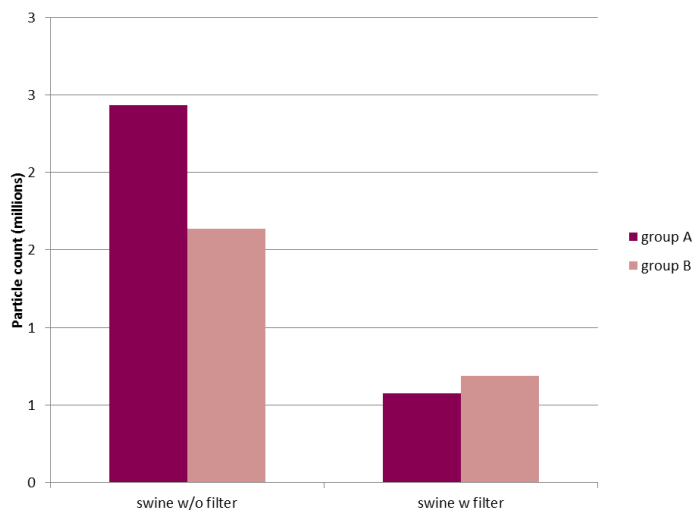
### Antal partiklar per partikelstorlek och mättillfälle:

Det är framför allt de minsta partiklarna som minskar i närvaro av partikelseparator. Generellt påvisar mätningarna den 15/6 att det finns avsevärt många fler mellanstora partiklar än vid de övriga mättillfällena. Detta skulle kunna härledas till en lägre utomhustemperatur den 15/6 jämfört med de andra datumen. En lägre temperatur leder till minskad ventilation och möjligtvis fler partiklar i inomhusluften (Figur 2).

Alla fraktioner minskar generellt över tid oavsett om filter finns installerat eller ej. Dock minskar partikelhalterna något mer över tid om filter finns installerat. Störst reduktion sker första halvtimmen vilket kan bero på att partikelseparatören slogs på cirka 30 minuter innan första mättillfället (ca 08.30) på morgonen (förutom den 13 juli då de tidiga morgonmätningarna uteblev). Detta skapar en turbulens i rummet, vilket sannolikt leder till att sedimenterade partiklar rörs upp och blir luftburna.

De minsta partiklarna bidrar mest till det totala antalet partiklar. På de logaritmiska skalorna ovan bidrar den minsta fraktionen (0,3-0,5 µm) nästan mer än 10 gånger mer än den näst minsta fraktionen till totalantalet partiklar. I den minsta fraktionen finns nästan 10 gånger så höga halter av partiklar i det ofiltrerade stallet jämfört med det filtrerade. Ett viktat exponeringsvärden (antal partiklar) för de fyra exponeringstillfällena räknades fram. Dels räknades det viktade genomsnittliga partikelantalet per fraktion, dels räknades det genomsnittliga partikelantalet för alla fraktioner fram utom det största, >25µm, d v s 0,3-25 µm.

Vid den senare analysen visade det sig att det genomsnittliga partikelantalet var generellt högre i ett stall utan filter jämfört med ett stall med partikelseparator. För gruppen (grupp A i bild 3) som exponerades den 15 respektive den 28 juni var den totala genomsnittliga partikelhalten (storlek 0,3-25 µm) under tre timmar ca 4 gånger högre vid tillfället utan separator än vid exponeringen med filter (se bild 3). För gruppen (B) som exponerade den 22 juni och den 13 juli var motsvarande skillnad drygt 2 gånger.



Figur 3. Totala antalet partiklar per exponeringstillfälle och försökspersonsgrupp.

### Endotoxin

Genom att extrahera filter från tre personburna IOM-provtagare per exponeringstillfälle i sterilt vatten kunde endotoxinhalten i stallen uppskattas. Preliminära analyser påvisar endotoxinhalter i stallarna i storleksordningen 20-100 EU/ml, vilket i paritet med tidigare

uppmätta endotoxinhalter i svinhusstallar. För att erhålla slutgiltiga resultat måste metoden fortfarande optimeras något vilket pågår.

## Symptom

De elva försökspersonernas upplevda symptom före och efter exponering i de olika stallarna skiljde sig åt på fler punkter (se tabell 1). Vid exponering för konventionellt stall utan partikelseparator påvisades signifikanta skillnader i huvudvärk, matthet, illamående, nysningar, nässekretion, hosta, trånghetskänsla över bröstet, andnöd och bröstpip före jämfört mot tre timmar efter exponering. Vid exponering för stall med partikelseparator sågs signifikanta skillnader för många av dessa symptom. Endast ett symptom, huvudvärk, påvisades i större utsträckning hos personer i som vistas i stall utan partikelseparator jämfört med efter vistelse i stall med separator.

Symptom	Utan partikelseparator (före)	Utan partikelseparator (efter)	Med partikelseparator(före)	Med partikelseparator (efter)	Differens (efter-före) utan partikelseparator	Differens (efter-före) med partikelseparator
Frysningar	0,0 (0-0,1)	0,2 (0-0,4)	0,1 (0-0,2)	0,4 (0-2,1)	0,0 (0-0,4)	0,2 (0-1,0)
			p=0,028			
Huvudvärk	0,0 (0-0,7)	3,6 (0-5,5)	0,1 (0-0,2)	0,8 (0-2,4)	3,1 (0-4,8)	0,7 (0-2,3)
	p=0,018				p=0,028	
Matthet	0,5 (0-3,0)	4,3 (2,3-5,8)	0,9 (0-1,8)	3,2 (2,3-6,0)	2,3 (0,3-4,3)	2,0 (0,3-4,8)
	p=0,013		p=0,013			
Muskelvärk	0,0 (0-0,2)	0,0 (0-0,2)	0,0 (0-0,1)	0,0 (0-0,4)	0,0 (0-0,1)	0,0 (0-0)
Illamående	0,0 (0-0,2)	0,0 (0-1,9)	0,0 (0-0,3)	0,4 (0-1,9)	0,0 (0-1,9)	0,0 (0-1,9)
	p=0,043					
Nysningar	0,0 (0-0,1)	0,6 (0-1,7)	0,0 (0-0,3)	1,0 (0-1,7)	0,5 (0-1,7)	0,5 (0-1,7)
	p=0,018		p=0,028			
Nästäppa	0,0 (0-0,2)	2,0 (0,2-6,2)	0,2 (0-0,9)	2,0 (0,3-3,4)	1,9 (0-6,2)	1,4 (0-2,0)
	p=0,017		p=0,028			
Nässekrektion	0,0 (0-0,7)	1,7 (0-3,7)	0,4 (0-0,8)	1,7 (0,2-2,6)	0,8 (0-3,7)	1,0 (0-2,0)
	p=0,012					
Hosta	0,0 (0-0,1)	4,3 (3,4-8,2)	0,0 (0-0,6)	5,9 (2,4-6,9)	3,9 (1,7-7,4)	5,0 (2,4-6,9)
	p=0,005		p=0,005			
Trånghet över bröstet	0,0 (0-0,2)	3,1 (0-3,8)	0,0 (0-0,2)	1,6 (0-4,4)	2,9 (0-3,2)	1,6 (0-4,3)
	p=0,012		p=0,018			
Andnöd	0,0 (0-0)	0,2 (0-1,9)	0,0 (0-0,1)	0,0 (0-1,3)	0,2 (0-1,9)	0,0 (0-1,2)
	p=0,028					
Bröstpip	0,0 (0-0,1)	0,0 (0-0,8)	0,0 (0-0,1)	0,0 (0-0,2)	0,0 (0-0,4)	0,0 (0-0,2)
	p=0,043					

Tabell 1. Tolv uppskattade symptom (median, 25-75 percentilen), n=11. p-värdet är inkluderat för de symptom som signifikant ( $p < 0,05$ ) skiljer sig åt mellan före och efter respektive exponering samt differensen däremellan.

## Kroppstemperatur

Försökspersonernas kroppstemperaturer ökade signifikant efter bägge typer av exponering. Direkt efter tre timmars exponering är kroppstemperaturen högre jämfört med om man mäter några timmar senare. Efter tre timmar ökade medeltemperaturen  $0,7^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,005$ ) efter svinexponering i vanligt stall. Motsvarande ökning i ett partikelrenat stall var  $0,4^{\circ}\text{C}$  ( $p=0,009$ ), vilket var signifikant lägre ökning ( $p=0,016$ ) jämfört med ökningen vid exponering i vanligt stall.



## Celler från blod och nässköljväska

Celler från perifert blod och nässköljväska analyserade och inga parametrar påvisade signifikanta skillnader mellan de olika exponeringarna (tabell 2). Flertalet celltyper ökade dock i antal efter exponering i de båda typerna av stall jämfört mot innan exponering.

Celltyp	Antal celler $\times 10^9/l$ blod, före exponering (median, 25:e-75:e percentilen)	Anta celler $\times 10^9/l$ blod, utan p/s (median, 25:e-75:e percentilen)	Antal celler $\times 10^9/l$ blod, med p/s (median, 25:e-75:e percentilen)	Jämförelse mellan exponeringar (p-värde)
Neutrofiler	3,84 (3,20-4,97)	9,62 (7,95-12,06)	9,25 (7,10-13,99)	Före vs utan p/s (0,003) Före vs med p/s (0,003)
Monocyter	0,49 (0,42-0,54)	0,7 (0,6-0,82)	0,75 (0,70-0,82)	Före vs utan p/s (0,006) Före vs med p/s (0,003)
Lymfocyter	2,05 (1,79-2,47)	2,25 (1,98-2,44)	2,35 (2,02-2,66)	
Basofiler	0,047(0,038-0,081)	0,079 (0,059-0,11)	0,090 (0,065-0,11)	Före vs utan p/s (0,013)
Eosinofiler	0,12 (0,075-0,25)	0,14 (0,098-0,18)	0,20 (0,12-0,25)	
Celltyp	Antal celler $\times 10^6/l$ , före exponering (median, 25:e-75:e percentilen)	Anta celler $\times 10^6/l$ , utan p/s (median, 25:e-75:e percentilen)	Antal celler $\times 10^6/l$ , med p/s (median, 25:e-75:e percentilen)	Jämförelse mellan exponeringar (p-värde)
Totala antal celler i nässköljväska	7,96 (5,6-24,6)	97,8 (44,6-147,5)	87,4 (50,2-173,3)	Före vs utan p/s (0,002) Före vs med p/s (0,005)

Tabell 2. Cellkoncentration från vita blodkroppar i perifert blod och nässköljväska. n=11, signifikanta värden anges ( $p < 0,05$ ).

## Lungfunktion, bronkiell reaktivitet och kväveoxid i utandningsluft

Nästan alla lungfunktionsparametrar hos försökspersonerna påverkades av exponering i båda typerna av stall. FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub> % förväntat, VC, VC % förväntat, bronkiell reaktivitet (PD<sub>20</sub> och PC<sub>20</sub>) reducerades signifikant efter exponering, medan utandad NO ökade. Några skillnader mellan de två exponeringarna kunde däremot inte påvisas för någon av parametrarna.

## Immunologiska och inflammatoriska biomarkörer

### TLR2 i monocyter och neutrofiler

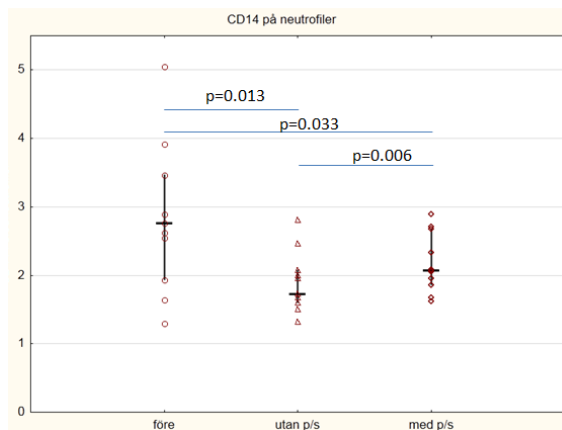
Svinstallsexponeringarna påverkade inte ytuttrycket av TLR2 i varken blodmonocyter eller neutrofiler, förutom för jämförelsen mellan TLR2 i neutrofiler före och efter svinstallsexponering utan separator. Där sjönk rMFI från 11 till 7 ( $p=0,016$ ), dock inte signifikant skilt från stall med partikelseparator.

### TLR4 i monocyter och neutrofiler

I monocyter sjönk uttrycket efter bägge exponeringarna från rMFI 6 (median) före till 3 utan partikelseparator ( $p=0,006$ ) och 4 med separator (0,021). I neutrofiler sjönk endast uttrycket efter exponering i vanligt svinstall från 5 till 3 ( $p=0,016$ ). Varken hos monocyter eller neutrofiler från blod påvisades några skillnader mellan de två exponeringarna.

### CD14 i monocyter och neutrofiler

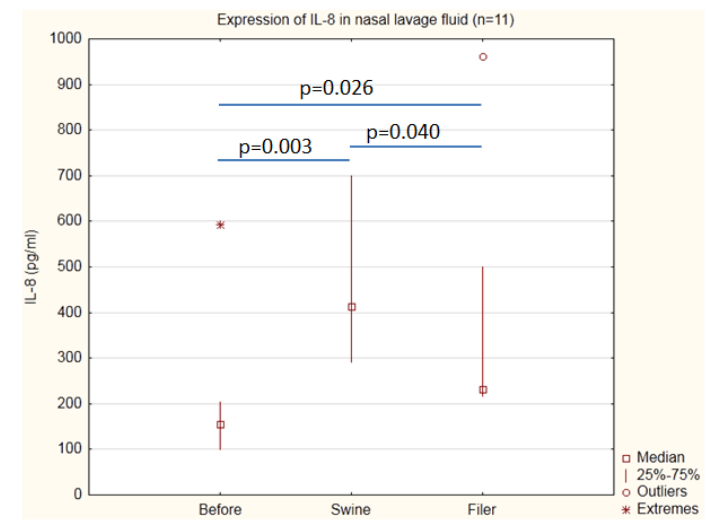
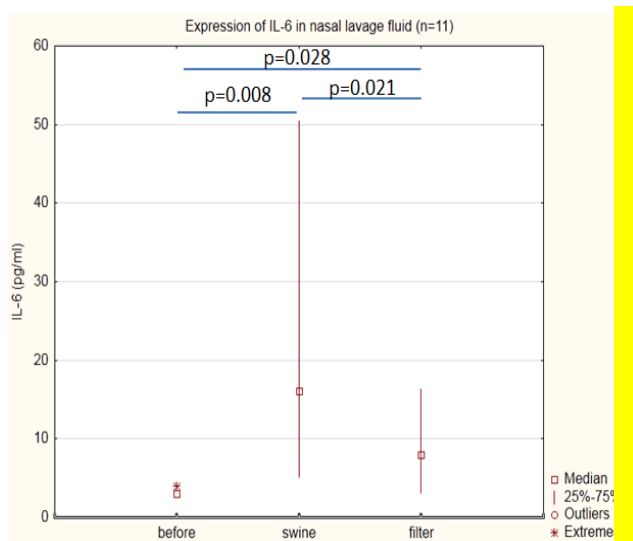
CD14 på monocyter sjönk signifikant ( $p=0,033$ ) från rMFI=26 före till 20 efter exponering utan partikelseparator, men inga skillnader kunde ses mellan de olika exponeringarna. I blodneutrofiler sjönk ytuttrycket av CD14 signifikant efter bägge exponeringarna, men mest efter exponering i ett konventionellt stall (se figur 4)



Figur 4. Ytuttryck av CD14 på blodneutrofiler. rMFI: relative median fluorescence intensity. p-värdet påvisar skillnader mellan exponeringarna. Öppna figurer är rådata för 11 försökspersoner. Medianen och 25:e -75:e percentilen visas.

### IL-6 och IL-8 i nässkölvätska

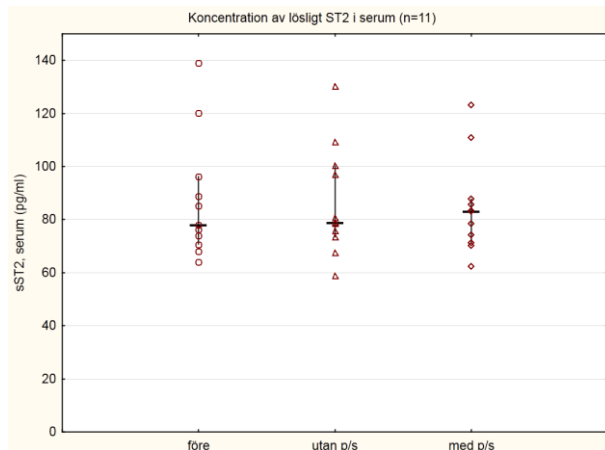
Alla försökspersoner har genomgått nasallavage och nässkölvätska före exponering samt efter respektive exponering har analyser av halter för IL-6 och IL-8 gjorts, två pro-inflammatoriska markörer. Förhöjda nivåer av dessa påvisar en lokal inflammatorisk reaktion. Signifikant förhöjda värden påvisades av både IL-6 och IL-8 efter båda typerna av exponeringen, dock ökade halterna signifikant mer efter exponering i vanligt stall jämfört med stall med installerad partikelseparator. Partikelseparator reducerar med andra ord den lokala inflammatoriska reaktionen i näsan.



Figur 5. Uttryck av IL-6 och IL-8 i nässkölvätska (pg/ml). Medianen och 25:e -75:e percentilen visas.

### sST2 i nässkölvätska och serum

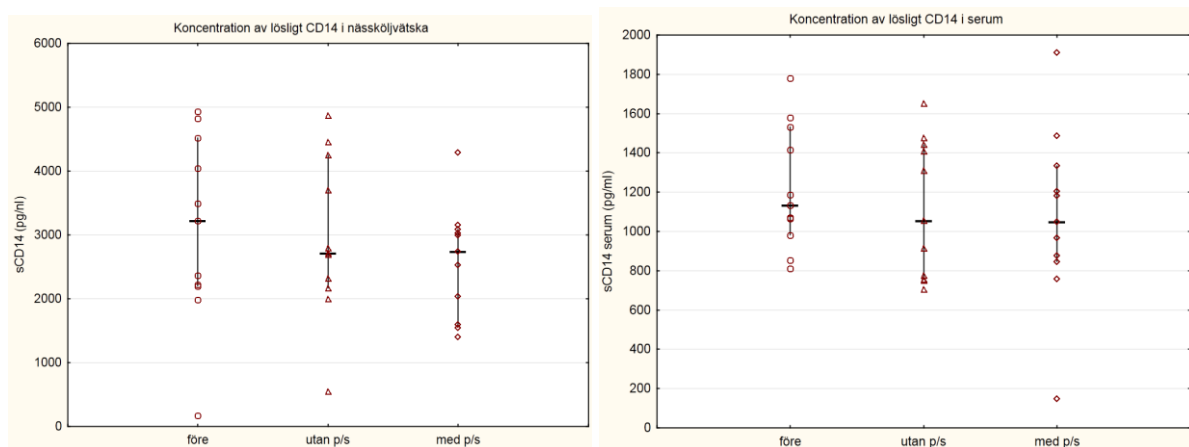
Lösligt ST2 var inte detekterbart i nässkölvätska. I serum påvisade låga, men detekterbara koncentrationer av sST2. Inga signifikanta skillnader mellan exponeringarna kunde påvisas (se figur 6).



Figur 6. sST2 (pg/ml) mätt i serum hos försökspersoner. Förvärden och efterföljande värden utan samt med partikelseparator (p/s) (median: horisontell linje, 25-75e percentilen: vertikal linje).

### sCD14 i nässkölvätska och serum

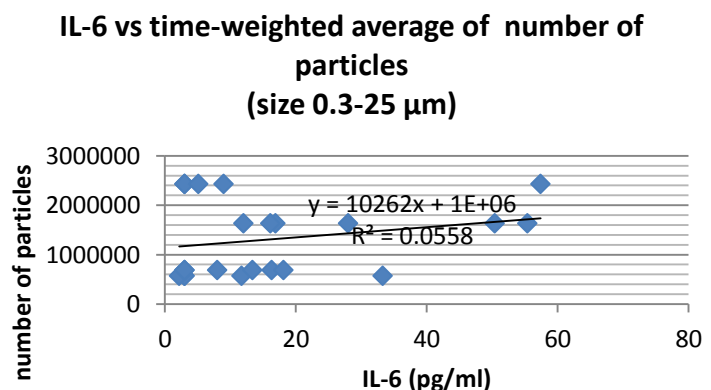
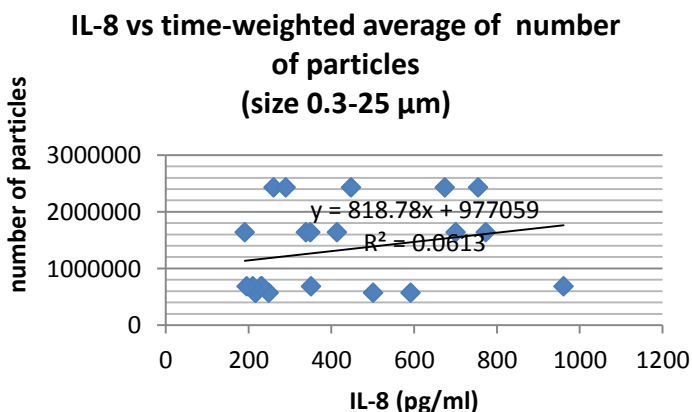
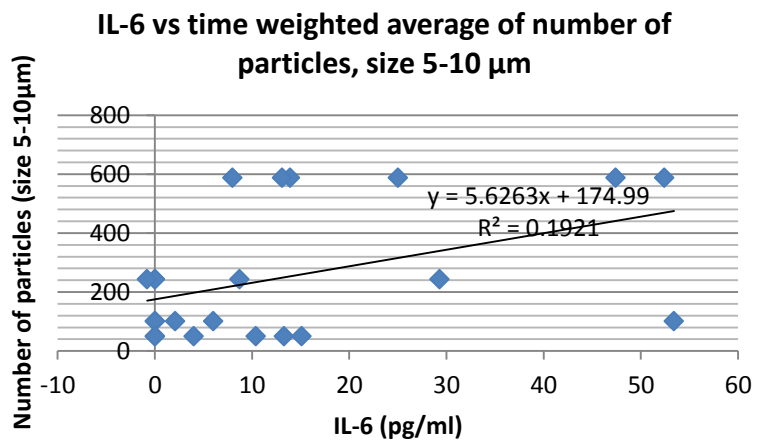
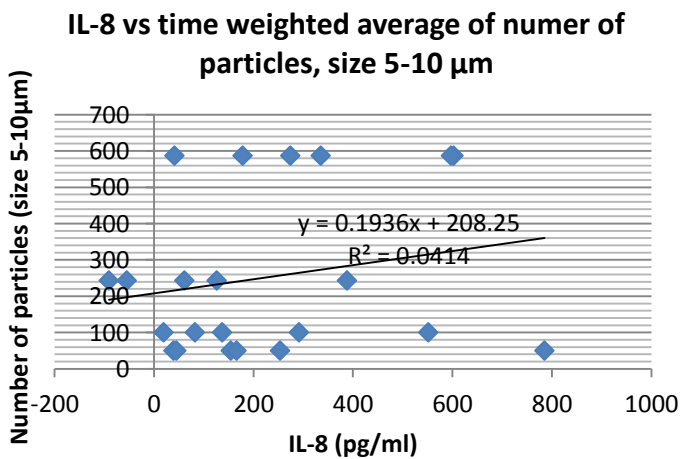
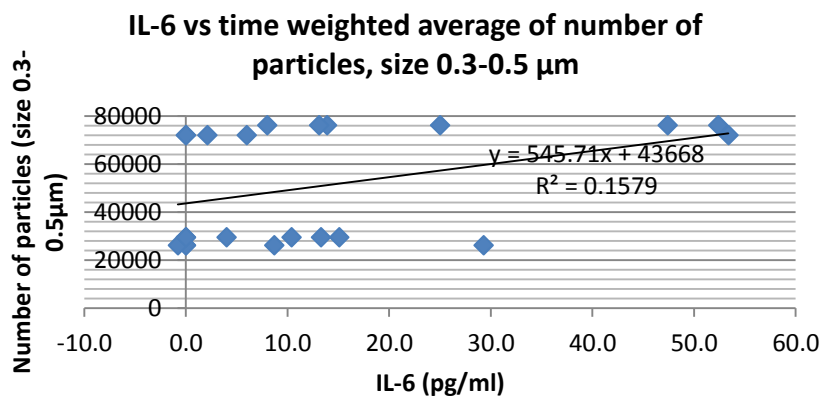
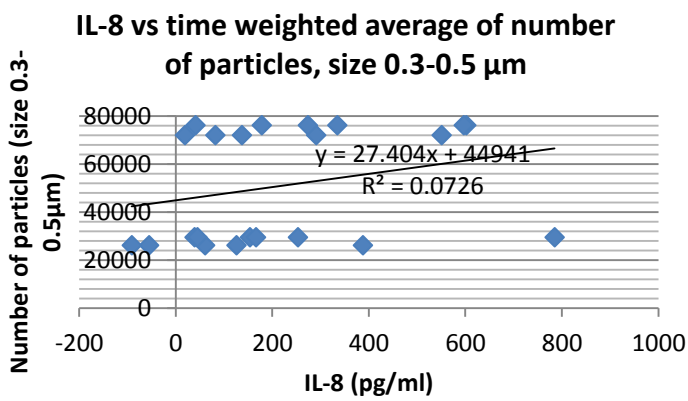
Lösligt CD14 detekterades hos försökspersonerna i både nässkölvätska och i serum. Inga signifikanta skillnader kunde påvisas mellan de olika exponeringarna (se bild 7 A och B).



Figur 7. Koncentration av sCD14 i nässkölvätska (A) och serum (B). Rådata markeras med öppna figurer (median, samt 25:e-75:e percentilen) före samt med eller utan partikelseparator (p/s).



Detta talar för en minskad systemisk påverkan vid exponering i stall med inmonterad partikelseparator. Exponeringen leder till minskat uttryck av CD14 på neutrofiler i blod efter båda exponeringarna, dock minskar uttrycket signifikant mer efter exponering i stallet utan partikelseparator. CD14 är viktigt i kroppens försvar mot bakterier, så ett minskat uttryck är troligtvis av ondo för individen. Genom att studera graferna ovan av "Antal partiklar per partikelstorlek och mättillfälle" kan man se att endast för den mista fraktionen finns ett samband mellan minskat partikelantal och filter jämfört med konventionellt svinstall. Som ett led i att se om partikelhalt korrelerar med erhållet inflammatoriskt svar har som ett första steg uträkningar gjorts mellan IL-8/IL-6-halten i nässköljvätska och antalet partiklar i de erhållna olika storleksspannen. Dessa analyser påvisade inte något samband mellan inflammatorisk reaktion lokalt i näsan och antalet partiklar uppdelade i olika storleksspann.



## Diskussion och slutsats

Sammantaget visar studien att installation av en partikelseparator minskar den inflammatoriska reaktionen systemiskt och lokalt i de övre luftvägarna. Försökspersonerna får inte lika kraftig förhöjning av kroppstemperaturen och lika mycket huvudvärk i stall med partikelseparator som vid vistelse i stall utan partikelseparator. Likaså ökar inte halten av inflammatoriska mediatorer i övre luftvägarna i samma omfattning i filtrerat stall som ofiltrerat stall.

Friska icke-rökande försökspersoners medfödda immunförsvar förändras efter kortare vistelse i svinhusmiljö. Resultaten ovan indikerar att genom att reducera partikelexponeringen i svinhus så förändras svaret från det medfödda immunförsvaret såväl lokalt som systemiskt.

I många av de analyserade parametrarna såg vi dock ingen skillnad mellan de två olika stallen, vilket talar för att installation av en partikelseparator inte utgör ett totalt skydd mot skadlig påverkan. Detta är i linje med våra tidigare fynd där vi använt oss av olika typer av andningsskydd som reducerar exponeringen för framför allt partiklar.

I en av dessa studier exponerades 12 försökspersoner utan mask, 12 försökspersoner med mask med partikelfilter klass P3 och 12 försökspersoner med mask med både partikel- och gasfilter, i samband med vägning av grisar i 3 timmar. Vid exponering i svinhus ger mask med partikelfilter skydd vad gäller det inflammatoriska svaret i näsa och blod, även om masken inte ger ett fullgott skydd. I vissa avseenden påverkade inte maskerna de biologiska effekterna av exponeringen alls. Bland annat kvarstod den ökade känsligheten i luftvägarna hos alla 3 grupperna.

Dessa studier kartlägger effekten av en partikelseparator vid akut exponering. Man kan inte utesluta att installation av en partikelseparator kan ha bättre effekt vid kronisk exponering som är fallet för svinskötare och därmed kan kanske risken för att utveckla luftvägsbesvär minska. Problemen med att bara delar av luftvolymen renas med den testade partikelseparatorn, att energiförbrukningen är hög samt att man inte eliminerar den inflammatoriska reaktionen lokalt och systemiskt helt talar för att användandet av partikelseparator i svinhusmiljö inte är en lämplig arbetsmiljöförbättrande åtgärd att vidta.

## Publikationer:

Resultaten från studien har presenterats på 1 kongress inom Lungmedicin, där forskare från hela världen samlas och diskuterar aktuella resultat. I vårt fall har resultaten presenterats inom sektionen rörande arbetsmiljöfrågor.

Anna Hedelin, Britt-Marie Sundblad, Kjell Larsson, Lena Palmberg. Reduction of particles by using a particle separator in pig barn environment reduces inflammatory response in healthy volunteers. Eur Respir J 2012;40: suppl 56; 800s

Ett manuskript är under sammanställning, där vi räknar med att skicka in det under hösten.

## Övrig resultatförmedling till näringen

Vi har redovisat resultaten hos Uppig där studien genomfördes.