



Helserisiko ved innånding av bioprotein produsert ved hjelp av Nordsjøgass som energikilde

Nr. 10 Årgang 10

ISSN 1502-0932

Rapport fra etterundersøkelsen utført 2007

Wijnand Eduard, Marit Skogstad og Kari Heldal, Statens arbeidsmiljøinstitutt

Liv Ingunn Bjoner Sikkeland og Johny Kongerud, Rikshospitalet, 0027 Oslo

Reidun Øvstebø, Kari Bente Foss Haug og Peter Kierulf, Ullevål universitetssykehus



Innhold

	Side
Forord	4
Sammendrag	5
Hovedrapport	
1. Innledning	11
2. Materiale og metoder	12
2.1 Eksponering	
2.1.1 Eksponering ved Norferm	12
2.1.2 Nåværende eksponering	12
2.2 Helseundersøkelser	12
2.2.1 Studiepopulasjon	12
2.2.2 Spirometri	12
2.2.3 Gassutveksling	13
2.2.4 Nitrogenmonoksid (NO) i utåndingsluft	13
2.2.5 Indusert sputum	13
2.2.6 Rhinometri	14
2.2.7 Blodprøver	15
2.2.8 Symptomer	16
2.2.9 Statistiske metoder	16
3. Resultater	17
3.1 Eksponering	17
3.1.1 Nåværende arbeid	17
3.1.2 Eksponering ved Norferm	18
3.2 Helseeffekter	20
3.2.1 Lungefunksjon	20
3.2.2 Gassdiffusjon	21
3.2.3 Nitrogenmonoksid i utåndingsluft	21
3.2.4 Indusert sputum	21
3.2.5 Rhinometri	23
3.2.6 Blodprøver	23
3.2.7 Symptomer	25
4. Diskusjon	26
4.1 Eksponering	27
4.2 Lungefunksjon	27
4.3 Gassutvekslingen	27
4.4 Nitrogenmonoksid i utåndingsluft	27

4.5	Indusert sputum	28
4.6	Rhinometri	28
4.7	Blodprøver	29
4.8	Symptomer	30
4.9	Samlet vurdering	30
5.	Konklusjoner	31
6.	Anbefalinger	32
7.	Litteratur	32
Vedlegg 1. Informasjon til deltakerne		
Vedlegg 2. Samtykkeerklæring		
Vedlegg 3. Spørreskjema om arbeid og helseplager hos tidligere ansatte ved Norferm		

Forord

Undersøkelsen er gjennomført på initiativ av Statens arbeidsmiljøinstitutt med finansiell støtte fra Statoils Fond for Arbeidsmedisinsk Forskning. I sluttrapporten fra helseundersøkelsene utført i 2003, 2004 og 2005, som ble utført av Rikshospitalet og Statens arbeidsmiljøinstitutt før produksjonen ble nedlagt 28 februar 2006, ble det rapportert en rekke funn. Statoil ble derfor anbefalt å undersøke helsen til de tidligere ansatte på selskapets produksjonsanlegg for bioprotein på Tjeldbergodden ett år etter nedleggelsen. Statoil stilte seg positivt til etterundersøkelsen og takkes for å ha gjort undersøkelsen mulig.

Undersøkelsen er utført av Lungemedisinsk avdeling og Senter for yrkes- og miljømedisin¹, Rikshospitalet, som er ansvarlig for industert sputum undersøkelsene og NO i utåndingsluft, Statens arbeidsmiljøinstitutt, som er ansvarlig rhinometri, gassdiffusjon, lungefunksjonsmålinger og blodprøver, og ved Klinisk kjemisk avdeling ved Ullevål universitetssykehus (UUS), som er ansvarlig for analyse av blodprøvene. Norferm Danmark utførte endotoksinanalysene i undersøkelsene i 2003, 2004 og 2005.

I denne rapporten blir resultatene fra etterundersøkelsen oppsummert og sammenlignet med tidligere undersøkelser. I tillegg ble serumprøver tatt i Norferms regi i 2002 og lagret ved Norferm Danmark (nå DB Lab A/S) undersøkt.

Rapporten er utarbeidet av Statens arbeidsmiljøinstitutt, Lungemedisinsk avdeling og Senter for yrkes- og miljømedisin, Rikshospitalet og Klinisk kjemisk avdeling ved Ullevål universitetssykehus.

Rapporten er lest og kommentert av representanter for Norferm ved Statoil og av en tidligere ansatt ved Norferm som var med i undersøkelsen.

¹ Senter for yrkes- og miljømedisin er flyttet til UUS og heter nå Avdeling for yrkes- og miljømedisin

SAMMENDRAG

Innledning

Norferm var en bedrift som produserte bioprotein ved å dyrke bakterier med Nordsjø-gass som karbonkilde. Produktet hadde en gunstig sammensetning av aminosyrer som gjorde det egnet som tilsetning til dyrefôr. Bedriften ble nedlagt i 2006.

Bedriften startet produksjonen 20. august 1998. I februar 2001 tok bedriften kontakt med STAMI fordi flere av de ansatte hadde fått akutte anfall med feber, influensalignende symptomer og verkende øyne 4 til 20 timer etter eksponering for tørt bioprotein eller forstøvet kulturvæske. En ansatt hadde vært til undersøkelse ved Arbeidsmedisinsk avdeling ved St. Olavs Hospital. Fordi en ikke kunne utelukke at luftveiene kunne skades ved vedvarende eksponering ble bruk av åndedrettsvern påbudt ved utsatte arbeidsoppgaver, særlig nedstrøms men også ved spyling og vasking oppstrøms og ved noen analyseoppgaver på laboratoriet. Videre ble det besluttet å følge eksponeringen og helseutviklingen til arbeidstakerne over en periode på 5 år.

Den første undersøkelsen ble gjennomført våren 2003 og den første oppfølgingsundersøkelse i 2004. Undersøkelsene ble imidlertid avsluttet allerede høsten 2005 fordi bedriften ble nedlagt 28. februar 2006. Etter anmodning fra Statens arbeidsmiljøinstitutt besluttet Statoil, som eier bedriften, at de tidligere ansatte skulle etterundersøkes ett år etter at bedriften ble nedlagt for å studere om tidligere registrerte helseutfall hadde gått tilbake.

Prosjektet er tilrådd av Regional komité for medisinsk forskningsetikk i Trondheim og Oslo og er gjennomført med økonomisk støtte fra Statoils fond for yrkesmedisinsk forskning, Arbeidsmiljøfondet (NHO), Statens arbeidsmiljøinstitutt og Rikshospitalet. Alle deltakere fikk informasjon om prosjektet (Vedlegg 1) og undertegnet en samtykkeerklæring i 2003, 2005 og 2007 (Vedlegg 2). Samtykkeerklæringene fra 2005 og 2007 er lagret ved Statens arbeidsmiljøinstitutt, mens de fra 2003 er antagelig arkivert sammen med Norfermarkivet ved Statoil. Det har ikke vært mulig å få tak i samtykkeerklæringene fra 2003.

Følgende undersøkelser ble utført:

	2002	2003	2004	2005	2007
Lungefunksjon		X	X		X
Gassdiffusjon (gassutveksling i lungene)			X		X
nitrogenmonoksid i utåndingsluft (NO, betennelsesmarkør)				X	X
Indusert sputum (celler og betennelsesmarkører i luftveiene)			X	X	X
Rhinometri (nese dimensjoner)			X		X
Blodprøver (betennelsesmarkører)	X	X	X	X	X
Tårevæske		X			
Symptomer		X	X		X
Eksponering		X	X	X	

Materiale og metoder

Eksponeringsmålinger av endotoksiner (giftstoffer fra Gram-negative bakterier i Bioprotein) ble utført med registrering av bruk av verneutstyr og arbeidsoppgaver i 2003, 2004 og 2005. Eksponering for inhalerbart støv ble målt i 2004.

Ved etterundersøkelsen ble arbeidsoppgavene som tidligere Norferm-operatører utførte registrert ved hjelp av spørreskjema, spørsmål 2.1. I tillegg ble dato for ansettelse ved Norferm registrert med spørsmål 2.2 (Vedlegg 3).

Arbeidsoppgaver i nåværende jobb etter at Norferm ble nedlagt ble registrert ved hjelp av samme spørreskjema, spørsmål 3.1 – 3.5.

Helseundersøkelser

I 2007 ble alle 31 ansatte som har vært med i undersøkelser før 2005 etterundersøkt.

Etterundersøkelsen omfattet følgende metoder:

- Lungefunksjon ble målt med spirometri.
- Gassutveksling ble målt ved innånding av luft tilsatt karbonmonoksid og metan og måling av disse gassene i inn- og utåndingsluft.
- Indusert sputum; Produksjon av sputum (slim) i luftveiene ble stimulert ved innånding av saltvannsaerosol (3,4 og 5 % natriumklorid) i tre 7 minutters perioder og forsøkspersonen ble bedt om å hoste kraftig for å bringe spytt opp (indusert sputum). Cellesammensetning og ulike betennelsesmarkører i indusert sputum ble undersøkt.
- NO (nitrogenmonoksid) ble målt i utåndingsluft som er en betennelsesmarkør ved astma og allergi.
- Rhinometri; Nesehulens dimensjoner ble målt med et akustisk rhinometer. Svelling av slimhinnene i nesa er et tegn på en betennelsesreaksjon og avleses som en nedgang i nesevolum og tverrsnitt. Målinger ble tatt både før og etter arbeid, mens en tredje måling ble tatt etter avsvelling med nese-dråper.
- Blodprøver ble undersøkt på hvite blodceller (EDTA blod) og betennelsesmarkører (serum og plasmaprøver).
- Luftveisplager etter at Norferm ble nedlagt ble registrert med et spørreskjema, se Vedlegg 3. Svarene ble sammenlignet med tilsvarende spørsmål besvart i 2005.

Resultater

Eksponering

Nåværende arbeid

Mange ansatte har nå fått jobb i StatoilHydro og annen oljerelatert virksomhet (87%). Gjennomsnittlig arbeidstid per dag er ganske høy, ca 11 timer/dag. Dette skyldes at mange jobber døgnkontinuerlig skift (82%), se Tabell 2 i hovedrapporten.

De fleste av de tidligere Norferm-ansatte jobber som prosessoperatører, med vedlikehold eller på laboratoriet (81%) hvor de er eksponert for oljedamp og kjemikalier, se Tabell 3 i hovedrapporten.

Eksponering ved Norferm

Av 31 tidligere Norferm-operatører hadde 17 operatører (55%) arbeidet nedstrøm delvis eller hele tiden, mens 12 operatører (39%) hadde kun arbeidet med andre eksponerte oppgaver (oppstrøm, laboratoriet, ingeniør, produktutvikling, vedlikehold), se Tabell 4 i Hovedrapporten.

I 2001 ble noen få målinger utført før prosjektet startet. Disse viste i gjennomsnitt 11.000 EU/m³ (N=3) hos nedstrømsoperatører og en måling av en oppstrømsoperatør viste 410 EU/m³. Eksponering for endotoksin målt ved helseundersøkelsene i 2003, 2004 og 2005 er sammenfattet i Tabell 5.

I 2003 utførte de fleste arbeidstakerne sekkeømming og brukte da overtrykksmasker og engangskjeledresser. Det ble derfor nye målinger foretatt senere dette året som viste i gjennomsnitt 28.000 EU/m³ (N=6) hos nedstrømsoperatørene og 1.200 EU/m³ (N=5) hos andre arbeidstakere i produksjonen uten bruk av maske. Målingene utført ved helseundersøkelsene i 2004 og 2005 er mer representativ for normal produksjon. Operatørene brukte også maske i 2004 og 2005, spesielt nedstrømsoperatørene som arbeidet med tørket Bioprotein. Resultatene med og uten bruk av maske er derfor vist separat. Nedstrømsoperatørene var høyest eksponert, i gjennomsnitt fra 2.000 til 28.000 EU/m³. Oppstrømsoperatørene, vedlikeholds- og laboratoriepersonale og ingeniører var eksponert for gjennomsnittsnivåer fra 370 til 1.200 EU/m³. Kontorpersonale var også eksponert for målbare nivåer fra 100 til 190 EU/m³. Rekkefølgen i Tabell 4 viser derfor arbeidsoppgavene med avtagende eksponeringsnivå.

Endotoksin-nivåene var klart høyere når operatørene brukte maske, men høye eksponeringer forekom også uventet og da ble maske ikke brukt. I 7 av 13 målinger hos nedstrømsoperatører var eksponeringen høyere enn 10.000 EU/m³ når de ikke brukte maske. Forskjellene mellom gruppene uten maskebruk var signifikant (ANOVA p<0.001), men ikke når operatørene brukte maske. Inhalerbart støv ble målt i 2004 og var også høyere når nedstrømsoperatørene brukte maske, henholdsvis 0,17 og 0,69 mg/m³ (aritmetisk middelværdi). Støvkonsentrasjonen hos andre prosessarbeidere når de brukte maske var ganske lik eksponeringen da de ikke brukte maske, henholdsvis 0,19 og 0,18 mg/m³.

Helseeffekter

Lungefunksjon

Lungefunksjonen (FVC og FEV₁) økte signifikant i forhold til referanseverdien fra 2004 til 2007. For FEV₁ ble det funnet en årlig økning på 8 ml mens et alders-relatert fall var forventet. Undersøkelser hos kornsilo og bomullsarbeidere som er eksponert for organisk støv med et betydelig innhold av endotoksiner viser også at utviklingen av lungefunksjonen normaliseres når eksponeringen opphører. At FEV₁ observert ved etterundersøkelsen faktisk viser en forbedring er i samsvar med disse undersøkelsene. Det er derfor sannsynlig at opphør av endotoksin-eksponeringen resulterte i en normalisering av lungefunksjonen.

Gassutvekslingen

Inhalasjon av endotoksin kan også indusere endringer i diffusjonskapasiteten, men slike forandringer ble ikke funnet ved undersøkelser av Norferm-ansatte i 2004 og ved etterundersøkelsen. Dette kan skyldes at luftbåret Bioprotein består av relativt store partikler, slik at bare en liten andel kan forventes å nå lungeblærene. De store partiklene kan også forklare hvorfor det tidligere ble funnet reaksjoner i øynene

Nitrogenmonoksid (NO) i utåndingsluft

NO i utåndingsluft var signifikant redusert hos de ansatte etter opphør av eksponeringen (16 ppb) sammenlignet med eksponert periode (20ppb). Forskjellen mellom eksponert periode og ett år etter eksponering er allikevel liten, og vil derfor ikke være egnet som detektor for inflammasjon for enkelt individer, men mer som en markør på gruppenivå for å se inflammatoriske prosesser. Til sammenligning så har en frisk voksen referansepopulasjon en gjennomsnittelig NO-verdi på 17 ppb og astmatikere har en gjennomsnittelig NO-verdi på 50 ppb. Det tyder på at de ansatte ved Norferm har NO-verdier i innenfor det normale variasjonsområde.

Indusert sputum

Resultatene i undersøkelsene fra 2005 viser at de undersøkte arbeiderne har en inflammasjon som domineres av nøytrofile granulocytter i luftveiene. Dette gjelder også de arbeidstakerne som er lavere eksponert, samt arbeidstakere som jobber utenfor produksjonsanlegget på kontoret. Studien i 2004 viste at denne nøytrofilien er opprettholdt selv etter en 6 dagers friperiode. Opphopning av nøytrofile celler i de sentrale luftveier er en forventet respons ved eksponering for bl.a. endotoksin. Nøytrofile cellers betydning i utvikling av KOLS er likevel omdiskutert. Det er derfor uklart om opphopning av nøytrofile celler medvirker til utviklingen av KOLS utover det å være en tidlig markør på inflammasjon. Sputumprøvene tatt ett år etter eksponeringsstopp viste at både prosentvis og antall nøytrofile celler var redusert sammenlignet med 2005-prøven, og tilnærmet lik verdiene til en ueksponert gruppe. Dette tyder på at den nøytrofile inflammasjonen i luftveiene er betydelig reversert ett år etter eksponeringsopphevet.

Betennelsesmarkører var økt i induert sputum hos de ansatte under eksponert periode sammenlignet med en ueksponert kontrollgruppe, men ble redusert etter opphør av eksponering.

Rhinometri

Nesetettheten var lite endret ved etterundersøkelsen sammenlignet med undersøkelsen foretatt i 2004. Dette kan tolkes på forskjellige måter; (1) en kronisk betennelsestilstand i nesene som følge av eksponering for Bioprotein ved Norferm; (2) en reaksjon på eksponering i nåværende arbeid; og (3) at undersøkelsesgruppen tilfeldigvis har en større grad av nesetetthet enn normalt. Hvilken av forklaringene er mer sannsynlig kan ikke avgjøres på grunnlag av de foreliggende resultater.

Blodprøver

Resultatene viser et komplisert bilde. En lengre drøftelse av resultatene er derfor nødvendig.

Flere betennelsesmarkører viste en normalisering ved etterundersøkelsen (hvite blodceller, ECP¹, D-dimer¹). Dette viser at betennelsesreaksjonen på bioprotein eksponeringen har gått tilbake.

Konsentrasjonen av hvite blodceller har gått signifikant ned og ligger innenfor normalområdet ($3,5 - 11 \cdot 10^9$ ml).

En økning av IL-6 over skiftet ble funnet tidligere (Skogstad et al 2005) og prøver fra 2002 viste også et høyere nivå enn i 2005 og 2007. Det var ingen vesentlig endring fra 2005 til 2007, hvilket kan tyde på at IL-6 øker først ved et relativt høyt eksponeringsnivå (høyere enn i 2005). Normalnivå av IL-6 refereres til 1 ng/L på dagtid som øker til 2,5-5 ng/L om natten. Et nivå på ca 4 ng/L på dagtid synes derfor forhøyet, men det er mulig at skiftarbeid, som de fleste ansatte nå har, kan ha forstyrret døgnvariasjonen.

CRP¹ viste en liten nedgang fra 2005 til 2007, men nivået var fortsatt lett forhøyet i forhold til referanse-verdier fra USA. Sammenlignet med en kontrollgruppe som Rikshospitalet undersøkte imidlertid ganske lik. Derfor er det vanskelig å si om verdiene vi har målt er forhøyet.

Andre betennelsesmarkører (MIP-1 α , RANTES og PDGF-bb) var lavere i 2005 sammenlignet ved etterundersøkelsen og med prøver tatt i 2002. Samme mønster ble også observert for MCP-1¹, men økningen fra 2005 til 2007 var ikke signifikant. Tilsvarende funn er observert etter human provokasjonstester med inhalert endotoksin hos friske forsøkspersoner og blant bønder. Denne "toleranse" er forbigående, men kan bl.a. føre til økt hyperreaktivitet i luftveiene. Dersom dette er forklaringen på mønsteret for betennelsesmarkørene tyder det på at eksponeringen i 2002 var mer irregulær enn senere, noe som er i samsvar med hyppige og langvarige produksjonsstopp i de første årene.

¹ betennelsesmarkør

Fibrinogen¹ var signifikant høyere ($p < 0.05$) ved etterundersøkelsen i 2007 sammenlignet med 2004. Forskjellen er imidlertid liten og bruk av ulike analysemetoder kan ha forårsaket dette funnet. Dessuten var D-dimer, et nedbrytingsprodukt av fibrin, signifikant lavere ved etterundersøkelsen, men også her er det usikkerhet på grunn av ulike analysemetoder.

Symptomer

Ved etterundersøkelsen viser symptomrapporteringen en nedgang for alle symptomer sammenlignet med 2005. Endringene er ikke statistisk signifikante fordi antall personer er for liten for slike sammenligninger. Det var for noen flere personer som rapporterte tilbakegang i symptomer enn går frem av Tabell 11 fordi 2 personer hadde utviklet symptomer etter 2005. Siden dette kan skyldes eksponering i nåværende arbeid synes nedgangen i symptomrapporteringen betydelig.

Reduksjonen av symptomer observeres både hos nedstrømsoperatører og ansatte med andre oppgaver. Dette kan tyde på at episoder med uventet høy eksponering har hatt større betydning enn gjennomsnittseksponeringen som var betydelig høyere hos nedstrømsoperatører.

Samlet vurdering

Den tidligere observerte betennelsesreaksjonen i lunge og blod gikk tilbake ett år etter at produksjonen av bioprotein ble nedlagt. Lungefunksjonen forbedret seg signifikant, og færre rapporterte luftveissymptomer selv om dette ikke var statistisk signifikant. Nitrogenmonoksid i utåndingsluft, en markør for betennelsesreaksjoner i luftveiene, var også signifikant lavere. Nivået av noen betennelsesmarkører i sputum og i blod var også signifikant lavere. Et overraskende funn var at flere markører i blod var økt signifikant ved etterundersøkelsen noe som kan tyde på utvikling av toleranse mot endotoksin i 2005. Vi tolker våre samlede resultater da til at det har skjedd en normalisering i 2007.

¹ betennelsesmarkør

Konklusjoner

Resultatene fra etterundersøkelsen er oppsummert i følgende tabell:

Parameter	Endring i 2007 sammenlignet med			Status i 2007 i forhold til normalt
	2002	2003-4	2005	
Dynamisk lungefunksjon				
FEV ₁		forbedret		OK
FVC		forbedret		OK
Gasdiffusjon, DL _{CO}		uendret		OK
Nitrogen monoksid i utåndingsluft			↓	OK
Indusert sputum neutrofileceller			↓	OK
Rhinometri		uendret		noe tettere enn normalområde, men mange er eksponert i nåværende job
Hvite blodceller		↓	↓	OK
Betennelsesmarkører				
ECP		↓		OK
CRP	uendret		uendret	OK
Luftveissymptomer			uendret	Uklart pga lite materiale og ingen referanse

Samlet sett viser resultatene fra etterundersøkelsen at tidligere funn med nedsatt lungefunksjon og inflammasjon i blod og i luftveiene har forbedret seg.

Det har også blitt målt ulike biomarkører i blod og sputum. Disse markørene kan ikke tolkes som uttrykk for helseeffekter, men er blitt undersøkt for å studere betennelsesaktivitet i forskningsøyemed.

Anbefalinger

Det er ikke behov for videre oppfølging av helsestatus hos de tidligere ansatte ved Norferm på gruppebasis.

HOVEDRAPPORTEN

1. Innledning

Norferm var en bedrift som lå på Nordmøre i Aure kommune. Bedriften ble besluttet nedlagt i 2006. Bedriften produserte bioprotein ved å dyrke bakterier der Nordsjøgass fungerer som karbonkilde. Produktet hadde en gunstig aminosyre-sammensetning som gjorde det egnet som tilsetning til dyrefôr.

Bedriften startet produksjonen 20. august 1998. Etter at en ansatt hadde vært til undersøkelse ved Arbeidsmedisinsk avdeling ved St. Olavs Hospital februar 2001, tok bedriften kontakt med STAMI februar 2001 fordi flere av de ansatte hadde fått akutte anfall med feber, influensalignende symptomer og verkende øyne 4 til 20 timer etter eksponering for tørt bioprotein eller forstøvet kulturvæske. Fordi en ikke kunne utelukke at luftveiene kunne skades ved vedvarende eksponering ble bruk av åndedrettsvern påbudt ved utsatte arbeidsoppgaver, særlig nedstrøms men også ved spyling og vasking oppstrøms og ved noen analyseoppgaver på laboratoriet. Videre ble det besluttet å følge eksponeringen og helseutviklingen til arbeidstakerne over en periode på 5 år.

Den første undersøkelsen ble gjennomført våren 2003 og den første oppfølgingsundersøkelsen i 2004. Undersøkelsen ble imidlertid avsluttet allerede høsten 2005 fordi bedriften ble nedlagt 28. februar 2006. Etter anmodning fra Statens arbeidsmiljøinstitutt besluttet Statoil, som eier bedriften, å undersøke de tidligere ansatte et år etter at bedriften ble nedlagt for å studere om tidligere registrerte helseutfall hadde gått tilbake.

Prosjektet er tilrådd av Regional komité for medisinsk forskningsetikk i Trondheim og Oslo og er gjennomført med økonomisk støtte fra Statoils fond for yrkesmedisinsk forskning, Arbeidsmiljøfondet (NHO), Statens arbeidsmiljøinstitutt og Rikshospitalet. Alle deltakere fikk informasjon om prosjektet (Vedlegg 1) og undertegnet en samtykkeerklæring i 2003 og 2007 (Vedlegg 2).

Følgende undersøkelser ble utført:

	2002	2003	2004	2005	2007
Lungefunksjon		X	X		X
Gassdiffusjon			X		X
NO i utåndingsluft				X	X
Indusert sputum			X	X	X
Rhinometri			X		X
Blodprøver	X	X	X	X	X
Tårevæske		X			
Symptomer		X	X		X
Eksponering		X	X	X	

2. Materiale og metoder

2.1 Eksponering

2.1.1 Eksponering ved Norferm

Arbeidsoppgavene som tidligere Norferm-operatører utførte ble registrert ved hjelp av spørreskjema, spørsmål 2.1. I tillegg ble dato for ansettelse ved Norferm registrert med spørsmål 2.2 (Vedlegg 3).

2.1.2 Nåværende eksponering

Arbeidsoppgaver i nåværende jobb etter at Norferm ble nedlagt ble registrert ved hjelp av spørreskjema, spørsmål 3.1 – 3.5, Vedlegg 3.

2.2 Helseundersøkelser

2.2.1 Studiepopulasjon

I 2007 ble alle 31 ansatte som har vært med i undersøkelser før 2005 etterundersøkt.

De ansatte var gjennomsnittlig 39 år gamle (25-51 år). Det var 4 dagligrøykere i gruppen og en som hadde sluttet for mindre enn ett år siden.

Tabell 1: Karakteristika av tidligere ansatte ved Norferm ved etterundersøkelsen i 2007.

	Middelverdi	Standard avvik	Range	N	%
Alder, år	38,9	6,2	29-55		
År ansatt ved Norferm	6,1	2,0	1- 8		
Mann				25	81
Kvinne				6	19
Røyking					
- ikke				22	71
- sluttet >1år siden				4	13
- aktiv eller sluttet <?1år siden				5	16

2.2.2 Spirometri

Lungefunksjonen ble målt med Vitalograph 2160 (Spirotrac®, UK). Alle tester ble utført av samme tekniker. Arbeidstakerne fikk standardisert instruks med demonstrasjon av prosedyrene, og ble undersøkt sittende med en neseklype på nesen. Spirometeret ble kalibrert hver dag med 1 L kalibreringsprøyte. De

beste verdiene fra minst tre tilbredstillende utførte spirometriregistreringer ble brukt i analysene i henhold til ATS og ERS kriterier (Miller MR et al 2005). Forsert vital kapasitet (FVC), forsert ekspirert luft i løpet av et sekund (FEV₁) og forsert maksimal luftstrøm (FEF_{25-75%}) ble registret.

2.2.3 Gassutveksling

«Transfer» faktor for karbonmonoksyd (DLCO) ble målt med Sensor medic's lab® i henhold til «single breath holding method» (ATS 1987). To registreringer av DLCO ble utført og gjennomsnittet av målingene ble brukt i analysene. Effektivt alveolært volum (V_A) ble målt samtidig ved heliumfortynning og «transfer per unit effective alveolar volume» (K_{CO}) ble utregnet.

2.2.4 Nitrogenmonoksid (NO) i utåndingsluft

NO i utåndingsluft ble målt med en NIOX MINO (Aerocrine). Man inhalerer gjennom et filter som renser luften for NO, og puster deretter ut i 10 sekunder mot en motstand. Målingen gjentas en gang for å få en representativ gjennomsnittsverdi for FE_{NO} (fractional exhaled NO). NIOX MINO kvantifiserer NO ved hjelp av en elektrokjemisk sensor. NO i utåndingsluft er et mål på eosinofil aktivitet i luftveiene (Jatakanon et al 1998). Ved astma og allergi ser man nivåer av NO i utåndingsluft som overstiger 35 ppb (Kharitonov et al 2003). To av de ansatte fra Norferm hadde selvrapportert astma og ble ekskludert fra NO-målingene. Dessuten ble ingen av røykerne undersøkt.

2.2.5 Indusert sputum

Forsøksdesign

Alle deltakerne fylte inn et standardisert spørreskjema på undersøkelsesdagen med spørsmål om alder, røykevaner, arbeidsoppgaver, antall år ansatt, sykdom, infeksjoner og symptomer som tungpustethet og hoste. Tre av arbeiderne i 2004-studien, og fire av arbeiderne i 2005-studien hadde selvrapportert gresspollenallergi, men prøvene var samlet utenom graspollensesongen. Ingen hadde KOLS eller kronisk bronkitt, men en person i 2004-studien og to personer i 2005-studien hadde selvrapportert astma. En av de ansatte hadde mest sannsynlig lungebetennelse ved prøvetaking og ble ekskludert fra analysene i studien. I 2005-studien er resultatene fra de 4 røykerne inkludert i det øvrige materialet fordi disse prøvene ikke skilte seg ut fra de øvrige undersøkte.

Det var 26 arbeidere som gjennomførte indusert sputum undersøkelsen i 2005, og 20 av disse gjennomførte undersøkelsen i 2007.

I 2005-studien ble de ansatte delt inn i to ulike grupper på bakgrunn av hvilke arbeidsoppgaver de hadde. Den høyt eksponerte gruppen bestod av ansatte som jobbet "nedstrøms" på bedriften, og de brukte alle luftrykksmasker ved høyt eksponerte arbeidsoppgaver.

Den medium/lavt eksponerte gruppen består av ansatte som jobbet "oppstrøms", på laboratoriet og vedlikeholdsansatte. Ingen av dem brukte luftrykksmasker i løpet av arbeidsdagen da sputumprøvene ble tatt.

Det ble satt et krav til at personene inkludert i kontrollgruppen skulle gi en sputumprøve hvor celletallet oversteg 1,2 millioner. Dette var fordi det skulle isoleres RNA fra prøven. Derfor er det totale celletallet i kontrollgruppen høyere enn forventet, men prosentvis cellefordeling er som forventet.

Våren 2004 ble det tatt en sputumprøve på slutten av en arbeidsdag i en arbeidsperiode (minst 2 dager eksponert) (i alt 11 arbeidere) og en såkalt ueksponert prøve etter minst 6 dagers friperiode (i alt 7 arbeidere). Ved prøvetaking høsten 2005 ble det tatt induisert sputumprøve av 26 av de ansatte ved Norferm etter minst 5 timer i arbeid.

Sputum induksjon

Prosedyren beskrevet av Pin et al. (Pin et al. 1992) ble fulgt med noen modifiseringer. Det har blitt benyttet samme prosedyre for sputum induksjon og prøveoppbevaring for alle gruppene som er omtalt i denne rapporten. Forut for induksjonen av sputum utføres lungefunksjonsmåling (spirometri) med registrering av FEV₁ og FVC. Forstøvet hypertont saltvann (hhv. 3, 4 og 5 %) blir så inhalert i tre 7 minutters perioder. Mellom hver inhaleringsperiode blir pasienten / forsøkspersonen bedt om å skylle munnen godt før de hoster kraftig for å bringe sputum opp. Deretter kontrolleres FEV₁ for å se om den er uendret eller i hvilken grad den har falt. Ved FEV₁ fall på mer enn < 20% avbrytes sputuminduksjonen. Sputumet/ekspektoratet blir så oppbevart på is.

Sputumprosessering og celletellinger

Prepareringen av prøven gjøres umiddelbart etter innsamlingen av sputum. Sputumet fortynnes, løses opp, filtreres og sentrifugeres. Supernatanten fryses ned og pelletten resuspenderes. Deretter telles totalt antall celler vha et Bürkerkammer. Viabiliteten til cellene og antallet epitelceller registreres også.

Flowcytometri

Cellene i sputumprøven ble differensialtalt ved hjelp av flowcytometri. Dette ble utført på en FACSCalibur (Becton Dickinson) med to ulike lasere (bølgelengde = 488nm og 633nm). Oppsettet på maskinen var det samme gjennom hele studien. Ti tusen celler/hendelse ble talt for alle prøvene. Utvelgelsen av leukocytene i sputum var basert på en kombinasjon av lysspektra karakteristikk og positiv/negativ uttrykk for relevante overflatemarkører hhv. lymfocytter: CD5⁺, alveolære makrofager: HLADR⁺/CD16⁺/CD45⁺, nøytrofile granulocytter: HLADR⁻/CD16⁺/CD45⁺, eosinofile celler: CD5⁻/CD16⁻/CD45⁺. På bakgrunn av dette ble populasjoner av lymfocytter, alveolære makrofager, nøytrofile granulocytter og eosinofile celler observert. Dette ble så analysert i Cell quest software (Becton Dickinson)

2.2.6 Rhinometri

Nesehulens dimensjoner målt med et akustisk rhinometer (Rhin2100, Rhino Metrics AS, Lyngby, Danmark) som tidligere beskrevet (Anon 2000). Metoden er basert på lydbølger som sendes inn i nesa via et anatomisk utformet adapter

plassert ved neseåpningen. Ekko av lydbølgene registreres ved hjelp av en mikrofon og dimensjonene avleses i et rhinogram. Svelling av slimhinnene i nesa, som er et tegn på en inflammatorisk respons, kan da avleses ved en nedgang i nesevolum og tverrsnittmål. Det minste tverrsnittsareal og volum mellom 0-20 mm (ytre del) og 20-50 mm (indre part) fra neseborene ble målt. I 2004 ble målinger utført før og etter skift og en ny måling 15 min etter avsvelling med Xyclometazolin (nesedråper) for å beregne en avsvellingsfaktor som mål for hevelse i slimhinnene i den indre delen (Mamikoglu et al 2005). I 2007 ble to målinger utført, en før og en etter avsvelling.

2.2.7 Blodprøver

Det ble tatt blodprøver av de ansatte i 2002, 2003, 2004, 2005 og 2007. I 2003 og 2004 ble det tatt en prøve før og en etter skift, mens det i 2002, 2005 og 2007 kun ble tatt én prøve. Blodprøvetagning ble utført av bedriftshelsetjensten i 2002, mens de andre blodprøvene ble tatt av prosjektgruppens medarbeidere. I 2005 ble blodprøvene tatt rett før sputumundersøkelsen og i 2007 ble prøve tatt på Statens arbeidsmiljøinstitutt i løpet av dagen.

Blod til serumanalyser (inflammasjonsmarkører, CRP) ble tappet i gelrør, satt ved romtemperatur i 30 min før sentrifugering (3000 rpm, 10min). Deretter ble serum overført til cryorør og lagret ved -70 C°. Blod til citratplasmaanalyser (fibrinogen, D-dimer) ble sentrifugert (3000 rpm, 10min) hvorpå citratplasma ble overført til cryorør og lagret ved -70 C°. Leukocyt-telling ble utført i EDTA blod innen 48 timer. Analysing ble utført ved Avdeling for medisinsk biokjemi og klinisk farmakologi, Oslo Universitetssykehus, Ullevål hvis ikke annet er angitt.

Inflammasjonsmarkører ble analysert med et kulebasert multiplex bioassay med Xmap teknologi (Luminex corporation, USA). Interleukin 6 (IL-6), monocyte chemotactic protein 1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein 1 alpha (MIP-1 alpha), chemotactic protein RANTES og Platelet-Derived Growth Factor BB (PDGF-BB) ble analysert med Bio-Plex Human Group 1 assay 5-plex (BioRad, USA). Analysene ble utført etter protokoll fra produsenten som oppgir interassay variasjon, CV %, for de ulike markører fra 3 til 10%.

Hs-CRP ble analysert i serum med en immunoturbidimetrisk metode (Hitachi 917, Roche®. Roche Diagnostics, Germany). Interassay variasjon hadde en CV på 5 %.

Fibrinogen ble i 2004 målt ved Klinisk kjemisk avdeling, St. Olavs Hospital i Trondheim (Fibri-Prest automat v/Clauss metoden, Medinor ASA). I 2007 ble fibrinogen analysert ved hjelp av en immunoturbidimetrisk metode (STAGO, STA-R Evolution). Interassay variasjon (CV) var på 4 %. Siden to forskjellige metoder ble benyttet ble resultatene beregnet som prosent av den høyeste referanseverdi som laboratoriene oppgir.

D-dimer ble i 2004 analysert ved Klinisk kjemisk avdeling, St. Olavs Hospital i Trondheim med en immunoturbidimetrisk metode (Tinaquant Hitachi 917,

Roche®). I 2007 ble D-dimer analysert med en immunoturbidimetrisk metode (STAGO). Interassay variasjon (CV) var på 3%. Siden to forskjellige metoder ble benyttet, ble resultatene beregnet som prosent av den høyeste referanseverdi som laboratoriene oppgir.

Leukocyt-telling i 2003, 2004 og 2005 ble utført med haemocytometri (Lewis et al 1989 ved et kommersielt laboratorium i Oslo (Fürst laboratorium). I 2007 ble leukocytter analysert med Sysmex hematologi system (Sysmex Europe GmbH, Hamburg, Germany).

ECP (eosinofilt kation protein) ble kun analysert i 2004 og 2007 med en fluorometrisk enzyme-immunoassay metode (UniCAP 1000, Pharmacia®) på et kommersielt laboratorium (Fürst laboratorium). Interassay variasjon (CV) var 4%.

IgE (PRIST) ble i 2004 analysert med et fluoro-enzymeimmuno assay (UniCAP 1000, Pharmacia ®) ved et kommersielt laboratorium i Oslo (Fürst laboratorium). Interassay variasjon (CV) var på 3%.

Metode og lagring av blodprøvene tatt i Norferm-regi i 2002.

Det ble tatt 2 - 3 fullblodsglass uten tilsetning. Blodprøveglassene stod i ca 30 min før sentrifugering (3200 rpm, 10 min). Serum ble avpipetert og prøvene ble frosset (-18 °C) ned innen 4 timer fra prøvene ble tatt. Prøvene (på tørris) ble så transportert med fly fra Tjeldbergodden til Norferm Danmark A/S i Odense (nå DBLab) der de ble oppbevart ved -80 °C i 5 år. I 2007 ble prøvene fraktet på tørris til Oslo og lagret i fryser ved -80 °C på Ullevål sykehus fram til analysetidsspunktet.

2.2.8 Symptomer

Luftveisplager hos tidligere Norferm-ansatte etter at bedriften ble nedlagt, ble registrert med et spørreskjema, se Vedlegg 3. Svarene ble sammenlignet med tilsvarende spørsmål besvart i 2005.

2.2.9 Statistiske metoder

Avhengig av hvilken fordeling en variabel har er parametriske og ikke-parametriske statistikk blitt benyttet. Ved rimelig normal fordelte data som lungefunksjon er aritmetisk middelværdi, standardavvik og t-tester benyttet, mens skjevfordelte data som eksponeringsdata, blodprøvene og celler i induert sputum er blitt fremstilt med median og range eller percentiler og ikke-parametriske tester er blitt benyttet. En spesiell stilling har eksponeringsdata, siden de best fremstilles ved log-normal fordelinger og forskjeller mellom jobbgrupper testet med en-veis ANOVA. For ikke å komplisere rapporten har ikke parametriske mål blitt benyttet for fremstilling av måledata. Til tross for det er det viktig å bruke aritmetisk middelværdi når en angir eksponeringsnivå innen grupper, fordi dette sentralmålet er beste estimat for inhalert dose. Symptomer rapportert i 2005 og ved etterundersøkelsen i 2007 ble sammenlignet med McNemars test.

3. Resultater

3.1 Eksponering

3.1.1 Nåværende arbeid

Type arbeid som tidligere Norferm-ansatte nå har etter at Norferm ble nedlagt er sammenfattet i Tabell 2. Mange ansatte har fått jobb i StatoilHydro og annen oljerelatert virksomhet (87%). Siden mange jobber døgntkontinuerlig skift, er det forståelig at gjennomsnittlig arbeidstid er så høy som ca 11 timer/dag.

Tabell 2. Nåværende arbeid av tidligere Norferm-ansatte.

Spørsmål	Svarkategori	Antall svar	N	%
Bedrift	StatoilHydro	31	22	71
	annen oljerelatert virksomhet		5	16
	annet		4	13
Arbeidsoppgaver	prosessoperatør	31	12	39
	vedlikehold		9	29
	laboratorie		4	13
	administrasjon		4	13
	annet		2	6
Skiftordning	dag	28	5	18
	ulike typer fullskift		23	82
			AM	SD
Arbeidstid, timer/dag			10,7	1,9

De fleste av de tidligere Norferm-ansatte jobber som prosessoperatører, med vedlikehold eller på laboratoriet (81%) hvor de er eksponert for oljedamp og kjemikalier. Tabell 3 gir kvalitativ informasjon om eksponeringen i nåværende arbeid.

Tabell 3. Eksponering for kjemiske og biologiske stoffer i nåværende arbeid.

Spørsmål	Svar kategori	Antall svar	N	%
Eksponering for røyk, støv, eller irriterende damper/gasser	ja	31	12	39
	nei		19	31
Type forurensninger	oljedamp og hydrokarboner	15	8	53
	kjemikalier		6	40
	biologisk støv		2	13
	annet		2	13
Bruk av åndedrettsvern	nei	31	12	39
	av og til		8	26
	ja, ved eksponering		11	36

3.1.2 Eksponering ved Norferm

Arbeidsoppgavene som tidligere Norferm-operatører hovedsakelig har utført ved Norferm er vist i Tabell 4.

Tabell 4. Arbeidsoppgaver som 31 tidligere operatører hovedsakelig utførte ved Norferm.

Arbeidsoppgave	N	%
Nedstrøm (kun)	3	10
Nedstrøm og annet prosessarbeid	14	45
Oppstrøm, laboratoriet, ingeniør, produktutvikling, vedlikehold	12	39
Administrasjon/kontor	2	6

I 2001 ble noen få målinger utført før prosjektet startet. Disse viste i gjennomsnitt 11.000 EU/m³ (N=3) hos nedstrømsoperatører og en måling av en oppstrømsoperatør viste 410 EU/m³. Eksponering for endotoksin målt ved helseundersøkelsene i 2003, 2004 og 2005 er sammenfattet i Tabell 5.

I 2003 utførte de fleste arbeidstakerne sekke tømning og brukte da overtrykksmasker og engangskjeledresser. Det ble derfor nye målinger foretatt senere dette året som viste i gjennomsnitt 28.000 EU/m³ (N=6) hos nedstrømsoperatørene og 1.200 EU/m³ (N=5) hos andre arbeidstakere i produksjonen uten bruk av maske. Målingene utført ved helseundersøkelsene i 2004 og 2005 er mer representativ for normal produksjon. Operatørene brukte også maske i 2004 og 2005, spesielt nedstrømsoperatørene som arbeidet med tørket Bioprotein. Resultatene med og uten bruk av maske er derfor vist separat. Nedstrømsoperatørene var høyest eksponert, i gjennomsnitt fra 2.000 til 28.000 EU/m³. Oppstrømsoperatørene, vedlikeholds- og laboratoriepersonale og ingeniører var eksponert for gjennomsnittsnivåer fra 370 til 1.200 EU/m³. Kontorpersonale var også eksponert for målbare nivåer fra 100 til 190 EU/m³. Rekkefølgen i Tabell 4 viser derfor arbeidsoppgavene med avtagende eksponeringsnivå.

Endotoksin-nivåene var klart høyere når operatørene brukte maske, men høye eksponeringer forekom også uventet og da ble maske ikke brukt. I 7 av 13 målinger hos nedstrømsoperatører var eksponeringen høyere enn 10.000 EU/m³ når de ikke brukte maske. Forskjellene mellom gruppene uten maskebruk var signifikant (ANOVA p<0.001), men ikke når operatørene brukte maske.

Tabell 5. Endotoksin-eksponering (EU/m³) målt ved helseundersøkelsene i 2003, 2004 og 2005.

Arbeidsoppgave	2003			2004			2005			
	uten maske		med maske	uten maske		med maske	uten maske		med maske	
	N	AM ^a (range) ^b	N AM ^a (range) ^b	N	AM ^a (range) ^b	N	AM ^a (range) ^b	N	AM ^a (range) ^b	
Operatør	3	3.000 (350-4.300)	2	33.000 (1.200-89.000) ^c						
- nedstrøm					3	2.000 (87-5.200)	5	15.000 (3.400-34.000)	2	7.900 (350-15.000)
- annet prosessarbeid					16	370 (3- 880)	2	6.100 (290- 8.900)	8	400 (110- 770)
Administrasjon/kontor	2	190 (60- 310)			2	100 (16- 190)			3	100 (75- 130)

^a AM = aritmetisk middelværdi

^b range = lavest – høyest verdi

^c De fleste arbeidstakere utførte kun en oppgave (sekketømming).

Inhalerbart støv ble målt i 2004 og var også høyere når nedstrømsoperatørene brukte maske, henholdsvis 0,17 og 0,69 mg/m³ (aritmetisk middelværdi). Støvkonsentrasjonen hos andre prosessarbeidere når de brukte maske var ganske lik eksponeringen da de ikke brukte maske, henholdsvis 0,19 og 0,18 mg/m³.

3.2 Helseeffekter

3.2.1 Lungefunksjon

Lungefunksjonen målt i 2003 hos menn og kvinner som deltok i undersøkelsene i 2003 og 2007 er vist i Tabell 6.

Tabell 6. Lungefunksjon hos menn og kvinner i 2003
Arbeidstakere som også ble undersøkt i 2007 er inkludert (n=28)

Parameter	Kvinner ^a		Menn					
	Alle (N=5)		Alle (N=28)		Røykere (N=5)		Ikke-røykere (N=23)	
	AM	(SD)	AM	(SD)	AM	(SD)	AM	(SD)
FVC, L	4,18	(0,43)	5,59	(0,81)	6,18	(1,10)	5,42	(0,67)
FEV ₁ , L	3,29	(0,37)	4,33	(0,63)	4,39	(0,90)	4,32	(0,56)
FEF ₂₅₋₇₅ , L/s	2,99	(0,59)	3,99	(1,38)	3,21	(1,01)	4,21	(1,41)

^a en kvinne røykte

I Tabell 7 sammenlignes lungefunksjonen målt i 2007 med før skift målinger i 2003 og 2004.

Tabell 7. Lungefunksjon i 2003, 2004 og ett år etter at bedriften ble nedlagt i 2007.
(N er som angitt unntatt DL_{CO} og K_{CO} hvor N=13)

Parameter	2003 (N=28)		2004 (N=25)		2007 (N=28)							
	% forventet		% forventet		% forventet							
	AM	(SD)	AM	(SD)	AM	(SD)						
FVC, L	5,34	(0,9)	98,9	(10,9)	5,32	(1,0)	99,4	(12,5)	5,45	(0,9)	103,0	(10,3) ^a
FEV ₁ , L	4,15	(0,7)	92,8	(9,5)	4,18	(0,7)	94,3	(11,2)	4,18	(0,7)	96,1	(8,2) ^a
FEF ₂₅₋₇₅ , L/s	3,81	(1,3)			3,86	(1,3)			3,70	(1,2)		
DL _{CO} , mmol/min/kPa ^b			12,5	(2,3)	105,4	(13,6)	12,4	(2,2)	105,6	(11,7)		
K _{CO} , mmol/min/kPa/L			1,7	(0,2)			1,7	(0,2)				

^a Lungefunksjon i prosent av forventet signifikant forskjellig fra 2003 (p<0.05) Repeated measures ANOVA, Bonferroni justert. Referanseverdier fra Gulsvik (1979).

Forskjellene for FVC og FEV₁ målt på de samme personene i 2003 og 2007 var ikke signifikante. Når man regner om disse verdiene til prosent av forventet basert på norske referanseverdier (Gulsvik 1979) var det imidlertid en signifikant økning av FVC og FEV₁ når sluttverdiene i 2007 ble sammenliknet med verdiene fra 2003 hos personer med resultater fra 2003, 2004 og 2007 (Tabell 7).

3.2.2 Gassutveksling

DL_{CO} resultater fra undersøkelser i 2004 (før skift) og 2007 var bare tilgjengelig for 13 personer på grunn av tekniske problemer. Forskjellene var minimale og ikke signifikante.

3.2.3 Nitrogenmonoksid i utåndingsluft

NO i utåndingsluft ble redusert fra (median) 20 ppb (range 3-36) høsten 2005 til 16 ppb (range 4-26) ved etterundersøkelsen i 2007, $p = 0,02$ Wilcoxon signed-rank test for parett sammenligning) blant de ansatte ved Norferm i eksponert periode sammenliknet med ett år etter opphør av eksponering.

3.2.4 Indusert sputum

Differensial celletelling

I 2005 var prosentandelen av nøytrofile granulocytter signifikant høyere hos arbeidere enn hos kontrollgruppen ($p < 0,002$). Tabell 8 viser forskjeller mellom celletellingene i ulike arbeidstakergrupper, men de er ikke signifikante.

Totale og differensiale celletellinger fra indusert sputum fra eksponert periode og ett år etter opphør av eksponering er vist i Tabell 9. Resultatene viser en nedgang i totalt antall celler samt prosentandel og antall nøytrofile celler ett år etter opphøret av eksponeringen.

I pilotstudien i 2004 samlet vi indusert sputum fra 7 av de høyeste eksponerte ansatte i en eksponert periode og 6 dager uten bioprotein eksponering. Det viste seg at det var ingen signifikant forskjell mellom prøver hos Norferm ansatte tatt ved eksponert arbeid sammenliknet med minst 6 dager uten eksponering; % nøytrofile granulocytter (92,0% vs. 87,0%; median, $p=0,6$), antall nøytrofile/mg sputum (4100 to 1300; median, $p=0,15$) eller totale antall celler/mg sputum (4700 to 1800; median, $p=0,2$).

Tabell 8: Celletellinger fra induisert sputum hos de ulike eksponeringsgruppene ved Norferm høsten 2005.

	Alle eksponerte (n=26)	Høyt eksponerte (n=9)	Medium eksponerte (n=17)	Lavt eksponerte (n=2)	Ueksponerte (n=28)
Totale celler/ mg sputum	1150 (580-3700)	2200 (190-7400)	1000 (650-3400)	860 , 160	950 (620-2470)
Nøytrofile granulocytter,					
%	78 (65-93)***	87 (73-95)***	72 (57-91)***	67 , 70	38 (23-49)
Absolutt antall / mg sputum	780 (310-3320)*	1728 (108-6802)	630 (400-2000)*	570 , 110	445 (234-720)
Makrofager					
%	17 (5-27)***	11 (4-21)***	21 (5-31)***	26 , 27	55(45-69)
Absolutt antall / mg sputum	190 (100-430)***	188 (68-436)*	188 (97-392)**	220 , 40	526 (322-1300)
Lymfocytter					
%	3,0 (1,3-7,0)*	2,0 (1,6-4,6)**	4,3 (0,8-11,1)	7 , 3	5,4 (4,0-6,5)
Absolutt antall / mg sputum	50 (11-155)	55 (9-141)	45 (10-226)	60 , 5	55 (44-69)
Eosinofile					
%	0,1 (0,03-0,18)	0,1 (0-0,6)	0,06 (0,01-0,16)	0 , 0	0,1 (0-0,1)
Absolutt antall / mg sputum	1,0 (0,0-5,1)	3,7 (0,8-10,6)*	0,8 (0,0-2,5)	0 , 0	0,5 (0,0-1,5)

Data vist ved median og persentiler (25 til 75 persentiler)
Statistisk sammenligning av de eksponerte gruppene og ueksponert gruppe med Mann-Whitney rank sum test *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

Tabell 9. Totale og differensiale celletall i induisert sputum hos ansatte på Norferm i eksponert periode (år 2005), og ett år etter eksponeringslutt (år 2007).

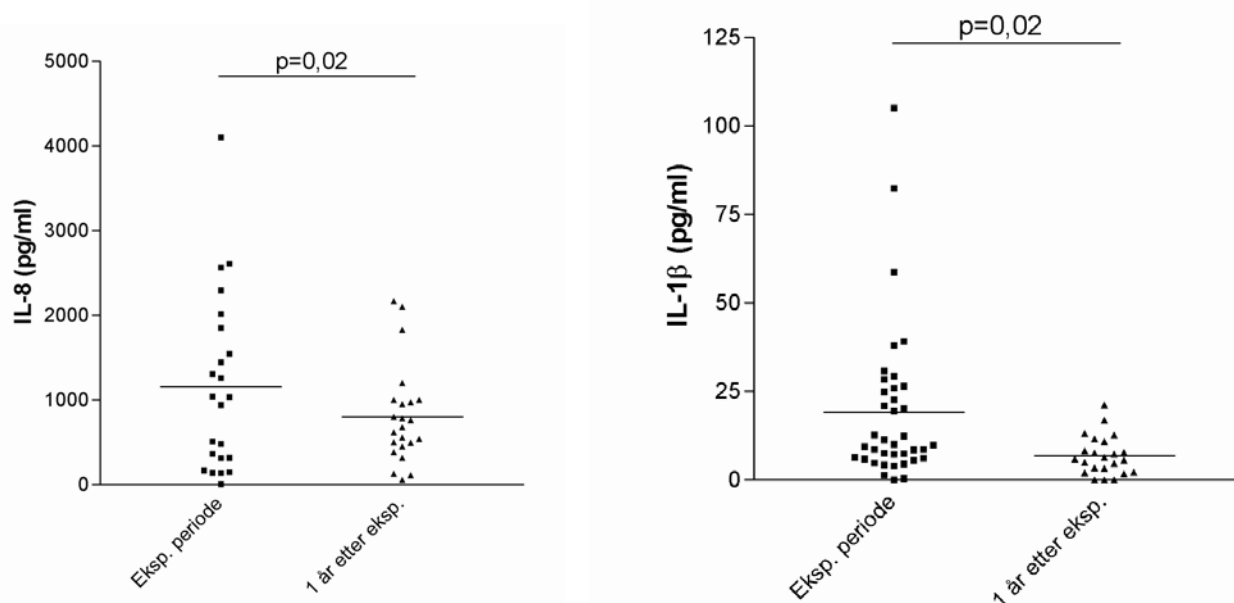
	Eksp. periode (n=20)	1.år etter eksp. (n=20)
Totale celler/ mg sputum	930 (310-2400)	420 (230-860)**
Nøytrofile granulocytter		
%	71 (64- 92)	43 (30- 66)***
Absolutt antall / mg sputum	600 (180-1300)	190 (100-310)***
Makrofager		
%	24 (5- 31)	51 (31- 62)***
Absolutt antall / mg sputum	140 (41- 386)	240 (97-470)
Lymfocytter		
%	3,2 (1- 6)	3,9 (2,4-5,8)
Absolutt antall / mg sputum	28 (5- 85)	23 (6-44)
Eosinofile		
%	0,1 (0,02-0,18)	0,08 (0,03-0,57)
Absolutt antall / mg sputum	1,0 (0,0- 5,1)	1,0 (0,0- 5,1)

Data vist ved median og persentiler (25 til 75 persentiler)
Statistisk sammenligning av eksponert periode og ueksponert periode med Wilcoxon signed-rank test for paret sammenligning, *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001. Parret t-test

Biomarkører i industert sputum supernatant

Analysene i industert sputum supernatant i eksponert periode viste at IL-1 β nivåene var forhøyet hos høyt eksponerte ($p=0,002$) og medium/lavt eksponerte ($p=0,03$) sammenlignet med de ueksponerte. IL-12 hadde detekterbare nivåer i 80% av prøvene og her var IL-12 økt hos de høyt eksponerte ($p=0,05$) sammenlignet med de ueksponerte. Det var også en positiv sammenheng mellom prosentandel nøytrofile og IL-1 β ($r=0,5$, $p=0,01$) og IL-12 ($r=0,5$, $p=0,006$) -nivåene i industert sputum, men vi fant ikke noen sammenheng mellom endotoksin-nivåene og prosentvis nøytrofile.

IL-1 β , IL-6 og IL-8 ble målt i industert sputum supernatant i eksponert periode og ett år etter opphør av eksponering, Figur 1. I en paret t-test var IL-1 β og IL-8 redusert fra hhv. 12,7 pg/ml til 6,7 pg/ml, $p=0,03$, og fra 1120 pg/ml til 800 pg/ml ($p=0,02$, median) ved sammenligning av eksponert periode med ett år etter eksponeringsopphør. Vi så ingen forskjeller i IL-6 nivåene ved eksponering og etter eksponering.



Figur 1: IL-1 β og IL-8 målt i industert sputum supernatant i eksponert periode og ett år etter opphør av eksponering.

3.2.5 Rhinometri

Avsvellingsfaktoren i 2007 var 0,64 (SE 0,06) og var lite endret i forhold til 2004 da avsvellingsfaktoren var 0,66 (SE 0,05).

3.2.6 Blodprøver

Blodverdier av 28 tidligere Norferm-ansatte er sammenfattet i Tabell 10. Leucocytter, ECP og D-dimer var signifikant lavere ved etterundersøkelsen i 2007 enn ved undersøkelsene i 2003, 2004 og 2005. IL-6, RANTES og PDGF-bb fra etterundersøkelsen i 2007 var signifikant lavere sammenlignet med undersøkelsene i både 2002 og 2005.

Tabell 10 . Betennelsesmarkører målt i 2002, 2003, 2005 og etter at bedriften ble nedlagt i 2007.

Markør	2002 (N=14)		2003 (N=26)		2004 (N=21)		2005 (N=24)		Etterundersøkelse 2007 (N=28)	
	Median	(Range)	Median	(Range)	Median	(Range)	Median	(Range)	Median	(Range)
Hvite blod celler, 10 ⁹ /L			6,85 ^a	(4,4-9,4)	6,90 ^a	(4,5-11,4)	7,05 ^a	(4,4 - 10)	5,70	(3,1 - 9,5)
CRP, pg/mL	1,4	(0,32- 12)					1,4	(0,3 - 8,0)	1,2	(0,22 - 19)
IL-6, pg/mL	9,6 ^{ab}	(3,2 - 27)					3,8	(0,6 - 11)	4,4	(0,6 - 12)
MIP-1α, pg/mL	26 ^b	(5 - 67)					5 ^a	(5,0 - 15)	20	(5 - 59)
MCP-1, pg/mL	33 ^b	(18 - 78)					15	(9,2 - 69)	23	(10 - 32)
RANTES, pg/mL	43,000 ^{ab}	(15,000-88,000)					7,100 ^a	(4,100-21,000)	15,000	(5,600-37,000)
ECP, ng/mL					14 ^a	(5 - 49)			5	(2 - 25)
PDGF-bb, pg/mL	11,800 ^{ab}	(5,200-21,000)					2,300 ^a	(390 - 5,600)	5,800	(1,200-12,000)
Fibrinogen, % ^c					73 ^a	(55 - 83)			76	(50 - 120)
D-dimer, % ^c					120 ^a	(40-320)			100	(67 - 570)

^a Signifikant forskjellig fra etterundersøkelsen, p<0.05 Wicoxons signed rank test, Bonferroni justert for multiple sammenligninger

^b Signifikant forskjellig fra 2005, p<0.05 Wicoxons signed rank test, Bonferroni justert for multiple sammenligninger

^c prosent av maksimum forventet verdi for normalbefolkningen. Dette målet ble brukt fordi ulike laboratoriet analyserte prøvene i 2004 og 2007 med forskjellige metoder

MIP-1 α i etterundersøkelsen var signifikant forskjellig fra 2005 , men ikke fra 2002. Derimot var endringen i MIP-1 α fra 2002 til 2005 signifikant . MCP-1 var kun signifikant forskjellig fra 2005. Endringer i CRP var ikke signifikante. Fibrinogen var signifikant høyere ved etterundersøkelsen i 2007 sammenlignet med 2004.

3.2.7 Symptomer

Luftveisplager ble kartlagt med spørsmål 8.1 til 8.24, se vedlegg 3. Besvarelsen går frem av Tabell 11 og sammenlignes med undersøkelsen fra 2005 da de samme spørsmål ble besvart. Resultatene fra 27 personer som deltok i begge undersøkelser er vist.

Tabell 11. Symptomer rapportert i 2005 og ved etterundersøkelsen i 2007 (inkluderer 27 personer som har deltatt i begge undersøkelser).

Symptom	Prevalens 2005		Prevalens 2007		Mc Nemar test, p-verdi
	N	%	N	%	
Tett i brystet/tung pust siste året	7	26	4	15	0,4
- med piping i brystet	3	11	2	7,4	1,0
- på flat mark/svakt oppoverbakke	6	22	2	7,4	0,12
- med jevnaldrende vanlig tempo på flat mark	5	19	1	3,7	0,12
- må stoppe pga tung pust i eget tempo	0	0	0	0	im
- anfall av tung pust	2	7,4	1	3,7	
- tung pust hver dag	2	7,4	0	0	im
> 1 gang/uke	2	7,4	4	15	
< 1 gang/uke	2	7,4	1	3,7	
Hoste noen gang (ikke forkjølelse)	6	22	2	7,4	0,3
- vanligvis om morgenen	4	15	1	3,7	0,2
- vanligvis om dagen eller natten	2	7,4	0	0	im
- hoster flest dager i minst 3 måneder	1	3,7	0	0	im
- anfall med hoste	2	7,4	0	0	im
- vanligvis oppspytt fra brystet ved hoste	5	19	2	7,4	0,5

im = ikke mulig

Ingen av endringene i luftveisplager fra 2005 til 2007 er signifikante, noe som til dels skyldes at antall personer er for få i studien. Det er likevel interessant at opptil 4 færre personer ikke lenger rapporterer tung pust-symptomer og opptil 6 færre personer ikke lenger har hostesyntomer ved etterundersøkelsen i 2007 da fabrikkene hadde vært nedlagt i 1 år. Til gjengjeld rapporterer en person tung pust og 2 personer hoste i 2007, som ikke hadde det i 2005. Det er imidlertid fortsatt 3-4 personer som plages med tung pust og kronisk hoste som bare delvis kan tilskrives astma som var utviklet før de begynte å jobbe ved Norferm.

Når de tidligere Norferm-ansatte inndeles etter jobbtype, observeres en nedgang i symptomrapportering, både hos de som har jobbet med nedstrømsoppgaver og de som jobbet med andre oppgaver, Tabell 12.

Tabell 12. Symptomer rapportert av ulikt eksponerte operatører i 2005 og ved etterundersøkelsen i 2007 (inkluderer 27 personer som har deltatt i begge undersøkelser).

Symptom	Arbeidsoppgave	Prevalens 2005			Prevalens 2007		
		N _{alle}	N _{symp}	%	N	%	
Tett i brystet/tung pust siste året	Nedstrøm	15	4	27	15	3	20
	Annen prosessarbeid	10	3	30	10	1	10
	Kontor	2	0	0	2	0	0
Hoste noen gang (ikke forkjølelse)	Nedstrøm	15	4	27	15	2	13
	Annen prosessarbeid	10	2	20	10	1	10
	Kontor	2	0	0	2	0	0

4. Diskusjon

4.1 Eksponering

Eksponering ved Norferm

Målinger utført når operatørene ikke brukte maske regnes som mest representativ for eksponeringen. Selv om åndedrettsvern vil beskytte mot høye eksponeringer, er beskyttelsen ikke fullstendig, ved at en viss lekkasje er sannsynlig (British Standard (1997)). Dessuten ble ikke maske brukt hele tiden.

Nedstrømsoperatørene var klart høyest eksponert, i gjennomsnitt fra 2.000 til 7.900 EU/m³. Oppstrømsoperatørene, vedlikeholds- og laboratoriepersonale og ingeniører var eksponert for gjennomsnittsnivåer fra 370 til 400 EU/m³. Eksponeringen for begge gruppene var betydelig høyere enn 200 EU/m³ som er foreslått som grenseverdi i Nederland (Douwes & Heederik 1997). Dessuten var kontorpersonale eksponert for målbare nivåer fra 100 til 190 EU/m³.

Eksponeringen for inhalerbart støv var imidlertid lav og lå langt under 1 mg/m³. Dette tyder på at en betydelig andel av støvet som ble frigjort til arbeidsatmosfæren var bioprotein.

Litt over halvparten av de tidligere ansatte ved Norferm hadde jobbet enten hele tiden eller for perioder med arbeidsoppgaver i "nedstrøm" delen av produksjonen med høyest eksponering.

Nåværende arbeid

Mange tidligere Norfermansatte jobber nå i oljerelatert virksomhet hvor de kan bli eksponert for oljedamp og kjemikalier, og jobber døgntkontinuerlig skift.

4.2 Lungefunksjon

Lungefunksjonen (FVC og FEV₁) økte signifikant i forhold til referanseverdien fra 2004 til 2007. For FEV₁ ble det funnet en økning i oppfølgingsperioden mens et alders-relatert fall var forventet. De fleste referanseverdier er basert på tverrsnittsundersøkelser og kan være villedende på grunn av kohort effekten. I følge undersøkelser som strekker seg over tid, longitudinelle undersøkelser som er metodologisk å foretrekke, ville man forvente et årlig fall på 20 ml/år (Barnes 2004).

Undersøkelser hos kornsilo og bomullsarbeidere som er eksponert for organisk støv med et betydelig innhold av endotoksiner viser også at FEV₁ faller mer ved økende eksponering og reduseres til fallet i kontrollgruppen når eksponeringen opphører (Pahwa et al 2003; Wang et al 2005). At fallet i FEV₁ observert ved etterundersøkelsen er redusert og faktisk viser en forbedring er i samsvar med disse undersøkelser siden eksponeringsnivået hos de tidligere Norferm ansatte har vært utsatt for var så høyt at FEV₁ kunne forventes å være påvirket (Sigsgaard et al 2004). Det er derfor sannsynlig at opphør av endotoksin-eksponeringen resulterte i en normalisering av lungefunksjonen.

4.3 Gassutvekslingen

Inhalasjon av endotoksin kan også indusere endringer i diffusjonskapasiteten (Thorn 2001). Slike forandringer ble ikke funnet ved undersøkelser av Norferm-ansatte i 2004 og ved etterundersøkelsen. Dette kan skyldes at luftbåret Bioprotein består av relativt store aggregater (ikke publiserte resultater) og bare en liten del kan forventes å nå alveolene (lungeblærene). De store partiklene kan også forklare hvorfor det ble funnet reaksjoner i øynene (Skogstad et al 2005).

4.4 Nitrogenmonoksid i utåndingsluft

NO i utåndingsluft var signifikant redusert hos de ansatte etter opphør av eksponeringen (16 ppb) sammenlignet med eksponert periode (20ppb). Forskjellen mellom eksponert periode og ett år etter eksponering er allikevel liten, og vil derfor ikke være egnet som detektor for inflammasjon for enkelt individer, men mer som en markør på gruppenivå for å se inflammatoriske prosesser. NO i utåndingsluft er et mål på luftveisinflammasjon, og da hovedsakelig eosinofil inflammasjon (Pavord and Shaw 2008). I den induserte sputumprøven fra de ansatte var de eosinofile nivåene lave både i eksponert periode og også etter opphør av eksponering. De ansatte hadde en gjennomsnittelig NO-verdi på hhv. 16 og 20 ppb, og til sammenligning så har en frisk voksen referansepopulasjon en gjennomsnittelig NO-verdi på 17 ppb og astmatikere har en gjennomsnittelig NO-verdi på 50 ppb (Kharitonov SA et al 2003). Det tyder på at de ansatte ved Norferm har NO-verdier i innenfor det normale variasjonsområde.

4.5 Indusert sputum

Resultatene i undersøkelsene fra 2005 viser at de undersøkte arbeiderne har en inflammasjon som domineres av nøytrofile granulocytter i luftveiene. Dette gjelder også de arbeidstakerne som er lavere eksponert, samt arbeidstakere som jobber utenfor produksjonsanlegget på kontoret. Studien i 2004 viste at denne nøytrofilien er opprettholdt selv etter en 6 dagers friperiode. Opphopning av nøytrofile celler i de sentrale luftveier er en forventet respons ved eksponering for ulike agens, bl.a. ved LPS eksponering. Det viser seg at invasjon av nøytrofile celler i lungevevet skjer bare noen timer etter eksponering (Venaille et al 1989; Toward og Broadley 2001). Det er sannsynlig at en vedvarende nøytrofili kan oppstå ved gjentatte eksponeringer. Dette er bl.a. studert i dyremodeller (George et al. 2001; Savov et al. 2003). Ved kraftige inflammasjoner, indusert ved eksponering for høye nivåer av LPS, er det vanlig at det totale antallet leukocytter også øker (Michel et al 1997). Om det oppstår varige helseeffekter er usikkert. 70-80 % nøytrofile granulocytter i sputum er typisk for pasienter med kronisk obstruktiv lungesykdom (KOLS). Nøytrofile cellers betydning i utvikling av KOLS er likevel omdiskutert. Det er derfor uklart om opphopning av nøytrofile celler medvirker til utviklingen av KOLS utover det å være en tidlig markør på inflammasjon og et typisk funn hos KOLS-pasienter.

Sputumprøvene tatt ett år etter eksponeringsstopp viste at både prosentvise og antall nøytrofile celler var redusert sammenlignet med 2005-prøven, og tilnærmet lik verdiene til en ueksponert gruppe. Dette tyder på at den nøytrofile inflammasjonen i luftveiene er betydelig reversert ett år etter eksponeringsopphevet.

Antall celler i referansegruppen kan være noe høyere enn for en optimal referansegruppe siden vi bare inkluderte personer i denne gruppen som gav over 1.2 millioner celler (se pkt 2.2.5). Derfor kan det ikke utelukkes at forskjellene mellom eksponerte og referansegruppen kan være mindre enn det den ville vært hvis den eksponerte gruppen hadde vært sammenliknet med en annen referansegruppe

Cytokinene, IL-1 β og IL-12 var økt i indusert sputum supernatant hos de ansatte under eksponert periode sammenlignet med en ueksponert kontrollgruppe. Vi viste også at IL-1 β og IL-8 ble redusert etter opphør av eksponering. IL-1 β er et proinflammatorisk cytokin som viser seg å være involvert både tidlig og også senere i inflammasjonsprosessen i luftveiene etter gjentakende inhalasjoner av LPS (Brass et al 2003). IL-8 er et kjemokine, dvs at den fører til akkumulering av nøytrofile celler ved betennelsessteder, og det er tidligere vist at den økes etter eksponering for LPS (Thorn 2001).

4.6 Rhinometri

Nesetettheten var lite endret ved etterundersøkelsen sammenlignet med undersøkelsen foretatt i 2004. Dette kan tolkes på forskjellige måter; (1) en kronisk betennelsestilstand i nesen som følge av eksponering for Bioprotein ved Norferm; (2) en reaksjon på eksponering i nåværende arbeid; og (3) at undersøkelsesgruppen tilfeldigvis har en større grad av nesetetthet enn normalt. Hvilken av forklaringene er mer sannsynlig kan ikke avgjøres på grunnlag av de foreliggende resultater.

4.7 Blodprøver

Resultatene viser et komplisert bilde. En lengre drøftelse av resultatene er derfor nødvendig.

Flere betennelsesmarkører viste en normalisering ved etterundersøkelsen (hvite blodceller, ECP, D-dimer). Dette viser at betennelsesreaksjonen på bioprotein eksponeringen har gått tilbake.

ECP er en markør for ikke-spesifikk betennelse som produseres av eosinofile celler. (Thorn 2001). Denne markøren er interessant fordi den også har vist å være forhøyet i andre yrkesgrupper som er eksponert for endotoksin (Rylander et al 1999).

Konsentrasjonen av leucocytter har gått signifikant ned og ligger innenfor normalområdet ($3,5 - 11 \cdot 10^9$ ml).

Endotoksin-eksponeringen kan føre til produksjon av IL-6 i slimhinnen som igjen kan stimulere til produksjon av CRP og fibrinogen i leveren (Sjøgren 1997). En økning av IL-6 over skiftet ble funnet tidligere (Skogstad et al 2005) og prøver fra 2002 viste også et høyere nivå enn i 2005 og 2007. Det var ingen vesentlig endring fra 2005 til 2007, hvilket kan tyde på at IL-6 øker først ved et relativt høyt eksponeringsnivå (høyere enn i 2005). Normalnivå av IL-6 refereres til 1 ng/L på dagtid som øker til 2,5-5 ng/L om natten (Vgontzas et al 1999). Et nivå på ca 4 ng/L på dagtid synes derfor forhøyet, men det er mulig at skiftarbeid, som de fleste ansatte nå har, kan ha forstyrret døgnvariasjonen.

CRP viste en liten nedgang fra 2005 til 2007, men nivået var fortsatt lett forhøyet i forhold til referanse-verdier fra USA (Pearson et al 2003). Sammenlignet med en kontrollgruppe som Rikshospitalet undersøkte med induisert sputum var CRP nivået imidlertid ganske lik, 1,4 (95% CI 0,7-2,0) pg/mL (N=21) (Sikkeland et al 2008). Derfor er det vanskelig å si om verdiene vi har målt er forhøyet.

Andre betennelsesmarkører (MIP-1 α , RANTES og PDGF-bb) var lavere i 2005 sammenlignet ved etterundersøkelsen og med prøver tatt i 2002. Samme mønster ble også observert for MCP-1, men økningen fra 2005 til 2007 var ikke signifikant.

Disse resultatene kan tyde på redusert fagocytose-aktivitet av de alveolære makrofagene. Tilsvarende funn er observert etter human provokasjon med inhalert endotoksin hos friske forsøkspersoner (Sandström et al 1992) og blant bønder (Palmberg et al 2002). Også *in vitro*-forsøk med humane monocytter viste redusert utvikling av IL-6, MIP-1 α og RANTES når de ble eksponert for endotoksin flere ganger (Kaufmann et al 2000). Denne "toleranse" er forbigående, men kan bl.a. føre til økt hyperreaktivitet i luftveiene (Douwes & Heederik 1997)

Dersom dette er forklaringen på mønsteret for betennelsesmarkørene MIP-1 α , RANTES, PDGF-bb og MCP-1 tyder det på at eksponeringen i 2002 var mer irregulær enn senere, noe som er i samsvar med hyppige og langvarige produksjonsstopp i de første årene.

Til slutt bør det tas hensyn til metodologiske forskjeller. Blodprøvene ble tatt av ulike personer og det kan ha vært forskjeller i blodprøvetakingsteknikk, tiden fra prøven ble tatt til sentrifugering, og tiden inntil prøvene ble frosset ned. Oppbevaring av prøvene var lik ved $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ og alle prøver ble analysert samtidig med samme kit av samme laboratorietekniker. Vi tror derfor ikke at mindre forskjeller ved blodprøvetakingen kan forklare de til dels betydelige forskjeller mellom konsentrasjonen av inflammasjonsmarkørene på de ulike tidspunktene. Dessuten ble fibrinogen og D-dimer analysert med ulike metoder, hvilket svekker forskjellene som ble funnet.

Fibrinogen var signifikant høyere ($p < 0.05$) ved etterundersøkelsen i 2007 sammenlignet med 2004. Forskjellen er imidlertid liten og bruk av ulike analysemetoder kan ha forårsaket dette funnet. Dessuten var D-dimer, et nedbrytingsprodukt av fibrin, signifikant lavere ved etterundersøkelsen, men også her er det usikkerhet på grunn av ulike analysemetoder.

4.8 Symptomer

Ved etterundersøkelsen viser symptomrapporteringen en nedgang for alle symptomer sammenlignet med 2005. Endringene er ikke statistisk signifikante fordi antall personer er for liten for slike sammenligninger. Det var for noen flere personer som rapporterte tilbakegang i symptomer enn går frem av Tabell 11 fordi 2 personer hadde utviklet symptomer etter 2005. Siden dette kan skyldes eksponering i nåværende arbeid synes nedgangen i symptomrapporteringen betydelig.

Reduksjonen av symptomer observeres både hos nedstrømsoperatører og ansatte med andre oppgaver. Dette kan tyde på at episoder med uventet høy eksponering har hatt større betydning enn gjennomsnittseksponeringen som var betydelig høyere hos nedstrømsoperatører.

4.9 Samlet vurdering

Den tidligere observerte betennelsesreaksjonen i lunge og blod demonstrert ved økt konsentrasjon av neutrofile i sputum og hvite blodceller i blod, gikk tilbake ett år etter at produksjonen av bioprotein ble nedlagt. Lungefunksjonen forbedret seg signifikant, og færre rapporterte luftveissymptomer selv om dette ikke var signifikant. NO i utåndingsluft var også signifikant lavere. Nivået av noen betennelses markører, IL-1 β og IL-8 i sputum og ECP og D-dimer i blod, var også signifikant lavere. Et overraskende funn var at flere markører i blod, MIP-1 α , RANTES og PDGF-bb, var økt signifikant ved etterundersøkelsen noe som kan tyde på utvikling av toleranse mot endotoksin i 2005. Vi tolker våre samlede resultater da til at det har skjedd en normalisering i 2007.

5. Konklusjoner

Resultatene fra etterundersøkelsen er oppsummert i følgende tabell:

Parameter	Endring i 2007 sammenlignet med			Status i 2007 i forhold til normalt
	2002	2003-4	2005	
Dynamisk lungefunksjon				
FEV ₁		forbedret		OK
FVC		forbedret		OK
Gasdiffusjon, DL _{CO}		uendret		OK
Nitrogen monoksid i utåndingsluft			↓	OK
Indusert sputum neutrofileceller			↓	OK
Rhinometri		uendret		noe tettere enn normalområde, men mange er eksponert i nåværende job
Blod leucocyter		↓	↓	OK
ECP		↓		OK
CRP	uendret		uendret	OK
Luftveissymptomer			uendret	Uklart pga lite materiale og ingen referanse

Samlet sett viser resultatene fra etterundersøkelsen at tidligere funn med nedsatt lungefunksjon og inflammasjon i blod og i luftveiene har forbedret seg.

Det har også blitt målt ulike biomarkører i blod og sputum. Disse markørene kan ikke tolkes som uttrykk for helseeffekter, men er blitt undersøkt for å studere betennelsesaktivitet i forskningsøyemed.

6. Anbefalinger

Det er ikke behov for videre oppfølging av helsestatus hos de tidligere ansatte ved Norferm på gruppebasis.

7. Litteratur

- American Thoracic Society (1987): Single breath carbon monoxide diffusing capacity (transfer factor). *Am Rev Respir Dis* 136:1299-307.
- Anon (2000). Acoustic rhinometry – standardisation and use. *Rhinology* 2000 (Suppl 16).
- Barnes PJ (2004). Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 56:515-548.
- Brass DM, Savov JD, Gavett SH, Haykal-Coates N, Schwartz DA (2003). Subchronic endotoxin inhalation causes persistent airway disease. *AJP - Lung Cellular Molecular Physiol* 285:L755-L761.
- British Standard (1997). Guide to implementing an effective respiratory protective device programme. BS 4275:1997. BSI:UK.
- Clauss A (1957): Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogen. *Acta Haematol* 17:237-246.
- George CL, Jin H, Wohlford-Lenane CL, O'Neill ME, Phipps JC, O'Shaughnessy P, Kline JN, Thorne PS, Schwartz DA. 2001. Endotoxin responsiveness and subchronic grain dust-induced airway disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 280:L203-L213.
- Gulsvik A (1979): *Obstructive lung disease in an urban population*. Thesis, University of Oslo, Norway. Reprografisk Industri A/S
- Gulsvik A, Bakke P, Humerfelt S, Omenaas E, Tosteson T, Weiss ST, Speizer FE (1992): Single breath transfer factor for carbon monoxide in an asymptomatic population of never smokers. *Thorax* 47:167-173
- Douwes J, Heederik D (1997). Epidemiologic investigations of endotoxins. *Int J Occup Environ Health* 3 (Suppl):26-31.
- Kharitonov SA, Gonio F, Kelly C, Meah S, Barnes PJ (2003). Reproducibility of exhaled nitric oxide measurements in healthy and asthmatic adults and children. *Eur Respir J* 21(3):433-8.
- Kaufmann A, Gemsa D, Sprenger H (2000). Differential desensitization of lipopolysaccharide-inducible chemokine gene expression in human monocytes and macrophages. *Eur J Immunol* 30:1562-1567.
- Lewis SM, England JM, Kubota F (1989): Coincidence correction in red blood cell counting. *Phys Med Biol* 34:1239-1246.
- Mamikoglu B, Houser S, Corey J (2002): An interpretation method for objective assessment of nasal congestion with Acoustic Rhinometry. *Laryngoscope*;112:926-929.
- Michel O, Nagy AM, Schroeven M, Duchateau J, Neve J, Fondu P, Sergysels R (1997). Dose-response relationship to inhaled endotoxin in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 156 (4 Pt 1):1157-1164.
- Miller MR et al (2005): Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 26;319-338.
- Pahwa P, Senthilselvan A, McDuffie HH, Dosman JA (2003). Longitudinal decline in lung function measurements among Saskatchewan grain workers. *Can Respir J* 10:135-141.
- Palmberg L, Larsson BM, Malmberg P, Larsson K (2002). Airway responses of healthy farmers and nonfarmers to exposure in a swine confinement building. *Scand J Work Environ Health* 28:256-63.
- Pavord ID, Shaw D (2008). The use of exhaled nitric oxide in the management of asthma. *J Asthma*, 45:523-531.
- Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson, JL Cannon III RO, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith Jr SC, Taubert K, Tracy RP, Vinicor F, (2003): Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. Application to Clinical and Public Health Practice. A Statement for Healthcare Professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107:499-511.)

- Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg JA, Hargreave FE, Dolovich J. 1992. Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax* 47:25-29.
- Rylander R, Thorn J, Attefors R (1999). Airways inflammation among workers in a paper industry. *Eur Respir J*; 13:1151-1157.
- Sandström T, Bjermer L, Rylander R (1992). Lipopolysaccharide (LPS) inhalation in healthy subjects increases neutrophils, lymphocytes and fibronectin levels in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir J* 5:992-996.
- Savov JD, Brass DM, Berman KG, McElvania E, Schwartz DA. 2003. Fibrinolysis in LPS-induced chronic airway disease. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 285:L940-L948.
- Sigsgaard T, Jensen LD, Abell A, Wurtz H, Thomsen G (2004). Endotoxins isolated from the air of a Danish paper mill and the relation of change in lung function: a 11-year follow-up. *Am J Ind Med* 46:327-332
- Sikkeland LIB, Eduard W, Stangeland AM, Thorgersen EB, Haug T, Aukrust P, Halvorsen B, Mollnes TE and Kongerud J (2008): Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. Accepted *Inhalation Toxicology*.
- Sjögren B. Occupational exposure to dust: inflammation and ischaemic heart disease (1997). *Occup Environ Med*;54:466-469
- Skogstad M, Eduard W, Holme J, Qvenild T, Einarsdottir E (2005). Short term changes in lung function, leukocytosis in blood, and lachrymal fluid among bacterial single cell protein workers after an episode with high exposure to endotoxins. *Occup Environ Med* 62(8):576-580.
- Thorn J (2001). The inflammatory response in humans after inhalation of bacterial endotoxin: a review. *Inflamm Res* 50:254-261.
- Toward TJ, Broadley KJ (2001). Chronic lipopolysaccharide exposure on airway function, cell infiltration, and nitric oxide generation in conscious guinea pigs: effect of rolipram and dexamethasone. *J Pharmacol Exp Ther* 298:298-306.
- Venaille T, Snella MC, Holt PG, Rylander R (1989). Cell recruitment into lung wall and airways of conventional and pathogen-free guinea pigs after inhalation of endotoxin. *Am Rev Respir Dis* 139:1356-1360.
- Vgontzas AN, Papanicolaou DA, Bixler EO, et al (1999). Circadian interleukin-6 secretion and quality and depth of sleep. *J Clin Endocrinol Metab* 84:2603-7.
- Wang XR, Zhang HX, Sun BX et al (2005). A 20-year follow-up study on chronic respiratory effects of exposure to cotton dust. *Eur Respir J* 26:881-886
- Willemse BWM, Postma DS, Timens W, Hacken ten NHT (2004). The impact of smoking cessation on respiratory symptoms, lung function, airway hyperresponsiveness and inflammation. *Eur Respir J* 23:464-476