

Mikrobiell kontaminierte Kühlschmierstoffe – Update zu Auslösern und Diagnostik der Maschinenarbeiterlunge

TEXT: S. Kespohl, K. Druckenmüller, A. Kolk, I. Warfolomeow, B. Rose, M. Raulf

ZUSAMMENFASSUNG Proteine aus mikrobiell kontaminierten Kühlschmierstoffen (KSS) können eine Maschinenarbeiterlunge verursachen. Dabei handelt es sich um eine exogen allergische Alveolitis (EAA), eine immunologisch vermittelte Erkrankung der unteren Atemwege. Für die Diagnose der akuten EAA müssen fünf Kriterien erfüllt sein. Dazu gehört die Bestimmung von spezifischen Antikörpern der Immunglobulin-Klasse G (IgG). Da kommerzielle bakterielle Antigene für die IgG-Testung bei Verdacht auf Maschinenarbeiterlunge fehlen, wurde im Rahmen eines Kooperationsprojekts ein standardisiertes IgG-Testpanel für eine Verbesserung der Diagnostik entwickelt. Erhöhte IgG-Konzentrationen in Seren von Beschäftigten mit einem Verdacht auf Maschinenarbeiterlunge zeigten sich gegen die Bakterien *Pseudomonas alcaliphila*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas spec.* und *Mycobacterium immunogenum*. Auch Schimmelpilze aus den Gattungen *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Aspergillus* und *Penicillium* wurden als relevante Antigene identifiziert. Mit standardisierten Antigenextrakten, die aus den Mikroorganismen hergestellt wurden, ist eine gezielte IgG-Antigenuntersuchung möglich. Bei negativen serologischen Befunden können individuelle KSS-Proben zusätzlich analysiert werden. Die spezifische IgG-Bestimmung gegen die mikrobiellen Antigene dient als zentrales Bindeglied zwischen Exposition und Erkrankung und kann dazu beitragen, die Maschinenarbeiterlunge frühzeitig zu erkennen und wirksam zu behandeln.

Microbial Contamination in Metalworking Fluids – An Update on Triggers and Diagnostics of Machine Operator's Lung

ABSTRACT Proteins from microbially contaminated metalworking fluids (MWFs) can induce an occupational disease known as „machine operator's lung.“ This disease is a special form of hypersensitivity pneumonitis (HP), an immunologically mediated disease of the lower respiratory tract. The diagnosis of acute HP requires the fulfilment of five criteria, one of which is the detection of specific antibodies of the immunoglobulin G (IgG) class. Due to the lack of commercially available bacterial antigens for IgG testing in suspected cases of machine operator's lung, a standardized IgG test panel was developed as part of a collaborative project to improve diagnostic accuracy. Elevated IgG concentrations were observed in the sera of workers with suspected machine operator's lung, especially against the bacteria *Pseudomonas alcaliphila*, *Pseudomonas oleovorans*, *Pseudomonas spec.*, and *Mycobacterium immunogenum*. In addition, molds from the genera *Aureobasidium*, *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* were also identified as relevant antigen sources. The use of standardized microbial antigen extracts offers the possibility of targeted IgG antigen testing. In cases of negative serological findings, individual MWF samples can further be analyzed. The specific IgG determination against microbial antigens serves as a crucial link between exposure and disease, facilitating the early detection and effective treatment of machine operator's lung.

1 Einleitung: Maschinenarbeiterlunge – eine Form der exogen allergischen Alveolitis

Der Einsatz von Kühlschmierstoffen (KSS) ist für die Be- und Verarbeitung von Metallen unverzichtbar, wobei man wassergemischte, wassermischbare und nichtwassermischbare KSS unterscheidet. Wassergemischte KSS bieten aufgrund ihrer Zusammensetzung aus hohem Wasseranteil, organischen Komponenten und Additiven, die als Nährstoffe dienen, gute Wachstumsbedingungen für Mikroorganismen. Das Einsetzen einer mikrobiellen Keimbildung findet daher fast immer statt und ist gut dokumentiert [1]. Die jeweils vorhandene Mischflora umfasst typischerweise Bakterien und Schimmelpilze, wobei sich insbesondere Pseudomonaden als häufig nachgewiesene Bakterien etabliert haben. Dabei zeigt sich, dass bestimmte mikrobiologische Profile – sogenannte Leitorganismen-Gemeinschaften – Rückschlüsse auf Alterung, Biofilmbildung und hygienischen Zustand der Emulsion zulassen können [1; 2]. Kritisch wird die Situation dann, wenn die mikrobielle Konzentration im KSS ansteigt, etwa infolge längerer

Standzeiten, fehlender Sauerstoffzufuhr (Belüftung), Biofilmbildung [1] oder unzureichender Systempflege. In solchen Fällen kann die technische Funktion des KSS, beispielsweise durch Änderung des pH-Wertes oder Emulsionsinstabilität, deutlich beeinträchtigt werden. Dadurch kann sich auch das potenzielle gesundheitliche Risiko für Beschäftigte durch freigesetzte Bioaerosole ändern [1; 3]. Zur Kontrolle des mikrobiellen Wachstums werden daher Biozide eingesetzt, die eine übermäßige Vermehrung der Mikroorganismen verhindern und die Gebrauchstauglichkeit der Emulsion erhalten sollen. KSS sind allerdings auch trotz Zugabe von Bioziden in 60 bis 82 % der Fälle mikrobiell kontaminiert [3]. Durch die Bioaerosolbildung bei der Metallbe- und -verarbeitung können beispielsweise mikrobielle Proteinbestandteile in die Luft im Arbeitsbereich gelangen und bei exponierten Beschäftigten Atemwegsbeschwerden verursachen.

Die durch diese Exposition induzierte entzündliche Erkrankung der Lunge wird als Maschinenarbeiterlunge bezeichnet. Dabei handelt es sich um eine exogen allergische Alveolitis (EAA; auch hypersensitivity pneumonitis, HP). In der deutschen Liste

Tabelle 1 Diagnosekriterien der exogen allergischen Alveolitis entsprechend der aktuellen AWMF-S2k-Leitlinie (Nr. 020/036) 2024.

Diagnosekriterien für akute beziehungsweise nicht-fibrotische EAA	Exposition gegen eine potenzielle Antigenquelle
	Rezidivierende Symptomepisoden, beginnend vier bis acht Stunden nach der Exposition
	Erhöhte spezifische IgG-Antikörper-Titer gegen ein potenzielles Antigen
	Nachweis von inspiratorischem Knisterrasseln bei der klinischen Untersuchung
	HR-CT-Befund vereinbar mit einer inflammatorischen EAA
Falls nicht alle diese fünf Kriterien vorliegen, die mittels nicht invasiver Verfahren zu erfüllen sind, kann eines der nachfolgenden invasiven Kriterien verwendet werden:	
Ergänzende Kriterien	Nachweis einer Lymphozytose (>20 %) in der bronchoalveolären Lavage (BAL)
	Histopathologischer Befund einer Lungengewebsprobe, vereinbar mit einer akuten beziehungsweise nicht-fibrotischen EAA
	Positiver inhalativer Provokationstest/Re-Expositionstest beziehungsweise Karenztest
Sind insgesamt fünf Kriterien erfüllt, liegt eine EAA vor.	

der Berufskrankheiten (BK) wird die EAA, und damit auch die Maschinenarbeiterlunge, unter der BK-Nr. 4201 geführt. In mehreren Veröffentlichungen wurden Ausbrüche dieser Form der EAA bei Beschäftigten in metallverarbeitenden Betrieben untersucht. Dabei war jeweils eine Assoziation zwischen den Symptomen und dem Nachweis von mikrobiellen Verkeimungen der KSS vorhanden [4 bis 7]. Häufig wurden EAA-Ausbrüche in großen Automobilwerken, vor allem in den USA [6] und in geringerem Umfang in Großbritannien und Frankreich [8], im Zusammenhang mit kontaminierten KSS-Sümpfen dokumentiert. Als Krankheitsauslöser wurde dort *Mycobacterium immunogenum* (*M. immunogenum*) identifiziert. Weitere Studien in neunzehn metallverarbeitenden Betrieben (darunter sechzehn Betriebe ohne EAA-Ausbruch und drei Betriebe mit EAA-Fällen) zeigten das Vorhandensein von zwei unterschiedlichen Mikroorganismengruppen in KSS-Proben [2]. In den Automobilindustriebetrieben, in denen es zu den EAA-Erkrankungen kam, verzeichnete man folgende Mikroorganismen in den KSS-Proben: Gram-positive Bakterien, Pilze und *M. immunogenum*. Im Gegensatz dazu fanden sich in den KSS-Proben aus den Nicht-Automobilindustriebetrieben, in denen es auch nicht zu EAA-Erkrankungen kam, häufig Gram-negative Bakterien, insbesondere Pseudomonaden, aber kein *M. immunogenum* [2; 3; 9]. Grundsätzlich muss jedoch beachtet werden, dass direkte Vergleiche von Tätigkeitsbereichen und -bedingungen sowohl innereuropäisch als auch außereuropäisch nur eingeschränkt möglich sind.

Epidemiologisch wurde die Exposition gegen mikrobiell kontaminierte KSS als der häufigste Auslöser der beruflich bedingten EAA in Großbritannien [5] und Polen [10] während der 1990er- bis in die 2020er-Jahre beschrieben. In Deutschland wurden im Vergleichszeitraum von 1999 bis 2022 insgesamt 2 693 Verdachtsanzeigen auf eine BK-Nr. 4201 bei den gewerblichen Berufsgenossenschaften gestellt (ohne Daten der Sozialversicherung für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau, SVLFG). Das entspricht durchschnittlich 112 gemeldeten Verdachtsfällen pro Jahr [11]. Davon wurden 19 % der Verdachtsfälle von der Berufsgenossenschaft Holz und Metall (BGHM) gestellt. Daten zur

mikrobiologischen Belastung an verschiedenen Metallarbeitsplätzen der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV) [1] zeigten in 1 500 Luft- beziehungsweise Materialproben, die zwischen 2004 und 2014 genommen wurden, dass Gram-negative *Pseudomonas*-Arten (insbesondere *Pseudomonas* (*Ps.*) *oleovorans* und *Ps. alcaligenes*) am häufigsten in wassergemischten KSS vorkamen, während Gram-positive Bakterien häufiger in Luftproben zu finden waren. Der Nachweis von *M. immunogenum* wurde allerdings nur an Arbeitsplätzen mit Verdachtsfällen von KSS-induzierter EAA durchgeführt wurde, daher kann keine allgemeine Aussage über die Häufigkeit von *M. immunogenum* in Kühlschmierstoffen gemacht werden.

Häufig treten beruflich bedingte Atemwegserkrankungen bei der Metallverarbeitung als „Kombinations-Verdachtsanzeigen“ auf, und zwar im Zusammenhang mit den BK-Ziffern 4301, 4302 und 4201. Alle drei Berufskrankheiten können durch eine Exposition gegen wassergemischten KSS verursacht werden und entzündliche Reaktionen der Atemwege hervorrufen. Die Auslöser für ein Berufsasthma (obstruktive Atemwegserkrankungen (inkl. Rhinopathie) durch allergisierende Stoffe, BK-Nr. 4301) und eine Maschinenarbeiterlunge (exogen allergische Alveolitis, BK-Nr. 4201) sind hochmolekulare Proteine aus Mikroorganismen, die Atemwegserkrankungen durch immunologische Pathomechanismen auslösen. Allerdings handelt es sich beim Asthma um eine chronisch-entzündliche Erkrankung der Atemwege, die mit einer Überempfindlichkeit der Bronchien einhergeht, während eine EAA eine allergische Reaktion des Lungengewebes mit Beteiligung der Lungenbläschen (Alveolen) ist. Im Gegensatz dazu werden obstruktive Atemwegserkrankungen durch chemisch-irritativ oder toxisch wirkende Stoffe (BK-Nr. 4302) in der Regel durch niedermolekulare Komponenten (Chemikalien) ausgelöst, die andere Entzündungsmechanismen induzieren. Für die Diagnostik der obstruktiv-allergischen Atemwegserkrankungen (BK-Nr. 4301) sowie der EAA (BK-Nr. 4201) können serologische Antikörpermessungen als ein Nachweiskriterium einer IgE-vermittelten Allergen-Sensibilisierung (BK-Nr. 4301) oder einer IgG-vermittelten Antigen-Sensibilisie-

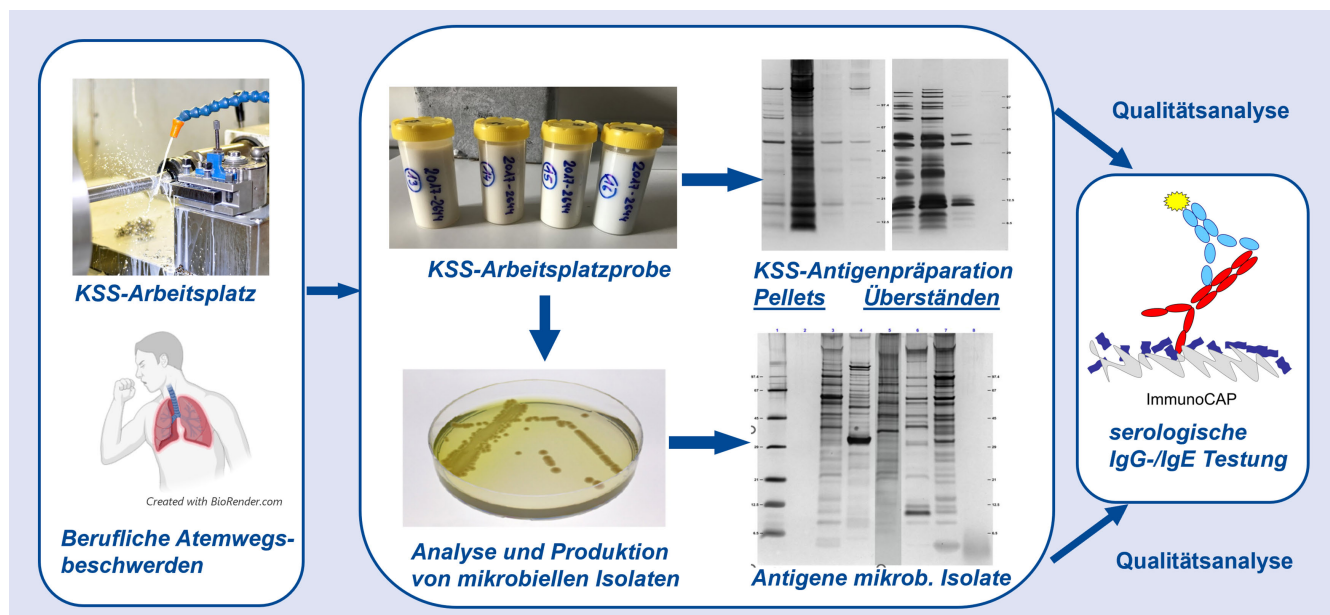


Bild 1 Schematische Darstellung der Entwicklung standardisierter Testtools für die serologische IgG-/IgE-Diagnostik bei Verdacht auf Atemwegssymptome durch wassergemischte KSS am Arbeitsplatz.. Foto: DGUV Bilddatenbank und Kespohl/IPA

rung (BK-Nr. 4201) eingesetzt werden. Für die Ermittlung bei Verdacht durch chemisch-irritativ oder toxisch wirkende Stoffe verursachte obstruktive Atemwegserkrankungen (BK-Nr. 4302) kann die Messung der Inhalationsnoxe am Arbeitsplatz hilfreich sein.

2 Diagnose der EAA

Insbesondere die medizinische Abklärung einer EAA ist komplex und erfordert die Erfüllung mehrerer Diagnosekriterien (Tabelle 1). In der aktualisierten S2k-Leitlinie zur Diagnostik und Therapie der EAA [12] sind die Diagnosekriterien an die verschiedenen klinischen Verläufe der Erkrankung angepasst. Dabei wird ausdrücklich zwischen dem akuten und chronischen Krankheitsverlauf unterschieden, sowie bei der chronischen EAA das fibrotische und das nicht-fibrotische Stadium nochmal differenziert. Der Nachweis einer typischen Antigenexposition und einer erhöhten IgG-Antikörper-Konzentration gegen potenzielle Antigene im Serum der exponierten Person wird für alle EAA-Klassifizierungen empfohlen. Das unterstreicht, wie wichtig die Identifizierung der auslösenden Noxe und die serologische antigenspezifische IgG-Messung, als Verbindungsglied zwischen Exposition und Erkrankung, ist.

Allerdings waren bisher keine Antigene aus Bakterien und nur wenige Antigene aus Schimmelpilzen oder Hefen für serologische IgG-Testungen bei Verdacht auf eine Maschinenarbeiterlunge kommerziell erhältlich. Um die Diagnostik einer EAA im Zusammenhang mit einer mikrobiologischen Verunreinigung von KSS dennoch zu ermöglichen beziehungsweise zu verbessern, wurde ein Kooperationsprojekt zwischen der BGHM, dem Institut für Arbeitsschutz der DGUV (IFA) und dem Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der DGUV, Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA) eingerichtet. Ziel dieses Projektes war die Erarbeitung eines Antigen-Testpanels für die serologische IgG-Diagnostik bei Verdacht auf das Vorliegen einer durch Exposition gegenüber Bioaerosolen entstandenen Maschinenarbeiterlunge. Das Projekt umfasste zum einen die Herstellung standardisierter und quali-

tätsgeprüfter IgG-Antigen Testverfahren für die Durchführung der Diagnostik an Serumproben. Zur Beurteilung der serologischen IgG-Ergebnisse wurden weiterhin jeweils spezifische Referenzwerte für die antigenspezifischen IgG-Konzentrationen aus einer Gruppe gesunder Blutspender, die nicht mit KSS arbeiten, etabliert [18].

3 Herstellung und Validierung spezifischer IgG-Diagnostiktools für die Maschinenarbeiterlunge

Die Standardisierung mikrobieller Proteinextrakte ist schwierig, da es zum einen viele Faktoren gibt, die einen Einfluss auf das Wachstum und die Proteinexpression von Mikroorganismen haben können [13; 14]. Zum anderen können sich verschiedene Extraktionsmethoden bei der Herstellung der Antigenextrakte auf den Antigengehalt im Extrakt und die Qualität auswirken [13; 14]. Daher wurden KSS-Arbeitsplatzproben aus BK-Verdachtsfällen der Maschinenarbeiterlunge (BK-Nr. 4201) hinsichtlich IgG-bindender Antigene untersucht. Weiterhin wurden Bakterien und Schimmelpilze in den KSS-Proben jeweils quantifiziert und identifiziert. Die Quantität und Qualität der Proteinextrakte aus gereinigten Bakterien- oder Pilz-Isolaten wurde geprüft, um ein zuverlässiges diagnostisches Antigenwerkzeug zu entwickeln. Aus einem Indexfall mit Verdacht auf eine BK-Nr. 4201 durch wassergemischte Kühlschmierstoffe konnten mittels zweistufiger Extraktionsverfahren IgG-bindende Antigene in KSS-Pellets und KSS-Überständen detektiert werden [15].

Bei der mikrobiologischen- und molekularbiologischen Analyse der Mikroflora des KSS wurden drei *Pseudomonas*-Arten (*Ps. oleovorans*, *Ps. alcaliphila* und *Ps. spec.*) sowie *Paenibacillus* (*Pae. glucanolyticus*) als vorherrschende Bakterienarten im untersuchten KSS identifiziert. Aufgrund des in der Literatur beschriebenen Zusammenhangs zwischen dem Auftreten von *M. immunogenum* und der Maschinenarbeiterlunge wurde dieses Gram-positive Bakterium ebenfalls als Isolat aus einer KSS-Arbeitsplatzprobe

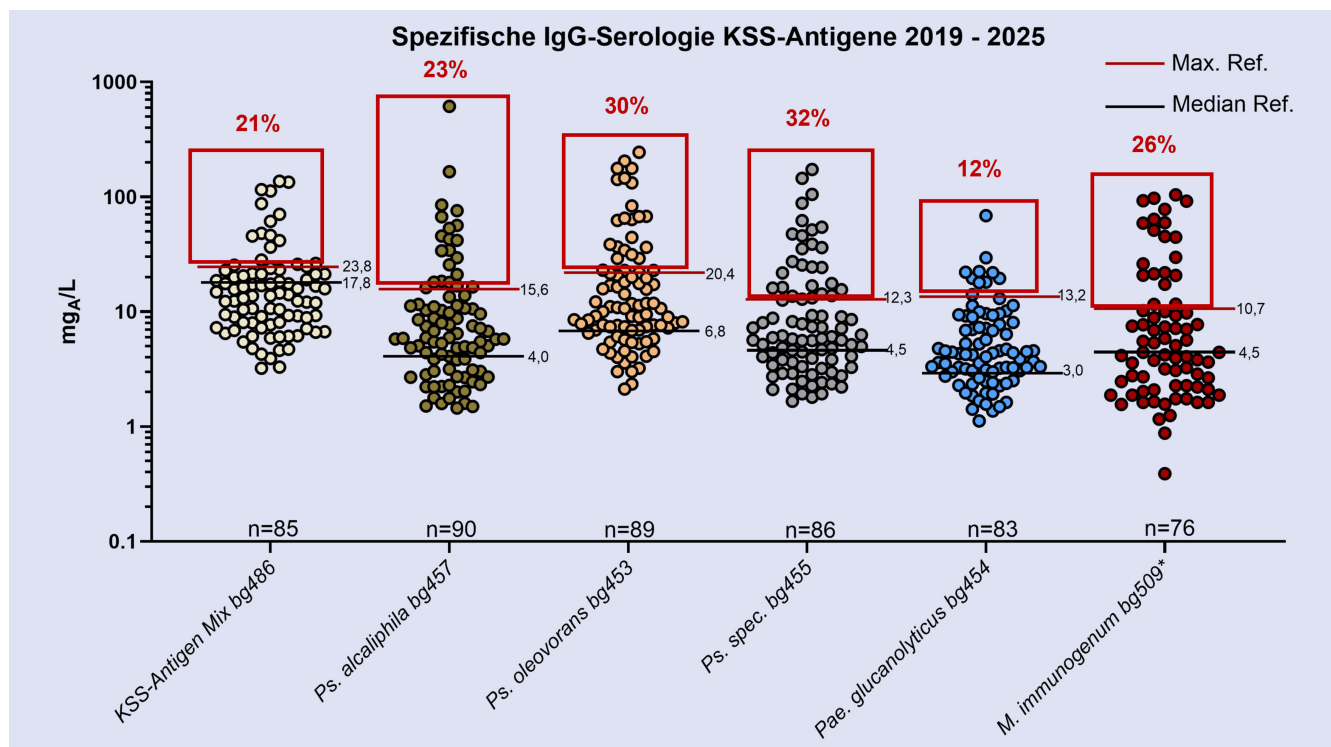


Bild 2 Spezifische IgG-Konzentration (mgA/L) gegen bakterielle Antigene der Maschinenarbeiterlunge in eingesandten Seren von Exponierten im Kontext einer gutachterlichen Ermittlung der BK-Nr. 4201 in den Jahren 2019 bis 2025; Median- und Maximalwerte der jeweils erstellten Referenzwerte (basierend auf der Untersuchung der Seren von 20 gesunden Probanden) sind als Striche für die einzelnen Antigene eingezeichnet. *Testung seit 2022 möglich.

Grafik: Autor*innen

kultiviert und für die serologische Diagnostik eingesetzt [16]. Der Aufbau eines quantitativen Testverfahrens für eine serologische IgG-Testung gegen diese bakteriellen Antigene erfolgte im ImmunoCAP-250-System (Fa. ThermoFisher Scientific, Phadia AB). Hier besteht die Möglichkeit, auch nicht kommerzielle Antigene über Biotin-Streptavidin ImmunoCAPs zu koppeln und serologisch zu testen [17]. Die verschiedenen Schritte des Projektes sind in **Bild 1** zusammengefasst und illustriert.

Für eine Leitlinien-konforme Diagnostik der EAA (entsprechend AWMF-Register Nr. 020/036) ist eine erhöhte spezifische IgG-Konzentration im Patientenserum als eins von fünf zu erfüllenden Diagnosekriterien beschrieben (Tabelle 1). Im Gegensatz zu spezifischem IgE variieren die serologischen IgG-Konzentrationen bei gesunden Personen stark in Abhängigkeit vom Antigen. Es gibt daher auch keinen einheitlichen Cut-off-Wert, ab dem ein Wert als positiv zu bewerten ist. Zur Beurteilung von Ergebnissen aus der spezifischen IgG-Bestimmung werden deshalb zwingend korrespondierende Referenzwerte benötigt, die antigenspezifisch sind und mit demselben Testverfahren erstellt wurden. Die Referenzwerte für die Antigene der Maschinenarbeiterlunge wurden anhand von zwanzig gesunden Probanden, die nicht mit mikrobiell verunreinigten KSS arbeiteten, aus der sogenannten „Spezifischen IgG Cut-off-Studie“ [18] erstellt. Spezifische IgG-Werte aus Serum-Einsendungen, die im Rahmen von gutachterlichen Fragestellungen einer BK-Nr. 4201 (Maschinenarbeiterlunge) erhoben wurden, sowie die jeweiligen Referenzwerte (Median und Maximum) sind in **Bild 2** dargestellt. Die eingesendeten und untersuchten Serumproben stammen aus den Jahren 2019 bis 2025. Ein Test für *M. immunogenum* Antigene stand jedoch erst 2022 zur Verfügung und wurde ab diesem Zeitpunkt durchgeführt. Die

verschiedenen KSS-spezifischen IgG-Konzentrationen reichten vom niedrigsten Wert (Minimum) 0,39 mgA/L auf Antigene gegen *M. immunogenum* bis zum höchsten Wert (Maximum) von 615,34 mgA/L auf Antigene aus *Ps. alcaliphila*. Insgesamt waren die spezifischen IgG-Konzentrationen am häufigsten erhöht (Bezugsgröße: größer als Maximalwert des Referenzkollektivs gegen das spezifische Antigen) gegen Antigene aus *Ps. spec.* (32 %), *Ps. oleovorans* (30 %), *M. immunogenum* (26 %), *Ps. alcaliphila* (23 %) und KSS-Antigen Mix (21 %). Für Antigene aus *Pae. glucanolyticus* wurden nur in 12 % der Testungen höhere IgG-Konzentrationen im Vergleich zum Maximum des Referenzkollektivs gemessen. Im Gegensatz zu den drei Pseudomonaden und *M. immunogenum* ist *Pae. glucanolyticus* kein typischerweise im KSS vorkommendes Bakterium, sondern kommt überwiegend im Boden vor und wurde vermutlich durch eine Kontamination in den KSS eingebracht. Die prominentesten Antigene der Maschinenarbeiterlunge mit den häufigsten und höchsten spezifischen IgG-Konzentrationen sind in dem oben beschriebenen Serumkollektiv *Ps. alcaliphila*, *Ps. oleovorans*, *Ps. spec.* und *M. immunogenum*.

4 Langzeitverfügbarkeit des IgG-Testpanels und mikrobiologische Differenzierung bei EAA-Verdacht

Zur Sicherung der Langzeitverfügbarkeit des antigenspezifischen IgG-Testpanels der Maschinenarbeiterlunge wurden alle relevanten Bakterienisolate konserviert. So kann bei Bedarf jederzeit frisches Antigenmaterial durch Re-Kultivierung erzeugt werden. Wenn im ersten Untersuchungsschritt im Serum keine spezifische IgG-Sensibilisierung gegen die vorliegenden Antigene

nachgewiesen wird, erfolgt zur weiteren Abklärung eine mikrobiologische Analyse der eingesandten KSS-Probe. Dabei kommen kultivierungsabhängige Verfahren zum Einsatz, um potenziell EAA-relevante Mikroorganismen in KSS-Proben zu identifizieren:

- Casein Soja Digest (CASO)-Agar (30 °C): universeller Nährboden zur Anzucht von Bakterien
- Dichloran Glycerol (DG)-18-Agar (25 °C): universeller Nährboden zur Anzucht luftbürtiger Schimmelpilze und Hefen
- Malt Extract Agar (MEA) (25 °C): universeller Nährboden zur Anzucht feuchteliebender Schimmelpilze
- Glycerin-Agar (G/A) (25/50 °C): universeller Nährboden zur Anzucht luftbürtiger Actinomyceten
- Pseudomonas-Agar (30 °C): selektiver Nährboden zur Anzucht von Pseudomonaden
- Middlebrook-Agar (30 °C): selektiver Nährboden zur Anzucht von *Mycobacterium immunogenum*

Die Identifikation des mikrobiellen Konsortiums erfolgt mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Bei Bedarf wird zusätzlich eine Sequenzierung durchgeführt, um eine genauere taxonomische Einordnung zu ermöglichen.

5 Pilzantigene der Maschinenarbeiterlunge

Neben bakteriellen Antigenen sind auch fungale Antigene (aus Schimmelpilzen/Hefen) als Auslöser der Maschinenarbeiterlunge beschrieben. Als häufig beziehungsweise sehr häufig vorkommende Schimmelpilzarten in Kühlschmierstoffproben und/oder der Luft des Arbeitsbereichs wurden im Rahmen mikrobiologischer Untersuchungen von KSS-Arbeitsplätzen der DGUV [1] die Gattungen *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*), *Cladosporium* (*C. cladosporioides*, *C. herbarum*) *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. solani*), *Penicillium* (*P. chrysogenum*) und *Aureobasidium pullulans* (*A. pullulans*) beschrieben. In der aktuellen S2k-Leitlinie zur EAA (AWMF-Register Nr. 020/036) sind Antigene aus *A. fumigatus*, *A. pullulans*, *F. solani*, *F. oxysporum* und *F. verticillioides* als Auslöser der Maschinenarbeiterlunge benannt. Erhöhte spezifische IgG-Konzentrationen gegen *A. pullulans* wurden auch in einer Kasuistik zur Maschinenarbeiterlunge beschrieben [19]. Die spezifische IgG-Bindung an *A. pullulans* konnte durch die KSS-Arbeitsplatzprobe um 78 % inhibiert werden, wodurch *A. pullulans* als relevantes Antigen für den Beschäftigten mit Verdacht auf Maschinenarbeiterlunge identifiziert wurde. Weitere dominante Schimmelpilze in diesen KSS-Proben waren *Fusarium solani* und *F. oxysporum*, für die bislang allerdings auch kein kommerzielles IgG-Testtool zur Verfügung steht. Ausgehend von Kreuzreaktivitäten innerhalb genetisch verwandter Spezies wurde eine IgG-Inhibition mit der KSS-Arbeitsplatzprobe gegen *Fusarium proliferatum* durchgeführt. Dabei ergab sich eine Inhibition von 48 %. Da *F. proliferatum* zu einem anderen Artenkomplex (*Fusarium fujikuroi* species complex, FFSC) gehört als *F. solani* und *F. oxysporum*, die häufig in KSS-Proben verzeichnet wurden [1], könnte eine Neuentwicklung eines IgG-Testantigens aus dem *Fusarium solani* species complex (FSSC) das spezifische Maschinenarbeiter-Testpanel noch ergänzen.

In einer weiteren Studie [16] wurden insgesamt 30 exponierte Metallarbeiter mit Verdacht auf Maschinenarbeiterlunge untersucht. Hier wurden spezifische IgG-Konzentrationen sowohl gegen bakterielle und kommerziell erhältliche pilzliche Antigene gemessen. Dabei waren die sIgG-Konzentrationen gegen bakterielle

Antigene (*Ps. alcaliphila*, *Ps. oleovorans*, *Ps. spec.*, *Pae. glucanolyticus*, *M. immunogenum*) der Maschinenarbeiterlunge in 57 % der Fälle erhöht, und gegen verschiedene Schimmelpilze und Antigene aus *Saccharopolyspora rectivirgula* in 50 % der Fälle. Auch in dieser Studie wurde die prominenteste IgG-Reaktivität gegen Schimmelpilzantigene aus *A. pullulans* ermittelt (in elf von 30 Fällen waren die spezifischen IgG-Werte höher als der zweifache Wert des 95 % Quantils des Referenzkollektivs). Mögliche Korrelationen der spezifischen IgG-Konzentrationen gegen mikrobielle Antigene zeigten, dass signifikante Übereinstimmungen der IgG-Werte innerhalb der bakteriellen Antigene bestanden. Insbesondere Bakterienantigene aus der *Pseudomonas*-Gruppe waren hoch signifikant korreliert ($r = 0,80$ bis $0,90$; $p < 0,0005$), die Korrelation von spezifischen IgG-Konzentrationen gegen *Pseudomonaden* und *M. immunogenum* waren geringer ($r = 0,50$; $p < 0,05$). Keine signifikante Korrelation bestand zu den sIgG-Werten gegen *Pae. glucanolyticus*. Hohe Korrelationen fanden sich auch zwischen den spezifischen IgG-Konzentrationen gegen Schimmelpilzantigene, *Aspergillus fumigatus* und *Penicillium chrysogenum* ($r = 0,95$; $p < 0,0001$) sowie zwischen *Aureobasidium pullulans* und *Fusarium proliferatum* ($r = 0,90$; $p < 0,0001$). Es bestand aber keine signifikante Korrelation zwischen den sIgG-Konzentrationen gegen bakterielle Antigene und fungale Antigene.

6 Fazit

Die Ermittlung der spezifischen IgG-Antikörperkonzentrationen stellt einen wichtigen Baustein für eine valide Diagnostik der Maschinenarbeiterlunge dar. Mit dem am IPA in Zusammenarbeit mit der BGHM und dem IFA erarbeiteten Testpanel kann nun mit qualitätsgesicherten standardisierten Bakterien- und Schimmelpilzextrakten eine zielgerichtete Antikörperuntersuchung erfolgen. Ein Antigentestpanel für die serologische Testung von antigenspezifischen IgG-Konzentrationen bei Verdacht auf eine Maschinenarbeiterlunge wurde etabliert und umfasst derzeit fünf bakterielle Antigene: *Ps. alcaliphila*, *Ps. oleovorans*, *Ps. spec.*, *Pae. glucanolyticus*, *M. immunogenum* sowie fungale Antigene aus den Gattungen *Fusarium*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, *Penicillium* und *Cladosporium*. Im Rahmen gutachterlicher Fragestellungen können Antragsformulare für die spezifische IgG-Antikörperuntersuchung bei Verdacht auf eine Maschinenarbeiterlunge und spezifische IgE-Antikörperuntersuchungen bei Verdacht auf eine BK-Nr. 4301 auf der Webseite des IPA heruntergeladen werden (www.ipa-dguv.de). Wenn die serologische IgG-Untersuchung mit den verfügbaren mikrobiellen Antigenen der Maschinenarbeiterlunge negativ ist, kann eine Reinigung weiterer Antigene/Allergene aus den spezifischen KSS-Arbeitsplatzproben vom Arbeitsplatz des Versicherten sinnvoll sein. Dazu sollten die KSS-Proben aus der Zeit stammen, als die Beschwerden beim Beschäftigten auftraten. Die Aufarbeitung solcher individuellen Arbeitsplatzproben im Rahmen des BK-Verfahrens sollte dann zunächst proteinbiochemisch erfolgen [16], um mit immunologischen Methoden eine spezifische IgG-Reaktion mit dem Patientenserum zu untersuchen. Sind IgG-Antigene in der Arbeitsplatzprobe messbar, sollte auch eine mikrobiologische Analyse dieser KSS-Proben erfolgen, um weitere KSS-Antigene zu identifizieren.

Die Bedeutung einer frühzeitigen Identifizierung der ursächlichen Antigenquelle kann sowohl den akuten Erkrankungsverlauf sowie die weitere Prognose des Krankheitsverlaufs positiv beeinflussen [12; 20; 21; 22]. Bei frühzeitiger Antigenerkennung,

Reduktion beziehungsweise Vermeidung der Exposition und entsprechender Behandlung kann eine Chronifizierung der EAA und Fibrosierung der Lunge verhindert werden und die Krankheit kann sogar vollständig ausheilen. Im Sinne einer guten Prävention der Maschinenarbeiterlunge sollte die antigenspezifische IgG-Bestimmung im Serum des Exponierten als Bindeglied (connecting link) zwischen Exposition und EAA-Erkrankung auch zukünftig weiterentwickelt werden.

DANKSAGUNG

Für die technische Unterstützung danken wir Silke Maryska und Ursula Meurer aus der Abteilung Allergologie/Immunologie des IPA. Die Arbeit wurde durch die Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV) im Rahmen des IPA-Projekts 145-Bioaerosole gefördert.

LITERATUR

- [1] DGUV Information 209-051 – Keimbelastung wassergemischter Kühlschmierstoffe. www.dguv.de/publikationen; 2016.
- [2] Murat, J.-B., Grenouillet F, Reboux, G., Penven, E., Batchili, A., Dalphin, J.-C., Thauon, I.: Millon L. Factors influencing the microbial composition of metalworking fluids and potential implications for machine operator's lung. *Appl Environ Microbiol.* 2012; 78: 34-41. <https://doi.org/10.1128/AEM.06230-11>.
- [3] Dilger, S., Fluri, A., Sonntag, H.-G.: Bacterial contamination of preserved and non-preserved metal working fluids. *Int J Hyg Environ Health.* 2005; 208: 467-476. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2005.09.001>.
- [4] Barnes, H., Lu, J., Johansson, KA.: Development of a Knowledge-sharing Website for Hypersensitivity Pneumonitis Exposures. *ATS Sch.* 2022; 3: 460-467. <https://doi.org/10.34197/ats-scholar.2021-0139IN>.
- [5] Barber, CM., Wiggins, RE., Carder, M., Agius, R.: Epidemiology of occupational hypersensitivity pneumonitis; reports from the SWORD scheme in the UK from 1996 to 2015. *Occup Environ Med.* 2017; 74: 528-530. <https://doi.org/10.1136/oemed-2016-103838>.
- [6] Burton, CM., Crook, B., Scaife, H., Evans, GS., Barber, CM.: Systematic Review of Respiratory Outbreaks Associated with Exposure to Water-Based Metalworking Fluids. *Ann Occup Hyg.* 2012; 56: 374-388. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mer121>.
- [7] Burge, PS.: Hypersensitivity Pneumonitis Due to Metalworking Fluid Aerosols. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2016; 16: 59. <https://doi.org/10.1007/s11882-016-0639-0>.
- [8] Tillie-Leblond, I., Grenouillet, F., Reboux, G., Roussel, S., Chouraki B, Lorthois, C., Dalphin, J.-C., Wallaert, B., Millon, L.: Hypersensitivity pneumonitis and metalworking fluids contaminated by mycobacteria. *Eur Respir J.* 2011; 37: 640-647. <https://doi.org/10.1183/09031936.00195009>.
- [9] Kreiss, K., Cox-Ganser, J.: Metalworking fluid-associated hypersensitivity pneumonitis: a workshop summary. *Am J Ind Med.* 1997; 32: 423-432. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0274\(199710\)32:4<423:aid-ajim16>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0274(199710)32:4<423:aid-ajim16>3.0.co;2-5).
- [10] Legáth, L., Tkáč, I., Dittrichová, P., Perečinský, I., Matejová, M., Perečinský, S.: Occupational respiratory disease in Eastern Slovakia between 1990-2021: a shift from agriculture to industrial manufacturing. *Cent Eur J Public Health.* 2024; 32: 160-165. <https://doi.org/10.21101/cejph.a8111>.
- [11] Kespohl, S. und Raulf, M.: Berufsbedingte exogen allergische Alveolitis - Bedeutung und Herausforderung der IgG-Diagnostik am Beispiel der Maschinenarbeiterlunge (Metallarbeiterlunge). *Atemwegs- und Lungenkrankheiten.* 2025; 51: 184-191.
- [12] Koschel, D., Behr, J., Berger, M., Bonella, F., Hamer, O., Joest, M., Jonigk, D., Kreuter, M., Leuschner, G., Nowak, D., Raulf, M., Rehbock, B., Schreiber, J., Sitter, H., Theegarten, D., Costabel, U.: Diagnosis and Treatment of Hypersensitivity Pneumonitis: S2k Guideline of the German Respiratory Society and the German Society for Allergology and Clinical Immunology. *Respiration.* 2025: 1-44. <https://doi.org/10.1159/000543675>.
- [13] Esch, RE.: Manufacturing and standardizing fungal allergen products. *J Allergy Clin Immunol.* 2004; 113: 210-215. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2003.11.024>.
- [14] Beloqui, A., Guazzaroni, ME., Ferrer, M.: Procedures for Protein Isolation in Pure Culture and Microbial Communities. In: Timmis KN. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 4183-4194.
- [15] Kespohl, S., Warfolomeow, I., Schneider, G., Maryska, S., Meurer, U., Raulf, M.: Microbial contamination in water-based metalworking fluid as trigger for occupational hypersensitivity pneumonitis - development of specific IgG tools for a suspected clinical case. *Allergol Select.* 2020; 4: 110-117. <https://doi.org/10.5414/ALX02124E>.
- [16] Kespohl, S., Warfolomeow, I., Merget, R., Brüning, T., Raulf, M.: Hypersensitivity pneumonitis due to metal working fluids: Detection of specific IgG antibodies to microbial antigens. *Respir Physiol Neurobiol.* 2023; 315: 104107. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2023.104107>.
- [17] Sander, I., Kespohl, S., Merget, R., Goldscheid, N., Degens, PO., Brüning, T., Raulf-Heimsoth M.: A new method to bind allergens for the measurement of specific IgE antibodies. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 136: 39-44. <https://doi.org/10.1159/000082583>.
- [18] Raulf, M., Joest, M., Sander, I., Hoffmeyer, F., Nowak, D., Ochmann, U.: Update of reference values for IgG antibodies against typical antigens of hypersensitivity pneumonitis. *Allergo J.* 2019; 28: 192-203.
- [19] Merget, R., Sander, I., van Kampen, V., Raulf-Heimsoth, M., Rabente, T., Kolk, A., Brüning, T.: Hypersensitivity pneumonitis due to metalworking fluids: how to find the antigens. *Adv Exp Med Biol.* 2013; 788: 335-340. https://doi.org/10.1007/978-94-007-6627-3_45.
- [20] Fernández Pérez, ER., Swigris, JJ., Forssén, AV., Tourin, O., Solomon, JJ., Huie, TJ., Olson, AL., Brown, KK.: Identifying an inciting antigen is associated with improved survival in patients with chronic hypersensitivity pneumonitis. *Chest.* 2013; 144: 1644-1651. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2685>.
- [21] Tsutsui, T., Miyazaki, Y., Kuramochi, J., Uchida, K., Eishi, Y., Inase, N.: The amount of avian antigen in household dust predicts the prognosis of chronic bird-related hypersensitivity pneumonitis. *Ann Am Thorac Soc.* 2015; 12: 1013-1021. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201412-569OC>.
- [22] Nogueira, R., Melo, N., Novais e Bastos, H., Martins, N., Delgado, L., Morais, A., Mota, PC.: Hypersensitivity pneumonitis: Antigen diversity and disease implications. *Pulmonology.* 2019; 25: 97-108. <https://doi.org/10.1016/j.pulmoe.2018.07.003>.

Dr. rer. nat. Sabine Kespohl,

Prof. Dr. rer. nat. Monika Raulf

Institut für Prävention und Arbeitsmedizin der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, Institut der Ruhr-Universität Bochum (IPA), Bochum.

Dr. rer. nat. Katharina Druckenmüller,

Dr. rer. nat. Annette Kolk

Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA), St. Augustin.

Dr. rer. nat. Isabel Warfolomeow

BiA-Consulting – Beratung Biologische Arbeitsstoffe im Arbeitsschutz, Schutzbach.

Dr. rer. nat. Bernd Rose

Berufsgenossenschaft Holz und Metall (BGHM), Mainz.