

De invloed van het gebruik van centraal stofzuigsystemen op de hoeveelheid stof en allergeen in de binnenlucht

R. T. van Strien¹

M.N.B .M. Driessen²

M. Oldenwening¹

G. Doekes¹

B. Brunekreef ¹

1 Institute for Risk Assessment Sciences-Division

Environmental and Occupational Health, Universiteit van
Utrecht

2 Stichting De Waarden, centrum voor

jeugdhulpverlening, onderwijs en onderzoek, Nijmegen

Inhoudsopgave

Samenvatting 3

1. Inleiding 4

2. Methoden 5

3. Resultaten 8

4. Discussie en Conclusies 12

Gebruikte literatuur 13

Bijlage 1 Protocollen allergeen bepalingen 14

Bijlage 2 Totaalstof in de lucht van woningen 17

Bijlage 3 Fel d 1 in de lucht van woningen 20

Bijlage 4 Stof concentratie in de lucht van controle woningen 21

Samenvatting

Doel van het onderzoek:

Het doel van dit onderzoek was het vergelijken van het centrale stofzuigstelsel met conventionele stofzuigers in termen van stof en allergenen die in de lucht worden gebracht door opwerveling dan wel uitblazing aan de achterzijde van de conventionele stofzuiger.

Methoden:

In 12 woningen met een centraal stofzuigstelsel werd een aantal keer een standaard stofzuigprotocol doorlopen. De ene keer werd dit gedaan met de aanwezige centrale stofzuiger, de andere keer met een conventionele stofzuiger. Voor, tijdens en na het stofzuigen werd totaal stof in de lucht gemeten en in woningen met een kat werd ook de hoeveelheid Fel d 1 (=kattenallergeen) in de lucht gemeten.

In alle woningen werden ook stof monsters van de vloer genomen.

Resultaten:

Uit het onderzoek bleek dat er geen significant verschil was tussen het gebruik van het centrale stofzuigstelsel en de conventionele stofzuiger wat betreft de concentratie totaal stof in de binnenlucht. Ook de concentratie kattenallergeen bleek niet afhankelijk te zijn van het gebruikte type stofzuiger. De concentratie huisstofmijtallergeen en hondallergeen in het vloerstof was in bijna alle gevallen te laag om bruikbare resultaten voor het luchtstof te genereren. Aangezien er geen verschillen in stof concentratie in de binnenlucht bleken te zijn mag aangenomen worden dat de concentraties milt- en hondallergeen ook niet verschillend zijn bij gebruik van de verschillende typen stofzuigers.

1. Inleiding

Stofzuigen was tot voor een paar jaar geleden letterlijk een vrij stoffige bezigheid. De stofzuiger zoog het stof op en de lucht die meekwam werd via een stofzak aan de achterkant weer uitgeblazen. Het resultaat was dat al het relatief grove stof in de zak bleef zitten en het fijne stof met de lucht aan de achterkant van de stofzuiger weer in de binnenlucht werd gebracht.

Moderne stofzuigers hebben dit euvel in veel mindere mate. Door het gebruik van filters wordt getracht het verspreiden van stof met de uitgeblazen lucht zoveel mogelijk te voorkomen. Dat dit ook echt zorgt voor verschillen tussen stofzuigers werd duidelijk gemaakt in studies, gedaan door Woodfolk e.a. (1993), Hegarty e.a. (1995) en de Blay e.a. (1998). In deze studies wordt vooral veel aandacht besteed aan kattenallergieën en verspreiding daarvan tijdens het stofzuigen. Nu is er een veelbelovende nieuwigheid op de markt die het verspreiden van stof in de binnenlucht van een woning tijdens het stofzuigen zelfs geheel verleden tijd zou maken. Het gaat hier om centrale stofzuigsystemen. Deze systemen werken in principe als volgt. Centraal is de stofzuiger die op een vaste plaats in de woning is gemonteerd, met een afvoer naar buiten. Een buizenstelsel met een soort stopcontacten voor een stofzuigerslang maakt het mogelijk overal in de woning met de stofzuigerslang te komen. Op deze manier zal de opgezogen lucht via een stofzak naar buiten toe afgevoerd worden. Theoretisch zou dit ervoor kunnen zorgen dat de hoeveelheid stof in de lucht van een woning tijdens het stofzuigen minder is wanneer een dergelijk systeem wordt gebruikt in vergelijking met een conventionele stofzuiger. Over dit soort stofzuigsystemen worden diverse beweringen gedaan betreffende het reduceren van de stof- en allergieën belasting tijdens het stofzuigen. Volgens fabrikanten zouden dan ook vooral astma patiënten gebaat zijn bij het gebruik van het centraal stofzuigstelsel. Mede naar aanleiding van een literatuuronderzoek verricht door Driessen (1999) werd het in dit rapport beschreven onderzoek uitgevoerd.

In dit onderzoek wordt door middel van metingen van de stof concentratie in de lucht voor, tijdens en na een vaststaand stofzuigprotocol onderzocht of het zuigen met een centraal stofzuigstelsel ervoor zorgt draagt dat de hoeveelheid stof in de binnenlucht lager is dan bij gebruik van een gewone stofzuiger.

2. Methoden

Voor dit onderzoek zijn twaalf woningen geselecteerd waarin een centraal stofzuigstelsel was geïnstalleerd. De adressen van deze woningen werden verkregen via de installateurs van centraal stofzuigsystemen. Vooraf was gesteld dat woningen zouden worden geselecteerd met textiele vloerbedekking en huisdieren. Doordat het potentiële aantal deelnemers niet zo heel groot was zijn deze eisen iets aangepast en zijn woningen geselecteerd met textiele vloerbedekking of minimaal 4 m² vloerkleed in de woonkamer.

Verder zijn zoveel mogelijk woningen geselecteerd waar katten en/of honden aanwezig waren. Alle huisbezoeken werden uitgevoerd tussen april en september 2000. Tussen 2 huisbezoeken in hetzelfde huis werd minimaal 2 weken gepland. Om het verschil tussen het gebruik van een centraal stofzuigstelsel en een conventioneel stofzuigstelsel te onderzoeken werd in deze woningen verschillende malen een protocol aan handelingen en metingen uitgevoerd. Het protocol zag er als volgt uit:

1. Nemen van basisstofmonster in de lucht (meetduur 30 minuten)
2. Standaard stofzuigprotocol, inclusief stof monster in de lucht (meetduur 30 minuten).
3. Nemen van stofmonster in de lucht (meetduur 210 minuten).
4. Nemen van stofmonster van vloerkleed of vloerbedekking in de woonkamer.

Ter vergelijking werd in 3 woningen zonder centraal stofzuigstelsel hetzelfde protocol twee maal afgewerkt, met een conventionele stofzuiger.

Het stofzuigprotocol

Tijdens ieder huisbezoek werd gedurende 20 minuten een standaard zuigprotocol afgewerkt. Dit protocol werd de ene keer met de in het huis aanwezige centrale stofzuiger uitgevoerd (CS) en de andere keer met een conventionele stofzuiger (NS). Deze stofzuiger was van het merk Electrolux, type Clario, uitgerust met een zogenaamd microfilter. De centrale stofzuigers waren van verschillende merken. Het gebruikte type stofzuiger werd random toegewezen per huisbezoek om te voorkomen dat de bewoners wisten welke stofzuiger gebruikt zou gaan worden. Dat is de reden dat het aantal protocollen met de 'CS' en de 'NS' kan verschillen per huis. Het 20 minuten durende zuigprotocol was bedoeld om een met normaal gebruik

vergelijkbare verstoring van het gedeponeerde stof in de woonkamer te bewerkstelligen. De vloer van de woonkamer en het eventueel aanwezige met stof beklede meubilair, werd in dit protocol gezogen.

Stof monsters in de lucht Stof dat in de lucht aanwezig was werd gemeten met een aangepast systeem. Het gaat hier om een systeem voor het meten van totaal stof, dat gebaseerd werd op de methode voor het meten van PM 2.5, dat is stof met een 50% cut-off diameter van 2.5 μ m, zoals beschreven door Janssen e.a (1998). Omdat het de bedoeling was om in dit onderzoek ook allergenen in de lucht te meten is gekozen om zoveel mogelijk stof uit de lucht te verzamelen, ongeacht de aerodynamische eigenschappen van het stof. Daartoe werd een systeem gebruikt zonder voorafscheiding met een flow van 20 Umin. Hierdoor is het niet mogelijk te zeggen welke fractie van het stof gemonsterd is. Voor de monsternamen werd gebruik gemaakt van teflon filters met een diameter van 37 mm en een porie grootte van μ m. De filters werden gewogen na minimaal 24 uur conditionering bij een relatieve vochtigheid van 40% en een temperatuur van 23°C, zowel voor als na monsternamen. De flow van de pomp werd voor en na monsternamen gemeten. Het product van de gemiddelde flow en de monsternametijd is het gemonsterde volume lucht. Vervolgens kan uitgerekend worden wat de concentratie totaal stof (TSP in μ g/m³) in de lucht was. Per huisbezoek zijn 3 monsters genomen.

Één monster werd genomen voor het zuigprotocol met een monsternameduur van 30 minuten, één monster werd genomen tijdens het zuigprotocol, met een monsternameduur van 30 minuten en als laatste werd na het zuigprotocol een monster genomen met een monsternameduur van 210 minuten.

Stof monsters van de vloer

Stofmonsters van de vloer werden genomen van 1 m² van de vloerbedekking of van een vloerkleed. Bij ieder bezoek werd dezelfde vierkante meter bemonsterd.

Monsters werden genomen met een stofzuiger (Electrolux Clario) op maximaal vermogen met een op de slang bevestigde ALK-kop. In deze monsternametekop werd een papierfilter (Schleicher & Schuell 589) geplaatst, waarop het stof dat uit de vloerbedekking werd gezogen werd verzameld. Het papierfilter werd van tevoren gewogen, samen met de container waar het in werd vervoerd. Na monsternamen werd het stof, inclusief het filter weer in de container gebracht en wederom gewogen. De

totaal verzamelde hoeveelheid stof werd daarmee bepaald. Wegen gebeurde minimaal 24 uur na conditionering bij 40% relatieve vochtigheid en een temperatuur van 23°C.

Extractie van stof

Het luchtstof verzameld tijdens het laatste monster (210 minuten) werd door middel van schudden gedurende 2 uur geëxtraheerd in 2 ml PBS (=Phosphate Buffered Saline) met 0.05% tween-20 en 0.05% NaN₃. Extractie gebeurde in de filterhouder, waar het teflon filter nog in aanwezig was.

Het vloerstof werd, inclusief filter, door middel van schudden gedurende 2 uur geëxtraheerd met 10 of 15 ml FES, afhankelijk van de hoeveelheid stof.

De samenstelling van het gebruikte PBS was als volgt: 8 g NaCl, 0.2g KCl, 1.44 g Na₂HPO₄, 0.24 g KH₂PO₄ in 1 liter bidest, met een pH van 7.2.

Analyse van extracten

In de vloerstof -extracten is vervolgens de hoeveelheid Der p 1, Der f 1, Fel d 1 en Can f 1 bepaald met behulp van een sandwich ELISA. Der p 1 en Der f 1 zijn de belangrijkste allergenen van twee soorten huisstofmijten, Fel d 1 is het belangrijkste allergeen van de kat en Can f 1 is het belangrijkste allergeen van de hond.

Reagentia werden verkregen van Indoor Biotechnologies (Cardiff, Groot Brittannië).

Voor details van de methode zie bijlage 1. Alle monsters werden 5x, 10x en 20x verdund ingezet en indien nodig verder verdund.

De luchtstofextracten van de '210 minuten'-monsters uit woningen waar een kat aanwezig was werden geanalyseerd op de hoeveelheid Fel d 1. Deze monsters werden onverdund, 2x en 4x verdund ingezet in de analyse. Aangezien de methode voor Fel d 1 veel gevoeliger was dan voor Der p 1, Der f 1 en Can f 1 is gekozen om de laatste 3 bepalingen niet uit te voeren. De detectiegrenzen voor de verschillende bepalingen zijn voor een onverdund monster als volgt: Der p 1: 1.6 ng/ml, Der f 1: 1.2 ng/ml, Fel d1: 0.3 ng/ml en Can f 1: 4 ng/ml.

Statistische analyse

Statistische analyse van de gegevens werd uitgevoerd met SAS (Statistical Analysis System) v. 6.12 voor de pc.

Eerst werd per huis de gelogarithmiseerde stof-en Fel d 1 concentratie in de lucht vergeleken tussen de 2 zuigprotocollen en vervolgens werden deze gegevens samengevoegd en vergeleken, waarbij rekening werd gehouden met afhankelijkheid van waarnemingen gedaan in hetzelfde huis. Dit is gedaan met een lineair regressiemodel, waarin herhaalde waarnemingen per woning verdisconteerd werden.

3. Resultaten

In tabel 1 wordt een overzicht gegeven van de huizen die in het onderzoek betrokken waren. In de tabel is een aantal kenmerken van de woningen vermeld en het aantal maal dat de twee verschillende zuigprotocollen zijn uitgevoerd. In geen van de woningen betrokken in het onderzoek werd regelmatig gerookt. Incidenteel werd er gerookt vlak voor of tijdens de uitvoering van het onderzoek. Dit werd genoteerd, en de desbetreffende meting is uiteindelijk uit de analyses gelaten, omdat roken veel invloed heeft op de concentratie in de lucht zwevend stof. In geen enkele woning werd tijdens het onderzoek de open haard gebruikt.

Tabel 1 Beschrijving van de huizen in het onderzoek.

In tabel 2 zijn de resultaten van de stof monsters die genomen zijn van de woonkamervloer tijdens het eerste huisbezoek weergegeven. Tabel 2 Concentratie stof, Der p 1, Der f 1, Fel dien Can f 1 in stof verzameld van de woonkamervloer (le meting).

Uit tabel 2 blijkt dat katten- en hondenallergeen (respectievelijk Fel dien Can f 1) in het stof van de woonkamer van alle huizen aantoonbaar aanwezig was. Vooral voor Fel d 1 was er overduidelijk verschil tussen de hoeveelheid allergeen op de vloer in woningen met een kat en woningen zonder kat.

Vervolgens is in tabel 3, 4 en 5 per huis per zuigprotocol (Centraal vs Normaal) de gemiddelde concentratie stof in de lucht weergegeven respectievelijk voor, tijdens en na uitvoering van het zuigprotocol. De concentraties werden eerst gelogarithmiseerd om de verdeling te normaliseren en vervolgens werd het Geometrisch Gemiddelde

(GM) en de geometrische standaarddeviatie (gsd) uitgerekend. Met een t-toets werd eerst per huis het verschil tussen het centraal zuigprotocol (CS) en het Normaal zuigprotocol (NS) getoetst en vervolgens werden alle gegevens bij elkaar genomen en werd, rekening houdend met herhaalde waarnemingen per huis, het verschil wederom getoetst (genoemd bij 'Allemaal').

In bijlage 2 zijn per huis de afzonderlijke concentraties grafisch weergegeven.

Tabel 3 Gemiddelde stof concentratie (mg/m³) per huis in de lucht voor het zuigprotocol (monsterduur 30 minuten).

Tabel 4 Gemiddelde stof concentratie (µg/m³) per huis in de lucht tijdens het zuigprotocol (monsterduur 30 minuten).

Tabel 5 Gemiddelde stof concentratie (µg/m³) per huis in de lucht na het zuigprotocol (monsterduur 210 minuten).

Wanneer de gegevens per huis bekeken worden blijkt alleen voor huis 104 een statistisch

significant verschil te bestaan tussen de concentratie stof in de lucht na de twee zuigprotocollen. Hierbij was de concentratie stof hoger na het Centrale zuigprotocol.

Wanneer alle data samengenomen werden bleek dat er geen verschil was in de concentratie stof in de lucht tijdens het zuigen en ook niet na het zuigen tussen de twee zuigprotocollen.

Wat verder opvalt is dat de concentraties stof in de lucht meestal hoger zijn tijdens de twee eerste metingen (van ieder 30 minuten) dan tijdens de laatste meting (van 210 minuten). In de woningen van mensen met een kat (huis 102, 103, 107 en 113) is vervolgens bepaald hoeveel katten allergeen (Fel d 1) in de lucht aanwezig was in de TSP-monsters die genomen zijn na de twee verschillende zuigprotocollen (tabel 6).

Voor alle 4 de huizen afzonderlijk was er geen verschil tussen de 2 zuigprotocollen, en ook als de gegevens gezamenlijk werden geanalyseerd was er geen verschil tussen de concentraties Fel d 1 in

de lucht tijdens de 2 zuigprotocollen. In bijlage 3 zijn voor deze vier huizen de concentraties grafisch weergegeven.

Tabel 6 Gemiddelde Fel d 1 concentratie (mU/m³) per huis in de lucht na het zuigprotocol (monsterduur 210 minuten).

Om vast te stellen of de concentraties stof in woningen met een centraal stofzuigsysteem vergelijkbaar zijn met de concentraties stof in woningen zonder

centraal stofzuigsysteem is in 3 woningen zonder centraal stofzuigsysteem het zuigprotocol met de conventionele stofzuiger afgewerkt. In tabel 7 zijn de resultaten van deze metingen te zien. In bijlage 4 zijn de resultaten grafisch weergegeven. Tabel 7 Gemiddelde stof concentratie ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in controlewoningen, per huis in de lucht voor, tijdens en na het stofzuigprotocol. Uit de resultaten van tabel 7 blijkt dat de concentratie stof voor, tijdens en na het zuigprotocol in deze 3 huizen niet significant afwijkt van de concentratie stof in de woningen met een centraal stofzuigsysteem.

4. Discussie en conclusies

Dit onderzoek werd verricht om het verschil in stof concentratie in de binnenlucht te meten bij gebruik van een centraal stofzuigsysteem en een conventionele stofzuiger, tijdens een standaard zuigprotocol. Uit het onderzoek blijkt dat er geen verschil is in de concentratie stof in de lucht tijdens en na het zuigprotocol tussen de twee stofzuigsystemen in de onderzochte woningen.

In alle 12 woningen die in het onderzoek betrokken waren was een centraal stofzuigsysteem ingebouwd. In ieder van deze woningen is verschillende malen een standaard zuigprotocol uitgevoerd, een aantal maal met de aanwezige centrale stofzuiger en een aantal maal met een conventionele stofzuiger. In totaal is dit 103 maal gebeurd. Alle woningen hadden textiele vloerbedekking in de woonkamer of een gladde vloer met vloerkleed van minimaal 1 m². Verder waren in 8 van de 12 woningen honden en/of katten aanwezig.

De metingen voor en tijdens het uitgevoerde zuigprotocol duurden steeds 30 minuten en de meting na het zuigprotocol 210 minuten. De meting die gedaan werd tijdens het zuigprotocol liet gemiddeld de hoogste concentratie zien, en de meting na het zuigprotocol de laagste. Dit heeft waarschijnlijk als oorzaak dat wanneer de meettechnicus de woning binnen komt het stof op de vloer daardoor al verstoord raakt en in de lucht terecht komt. Tijdens het zuigen wordt dit alleen maar erger en vervolgens in de periode van 210 minuten na het zuigen is het weer rustig en zakt het stof weer uit.

Zowel voor, tijdens als na het zuigprotocol was er in de analyses, waarbij rekening werd gehouden met statistische afhankelijkheid van metingen in dezelfde woning, geen verschil te zien tussen beide stofzuigsystemen.

Ook voor de concentratie Fel d 1 in de lucht na uitvoering van het zuigprotocol was geen verschil te zien tussen de twee stofzuigsystemen.

De bepalingmethoden voor de mijtallergenen (Der p 1 en Der f 1) en hondallergeen (Can f1) zoals die voorhanden zijn, zijn niet gevoelig genoeg om bruikbare waarden te genereren voor de luchtstofmonsters. Dit is één van de redenen waarom deze bepalingen achterwege zijn gelaten. Een andere reden om de mijten- en de hondallergenen niet te bepalen was dat er geen significant verschil in stof concentratie; in de binnenlucht tussen de 2 stofzuigsystemen was gevonden. Het is tevens niet waarschijnlijk dat de stof concentratie geen verschil laat zien bij gebruik van de twee stofzuigsystemen en de mijtallergeen concentratie wel. Wat betreft de generaliseerbaarheid van de gegevens zoals verkregen in dit onderzoek is het zo dat de huizen, zoals hier geselecteerd, allemaal (deels) textiele vloerbedekking hadden, om te zorgen dat er in ieder geval voldoende stof en eventueel allergenen in de woning teruggevonden konden worden om uitspraken te doen. Het is waarschijnlijk dat in huizen met alleen gladde vloerbedekking, zoals parket of plavuizen, de stof concentratie in de lucht veel geringer zou zijn en daardoor misschien niet meetbaar.

Literatuur

De Blay F, F Spirlet, P Gries, S Casel, M Ort, G Pauli, Effects of variopus vacuüm cleaners on the airborne content of major cat allergen (Fel d1). Allergy 1998;53:411-4.

Driessen MNBM, Heeft het gebruik van een Centraal Stofzuigstelsel voordelen voor de allergische patiënt?, juni 1999.

Hegarty JM, S Rouhakhsh, JA Warner, JO Warner, A comparison of the effect of Conventional and filter vacuüm cleaners on airborne house dust mite allergen. Respiratory Medicine 1995;89:279-84.

Janssen NAH, G Hoek, H Harssema, B Brunekreef, Personal sampling of airborne particles: method performance and data quality, Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology 1998;8:37-49.

Woodfolk JA, CM Luczynska, F de Blay, MD Chapman, TA Platts-Mills, The effect of Vacuüm cleaners on the concentration and particle size distribution of airborne cat allergen. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1993;4:829-37.

Bijlage 1 Protocollen allergenen bepalingen

Der p 1 bepaling

Monoclonal ELISA for Der p allergen

1. Anti Der p 1 mAb 5H8 is supplied HPLC purified as a stock solution at 2mg/ml in PBS. Coat polystyrene microtiter wells (Immulon 11) with 200ng/well mAb 5H8 (i.e. 0.1ml 1/1000 dilution of mAb) in 50mM carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6, overnight at 4°C.

2. Wash wells 3x with PBS-0.05% Tween 20, pH 7.4 (PBS- T). Incubate for 30 minutes with 0.1ml 1% BSA PBS- T then wash 3x with PBS-T and dry.

3. Add 0.1ml of diluted allergen samples and incubate for 1 hour. House dust samples are routinely diluted two-fold from 1/10-1/80.

Use doubling dilutions of the Der p I Standard to make a control curve. The control curve dilutions are from 250 - 0.5ng/ml Der p 1. Pipette 100 µl Der p I reference into 180 µl 1% BSA PBS-T into rows A1 and B1 on the ELISA plate. Mix well and transfer

100 µl across the plate into 100 µl 1% BSA PBS- T diluent to make 10 serial doubling dilutions. Rows 11 and 12 should contain only 1% BSA PBS- T as controls.

4. Wash wells 3x with PBS-T, then incubate for 1 hour with 0.1ml 1/1000 dilution of biotinylated anti Group 1 mAb 4C1 (equivalent to 10ng 4C1 antibody).

5. Wash wells 3x and incubate for 30 minutes with 0.1ml 1/1000 dilution of Streptavidin - Peroxidase (Sigma S5512, 0.25mg reconstituted in 1 ml distilled water). The Streptavidin should be diluted in 1% BSA PBS- T.

Wash wells 3x and develop the assays by adding 0.1ml 1mM ABTS in 70mM citrate phosphate buffer, pH 4.2 and 1/1000 dilution of H₂O₂.

6. Read the plate when the absorbance (405nm) reaches 2.0-2.4 or stop the reaction by adding 0.1ml 2mM sodium azide. Absorbance readings are directly proportional to the quantity of Der p 1 bound and values are interpolated from the respective control curves.

Notes: The Der p 1 standard contains 2500ng/ml Der p 1 and has been sub-standardized against the WHO/IUIS

D. pteronyssinus reference (NIBSC 82/518), which contains 12.5 µg/ml Der p 1(9,10).

Certificate of Analysis Monoclonal Antibody: 5H8 (clone 5H8 C12 08)

Immunogen: Der p I Isotype: Mouse IgG2A

Specificity: Binds to a common epitope on mite Dermatophagoides pteronyssinus allergen, Der p 1.

Purification: Produced in tissue culture by hollow fiber fermentation and purified by chromatography using Protein A. Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE

Concentration: 2.0mg/ml in phosphate buffered saline, pH 7.2. Based on A₂₈₀ for IgG (1.42= 1mg/ml) 0.22 µm filtered, preservative free.

Monoclonal Antibody: 4C1 (clone 4C1 B8 3F8)

Immunogen: Der f 1 Isotype: Mouse IgG 1

Specificity: Binds to a common epitope on mite Dermatophagoides Group 1 allergens (Der f 1, Der p 1, Der m 1, Eur m 1). Purification: From ascites by ammonium sulphate precipitation and by HPLC using recombinant protein G. Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE

Biotinylation: Biotinylated using EZ-Link Sulfo-NHS-LC Biotinylating Agent and titrated for use in ELISA for mite Group 1 allergen at 1/1000 dilution. Prepared in 1% BSA/50% glycerol/PBS.

Allergen Standard: Der p 1 Composition: *D. pteronyssinus* extract prepared in 1% BSA/50% glycerol/PBS pH 7.4 Concentration: 2500ng/ml Der p 1

Calibration: The Der p 1 content of this standard was determined by ELISA sub-standardized against the WHO/IUIS *D. pteronyssinus* referente (NIBSC 82/518), which contains 12.5_g/ml Der p 1 per ampule.

Der f 1 bepaling

Monoclonal ELISA for Oer f 1 allergen

1. Anti Der f 1 mAb 6A8 is supplied HPLC purified as a stock solution at 2mg/ml in PBS. Coat polystyrene microtiter wens (Immulon 11) with 200ng/well mAb 6A8 (i.e. 0.1ml 1/1000 dilution of mAb) in 50mM carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6, overnight at 4°C.

2. Wash wells 3x with PBS-0.05% Tween 20, pH 7.4 (PBS- T). Incubate for 30 minutes with 0.1ml 1% BSA PBS-T then wash 3x with PBS-T and dry.

3. Add 0.1ml of diluted allergen samples and incubate for 1 hour. House dust samples are routinely diluted two-fold from 1/10-1/80.

Use doubling dilutions of Der f 1 standard to make a control curve. The control curve dilutions contain from 250 - 0.5ng/ml Der f 1. Pipette 20_ l Der f 1 reference into 180_ l 1% BSA PBS-T into rows A1 and B1 on the ELISA plate. Mix well and transfer

100_ l across the plate into 100_ l 1% BSA PBS-T diluent to make 10 serial doubling dilutions. Rows 11 and 12 should contain only 1% BSA PBS- T as controls.

4. Wash wells 3x with PBS-T, then incubate for 1 hour with 0.1ml 1/1000 dilution of biotinylated anti mite Group 1 mAb 4Cl (equivalent to -10ng 4Cl antibody).

5. Wash wells 3x and incubate for 30 minutes with 0.1ml 1/1000 dilution of Streptavidin - Peroxidase (Sigma S5512, 0.25mg reconstituted in 1ml distilled water). The Streptavidin should be diluted in 1% BSA PBS-T. Wash wells 3x and develop the assays by adding 0.1ml 1mM ABTS in 70mM citrate phosphate buffer, pH 4.2 and 1/1000 dilution of H₂O₂.

6. Read the plate when the absorbance (405nm) reaches 2.0-2.4 or stop the reaction by adding 0.1ml 2mM sodium aride.

Absorbance readings are directly proportional to the quantity of Der f 1 bound and values are interpolated from the respective control curves.

Notes: The Der f 1 standard contains 2500ng/ml Der f 1and was sub-standardized against the WHO/IUIS *D. pteronyssinus* reference using a cross-reacting RIA (as yet, there is no International Reference Preparation of *D. farinae*).

Certificate of Analysis

Monoclonal Antibody: 6A8 (clone 6A8 BIO D12)

Immunogen: Der f 1 Isotype: Mouse IgG1

Specificity: Binds to a common epitope on mite *Dermatophagoides farinae* allergen, Der f 1.

Purification: From ascites by ammonium sulphate precipitation and by HPLC using recombinant protein G. Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE Concentration: 2.0mg/ml in phosphate buffered saline, pH 7.2. Based on A280 for IgO (1.42= 1mg/ml) 0.22 m filtered, preservative free. Monoclonal Antibody: 4C1 (clone 4C1 B8 3F8) Immunogen: Der f 1 Isotype: Mouse IgG1 Specificity: Binds to a common epitope on mite Dermatophagoides Group 1 allergens (Der f 1, Der p 1, Der m 1, Eur m 1). Purification: From ascites by ammonium sulphate precipitation and by HPLC using recombinant protein G.

Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE

Biotinylation: Biotinylated using EZ-Link Sulfo-NHS-LC Biotinylating Agent and titrated for use in ELISA for mite Group 1 allergen at 1/1000 dilution. Prepared in 1% BSA-50% glycerol/PBS.

Allergen Standard: Der f 1 Composition: D. farinae extract prepared in 1% BSN50% glycerol/PBS. pH 7.4 Concentration: 2500ng/ml Der f 1 Calibration: The Der f 1 content of this standard has been sub-standardized against a previous Der f 1 reference (UVA 87/02). The standard was sub-standardized against the WHO/IUIS D. pteronyssinus reference using a cross-reacting RIA (as yet, there is no International Reference Preparation of D. farinae).

Fel d 1 bepaling

Monoclonal ELISA for cat allergen, Fel d 1

1. The anti-Fel d 1 capture mAb, 6F9, is provided as HPLC purified mAb, in stock solution at 2mg/ml in PBS, pH 7.4. Coat plastic microtiter wells with 200ng/wel16F9 i.e. 100_μl of 1/1000 dilution (10_μl/10ml) in 50mM carbonatebicarbonate buffer, pH 9.6. Incubate overnight at 4°C.

2. Wash wells twice with PBS-T and incubate for 30 mins with 100_μl 1% BSA PBS-T. Wash twice with PBS-T. 3. Add 100_μl diluted allergen samples. House dust extracts are routinely diluted five-fold from 1/5 - 1/625 in 1% BSA PBS- T. Use doubling dilutions of Fel d 1 reference to form a control curve. This reference contains 200mU/ml Fel d 1 and should be diluted 1/10 to make the first dilution on the curve, from 20mU/ml to 0.04mU/ml. Incubate for 1 hour. 4. Wash wells 3x with PBS- T and incubate for 1 hour with 100_μl 1/1000 dilution of biotinylated rAb 3E4 with 1% BSA PBS-T.

5. Wash wells 3x and incubate for 30 mins with □□ □ _μl 1-1000 dilution in 1% BSA PBS-T of Streptavidin- Peroxidase (Sigma S5512, 0.25mg reconstituted in 1ml distilled water). Wash wells 3x and develop the reaction by adding 100_μl ABTS containing 0.03% H2O2.

6. Read the plate in an ELISA reader when the OD at 405nm reaches 2.0-2.4. (The reaction can be stopped by adding 100_μl 2mM sodium azide. Notes:

The Fel d 1 reference was sub-standardized from the CBER cat dander reference, E5, which contains 9.7U/ml Fel d 1 (1 unit = 4_μg protein). Fel d 1 values are interpolated from the linear part of the curve.

Fel d 1 ELISA kit (6F9/3E4) Certificate of Analysis Monoclonal Antibody: 6F9 (clone 6F9 A4 H1)

Immunogen: Fel d 1 isotype: Mouse IgG1 Specificity: Binds to an epitope present on Fel d 1 Chain 1.

Purification: From ascites by ammonium sulphate precipitation and by HPLC using recombinant protein G. Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE Concentration: 2.0mg/ml in phosphate buffered saline, pH 7.2. Based on A280 for IgG (1.42= 1mg/ml) 0.22m filtered, preservative free.

Monoclonal Antibody: 3E4 (clone 3E4 C4 C10) Immunogen: Fel d 1 Isotype: Mouse IgG 1

Specificity: Binds to an epitope present on Fel d 1 Chain 1. Purification: From ascites by ammonium sulphate precipitation and by HPLC using recombinant protein G. Single heavy and light chain bands on SDS-PAGE Biotinylation: Biotinylated using EZ-Link Sulfo-NHS-LC Biotinylating Agent and titrated for use in ELISA for cat allergen at 1/1000 dilution. Prepared in 1% BSA-50% glycerol/PBS. Allergen Standard: Fel d 1 Composition: Cat extract prepared in 1% BSN50% glycerol/PBS. pH 7.4 Concentration: 200mU/ml Fel d 1 Calibration: The Fel d 1 reference was sub-standardized from the CBER cat dander reference, E5, which contains 9.7U/ml Fel d 1 (1 unit = 4g protein). Fel d 1 values are interpolated from the linear part of the curve.

Can f 1 bepaling

Monoclonal ELISA for Dog allergen, Can f 1 1. Anti Can f 1 mAb 6E9 is provided HPLC purified as a stock solution at 0.8mg/ml in PBS. Dilute the mAb 1/1000 in 50mM carbonate-bicarbonate buffer, pH 9.6, and add 100_1 / well to a plastic microtiter plate. Incubate overnight at 4°C.

2. Wash X3 in PBS-tween (PBS- T). Add 100_1 / well 1% BSA PBS- T and incubate 30 minutes at room temperature.

3. Wash X3 in PBS- T. Establish a standard curve by making doubling dilutions of the Can f 1 reference standard across plate

from 500 IU/ml to 1 IU/ml in duplicate. Add 100_1 / well of diluted sample and incubate plates for 1 hour at room temperature. (Make all dilutions in 1 % BSA PBS- T.)

4. Wash X3. Add 100_1 / well Rabbit anti. Can f 1 diluted 1/1000 (i.e. 10_1 antibody in 10ml 1% BSA PBS- T). Incubate 1 hour at room temperature.

5. Wash X3. Add 10_1 / well Peroxidase conjugated Goat anti Rabbit IgG 1:1000 (Jackson Laboratories Cat.# 111-036- 045 or equivalent supplier). Incubate 1 hour at room temperature.

6. Wash X3. Develop assay with 100_1/well ABTS/H₂O₂ substrate solution. Read OD 405 after top of curve reaches 2.0 O.D. Absorbance readings are directly proportional to the quantity of Can f 1 bound, and values are interpolated from the control curve. Notes: The Can f 1 standard, has been sub-standardized against the WHO/IUIS International Reference Preparation for Dog Dander (NIBSC code 84/685)

Bijlage 2 Totaalstof in de lucht van woningen

In deze bijlage is per woning grafisch weergegeven wat de concentratie stof was in de lucht tijdens alle afzonderlijke metingen. 'CS'=Centraal zuigprotocol, 'NS'=Normaal zuigprotocol, 'voor'=30 minuten voor het zuigprotocol, 'tijdens'=30 minuten tijdens het zuigprotocol, 'na'=210 minuten na het zuigprotocol.

Bijlage 3 Fel d 1 in de lucht van woningen

In de 4 woningen waar een kat als huisdier aanwezig was is de per meting grafisch de hoeveelheid Fel d 1/m³ (=katallergeen) weergegeven. De hoeveelheid Fel d 1 is alleen gemeten in de monsters die zijn genomen na het zuigprotocol (210 minuten).

In de figuren is de concentratie Fel d 1 weergegeven in mU/m³. 1 mU Fel d 1 komt overeen met 4 ng Fel d 1.

Bijlage 4 Stof concentratie in de lucht van controlewoningen.

In drie woningen zonder Centraal Stofzuigsysteem is ter controle de hoeveelheid stof in de lucht op dezelfde manier als in de andere woningen in dit onderzoek gemeten. Hierbij werd ook het zuigprotocol uitgevoerd. Natuurlijk is hier alleen het 'NS'-protocol uitgevoerd.

All-Vac Technology.NL