

Työsuojelurahasto

Hanke 116050, Post Doc stipendi, Janne Atosuo

Sisäilmavaurioiden nopea havainnointi, kokonaistoksisuusmittausten korrelaatio
työntekijöiden terveysvasteiden ja mikrobihavaintojen kanssa.

2017

Loppuraportti

Sisällysluettelo

ABSTRAKTI.....	3
Hankkeen tutkimus, tutkimustulokset ja pohdinta	4
1. Toksisuus ja oireilu.....	4
Yläpölyjen toksisuuden korrelaatio oireilun kanssa.....	4
Neutrofiilit koettimena ja mitokondriotoksisuus	6
Hurrevedellä (kondenssivesi) mitattu toksisuus.....	8
2. Serologiset vasteet.....	8
ELISA-testit, Itiöspesifiset vasta-aineet (IgA, IgG ja IgM)	8
Seerumispesifinen opsonisaatioaktiivisuus ja komplementti.....	11
Serologia ja oireilu.....	11
3. Leukosyyttien vasteet	12
Leukosyyttien pintareseptorien fenotyypitys virtausytometrillä.....	12
Spesifinen fagocytoosiaktiivisuus.....	13
4. Hankkeen merkitys	14
5. Julkaisutoiminta	15
Seminaariesitelmät ja posterit	15
Julkaisut.....	17
6. Tutkimusverkosto.....	17
7. Viitteet	17

ABSTRAKTI

Apurahahankkeen tutkimus toteutettiin Turun yliopiston biokemian laitoksen Immunokemian laboratoriossa joka on osa Marraskuussa 2016 Turun yliopistoon perustettua kliinistä tutkimusyksikkö TROSSI:a.

Toksisuus vs. oireet

Hankkeessa todettiin sisätilasta kerättyjen yläpölyjen toksisuuden (mitattu *E. coli*-lux menetelmällä) korreloivan selvästi raportoitujen kosteus- ja mikrobivaurioiden ja -ongelmien kanssa. Lisäksi toksisuustulokset korreloivat tilankäyttäjien oireiden kanssa. Kohteina olevissa kolmessa kosteus- ja mikrobivauriorakennuksessa (suuren palokunnan miehistön oleskelu- ja asuintilat, kehitysvammaisten hoitokeskus sekä suuri kerrostalo), jossa työntekijöillä ja tilankäyttäjillä oli selkeästi lisääntyneitä oireilua, *E. coli*-lux menetelmällä mitattu yläpölyn toksisuus oli huomattavasti korkeammalla tasolla kuin vertailukohteessa (kolmen palokunnan miehistön oleskelu- ja asuintilat).

Lisäksi kehitysvammaisten hoitolaitoksessa tehdyssä vertailututkimuksessa siivous ei vaikuttanut yläpölyjen toksisuuteen, laskeutunut pöly oli vauriokohteessa toksista sekä ennen siivousta että sen jälkeen. Siivous ei myöskään vaikuttanut oireiluun mikrobivaurioituneessa rakennuksessa.

Neutrofiilien käyttöä referenssisoluna *in vitro* toksisuusmittauksissa kokeiltiin varsinkin mitokondriomyrkyllisten yhdisteiden avulla. Menetelmä on hyvä mitokondriovasteen indikaattori, koska fagosytoosi-reaktio on runsaasti energiaa vaativa reaktio. Osa pölynäytteistä testattiin, *E. coli*-lux-menetelmän lisäksi käyttäen sormenpääveren neutrofiilejä näytteiden toksisuuden testaamiseen nisäkässoluilla. Vauriokohteista kerätyn yläpölyn toksisuus (mitattu neutrofiilimenetelmällä) oli huomattavasti korkeammalla tasolla kuin vertailukohteen yläpölyn.

Testit toimivat hyvin erilaisissa ympäristöissä, paloasemilla, hoitolaitoksissa ja toimistorakennuksissa.

Serologia vs. tilat

Hankkeen yhteydessä kehitettiin oma itiöspesifinen ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) -menetelmä seerumin immunoglobuliinien analysointiin. Tässä serologisessa tutkimuksessa vauriokohteiden tilankäyttäjillä (n=41) oli ryhmätasolla kohonneet itiöspesifiset IgG arvot (P=0,01) verrattuna referenssikohteiden työntekijöihin (n=30). Itiöspesifisen IgA oli hieman korkeammalla tasolla vauriokohteissa, IgM tasoissa ei ollut ryhmien välistä eroavaisuutta.

Seerumin itiöspesifisessä opsonisaatiokapsiteetissa (mitattu neutrofiiliaktiivisuutena) ei löytynyt ryhmien väliltä merkittävää eroa, vaikka arvot vauriokohteissa olivat korkeammalla. Myös seerumin komplementtisysteemin aktiivisuus oli korkeampi vauriokohteiden ryhmässä, mutta merkitsevää eroa (p=0,06) ryhmien välillä ei ollut.

Serologia vs. oireet

Kun oireet ja seerumidata yhdistettiin, kohteista riippumatta, ei suoraan saatu erottelevaa tulosta oireilevien ja ei oireilevien henkilöiden välillä.

Leukosyyttitestaukset

Tutkimuksessa keskityttiin työ- ja resurssiperusteisesti seerumivasteiden mittaamiseen ja tuoreverinäytteistä analysoitiin vain pienen koehenkilöryhmän verinäytteet.

Leukosyyttien fenotyypityksessä (virtaussytometri) vauriokohteiden henkilöiltä havaittiin muutoksia leukosyyttien pitareseptorifenotyypeissä verrattuna terveiden kohteiden työntekijöihin, sekä verrattuna bakteeri- ja virusinfektioiden aiheuttamiin vasteisiin. Erot eivät vähäisen koehenkilömäärän vuoksi olleet merkitseviä ja materiaalia on tulevaisuudessa kerättävä lisää. Olemassa oleva bakteeri- ja viruserotusmenetelmä (spesifisyys ja sensitiivisyys yli 95%) perustuu normaaliin diagnostiseen käytäntöön, jossa suuresta näytemateriaalista (n>>100) etsitään raja-arvot jotka erottavat sairaan terveestä.

Pienestä otoksesta verinäytteitä analysoitiin pahiten oireilevien henkilöiden (n=16) fagosytoosiaktiivisuusarvoja ja verrattiin niitä terveiden, oireettomien henkilöiden (n=12) arvoihin. Ryhmätasolla merkittäviä eroavaisuuksia ei löytynyt, mutta alhaisimmat aktiivisuudet löytyivät kosteus- ja mikrobivauriokohteissa altistuneiden ja oireilevien joukosta.

Hankkeen tutkimus, tutkimustulokset ja pohdinta

1. Toksisuus ja oireilu

Yläpölyjen toksisuuden korrelaatio oireilun kanssa

Hanke aloitettiin suunnitelmien mukaisesti huhtikuussa 2016 kohteiden valinnalla. Professori Tuula Putuksen palokuntaprojektista valittiin ensimmäiset kohteet, joista päätettiin kerätä näytteet. Kohteiksi valikoitui Etelä-Suomen alueelta neljän palokuntarakennusta (Taulukko 1), joista yksi vakavasti mikrobivaurioinen (V1) ja kolme ns. tervettä referenssirakennusta (R1, R2 ja R3). Kohteista tutkittiin vain miehistön asuin- ja oleskelutilat.

Vauriopaloaseman oleskelutiloista löytyi mikrobitutkimuksessa haitallisia ja potentiaalisesti toksineja tuottavia mikrobeja, mm. *Streptomyces* lajikkeita. Kohteet valikoituivat myös oirekyselyjen [1,2] perusteella, sillä vauriokohteen henkilökunta raportoi kosteus- ja homevaurioihin liittyviä oireita ja tuntemuksia huomattavasti vertailukohtetta enemmän. Paloasemilla vierailtiin keräämässä pöly-, kondenssivesi- ja seeruminäytteitä. Vierailuja tehtiin useampia kertoja, jotta tarvittava määrä näytteitä saataisiin eri työvuoroista. Paloasemille saavuttiin aina aamulla kello 8.00, jolloin vanha vuoro vapautui ja uusi saapui töihin. Kohteiden työntekijät osallistuivat oirekyselyyn ja vapaaehtoisilta kerättiin verinäytteet.

Palokunnat:

Vauriorakennus 1 (V1):

59 pölynäytettä
7 kondenssivesinäytettä
26 seeruminäytettä

Referenssirakennus 1 (R1):

102 pölynäytettä
8 kondenssivesinäytettä
11 seeruminäytettä

Referenssirakennus 1 (R2):

66 pölynäytettä
6 kondenssivesinäytettä
12 seeruminäytettä

Referenssirakennus 1 (R3):

86 pölynäytettä
4 kondenssivesinäytettä
7 seeruminäytettä

Lisäksi tutkimuskohteiksi valikoitui suurehko vammaisten hoitolaitos (V2) (Taulukko 1) jossa todettiin vakava kosteus- ja mikrobivaurio ja jossa oirekyselyt kertoivat vakavasta oireilusta. Tästä kohteesta kerättiin pölynäytteet samoista näytesteistä kahteen kertaan, siis ennen ja jälkeen siivouksen ja tutkittiin vaikuttaako siivous vauriokohteeseen uudelleen kerääntyvien yläpölyjen toksisuuteen. Kohteen työntekijät osallistuivat oirekyselyyn, mutta heiltä ei kerätty verinäytteitä.

Vauriorakennus 2 (V2):

86 (42 + 42) pölynäytettä

Lisäksi tutkimuksen immunologisessa osassa käytettiin vauriokohteena suurta alkukevällä 2016 tutkittua suurta turkulaista kerrostaloa (V3) (Taulukko 1), jossa selkeästi sokkoutetulla tutkimuksella löydettiin toksisuutta paikoista, jotka olivat pahiten mikrobien saastuttamia ja joissa asukkaat saivat pahimmat oireet.

Vauriorakennus 3 (V3):

414 pölynäytettä (vain vesifaasin näytteet)
18 seeruminäytettä
10 EDTA verinäytettä

Muut huhti-marraskuussa 2016 otetut referenssinäytteet, joita käytetään testijärjestelmien pystytykseen ja validointiin, mutta joista ei ole vastaavaa rekisteröityä tutkimusdataa kuten virallisissa kohderakennuksissa.

67 pölynäytettä vauriokohteista
59 pölynäytettä terveistä taloista
49 seeruminäytettä

Tutkimushankkeen päätavoitteena oli tutkia kosteus ja homeongelmaisten suurten työpaikkarakennusten ja niiden käyttäjien oireilua ja sen korrelaatiota sisäilman ongelmiin. Tutkimuksessa verrattiin *E. coli*-lux toksisuustestin [3-5] tulosta mikrobien viljelymenetelmien tuloksiin ja em. mittareita verrattiin rakennusta käyttävien henkilöiden oireisiin ja objektiivisiin immunologisiin vasteisiin.

Toksisuusmittauksissa tarkoituksena oli saada kerättyä mahdollisimman kattava näytemateriaali, josta *E. coli*-lux menetelmällä mitattua yläpölyn toksisuutta voitiin verrata mahdollisimman laajaan oire- ja terveystietokyselyyn.

Lisäksi kohteessa V2 haluttiin testata vaikuttaako siivoaminen kosteus- ja mikrobivaurion aiheuttamaan sisäilman toksisuuteen ja/tai oireiluun vähenemiseen.

Vauriokohteissa (V1, V2 ja V3) toksisuus oli selkeästi korkeammalla tasolla kuin referenssikohteissa (R1, R2 ja R3) (Taulukko 1). Vaikka referenssikohteista löytyi toksisia näytteitä, edustavat ne lähinnä taustaa, jota aina pölyn ollessa kysymyksessä, syntyy.

Myös oireilu oli vauriokohteissa korkeammalla tasolla (Taulukko 2 ja 3) verrattuna referenssikohteisiin. Taulukon 2 kohteiden henkilöiden seeruminäytteet olivat serologisen tutkimuksen pääasiallinen kohde.

Taulukko 1: Kohteista kerätyt yläpölynäytteet ja niistä saadut tulokset *E. coli*-lux menetelmällä mitattuna [V2 kohteen kaksi eri tulosrivä tarkoittavat (1.) ennen siivousta 16.4 otetut näytteet ja (2.) siivouksen jälkeen 1.12 kerätyt näytteet] (ND = no data)

Kohde	Näytemäärä (lkm)	Toksisia (lkm)/Vesifaasi (lkm)	Toksisia (lkm)/Orgaaninen faasi (lkm)	Yhteensä toksisia (lkm) (%)
V1	59	15/30	9/29	24 (40,7 %)
V2 (1.)	42	16/21	10/21	26 (61,9 %)
V2 (2.)	42	17/21	9/21	26 (61,9 %)
V3	414	82/414	ND	82 (19,8 %)
R1	102	5/51	0/51	5 (4,9 %)
R2	66	3/33	2/33	5 (7,5 %)
R3	86	3/43	7/43	10 (11,5 %)

Taulukko 2: Vauriokohteista V1 ja V3 sekä referenssikohteista R1, R2 ja R3 saatuja työntekijöiden oirekyselyjen tuloksia.

V1 (23 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	39 %	9
nuha	30 %	7
käheys	44 %	10
kuiva yskä	30 %	7
silmäoireet	23 %	5
V3 (18 henkilöä)		Henkilö (lkm)
tukkoisuus	44 %	8
nuha	44 %	8
käheys	22 %	4
kuiva yskä	33 %	6
silmäoireet	28 %	5
V koonti (41 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	42 %	17
nuha	37 %	15
käheys	34 %	14
kuiva yskä	32 %	13
silmäoireet	24 %	10

R1 (11 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	18 %	2
nuha	5 %	1
käheys	0 %	0
kuiva yskä	0 %	0
silmäoireet	0 %	0
R2 (12 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	17 %	2
nuha	8 %	1
käheys	17 %	2
kuiva yskä	8 %	1
silmäoireet	0 %	0
R3 (7 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	0 %	0
nuha	0 %	0
käheys	14 %	1
kuiva yskä	14 %	1
silmäoireet	0 %	0
R koonti (30 henkilöä)	(%)	Henkilö (lkm)
tukkoisuus	13 %	4
nuha	7 %	2
käheys	10 %	3
kuiva yskä	3 %	1
silmäoireet	0 %	0

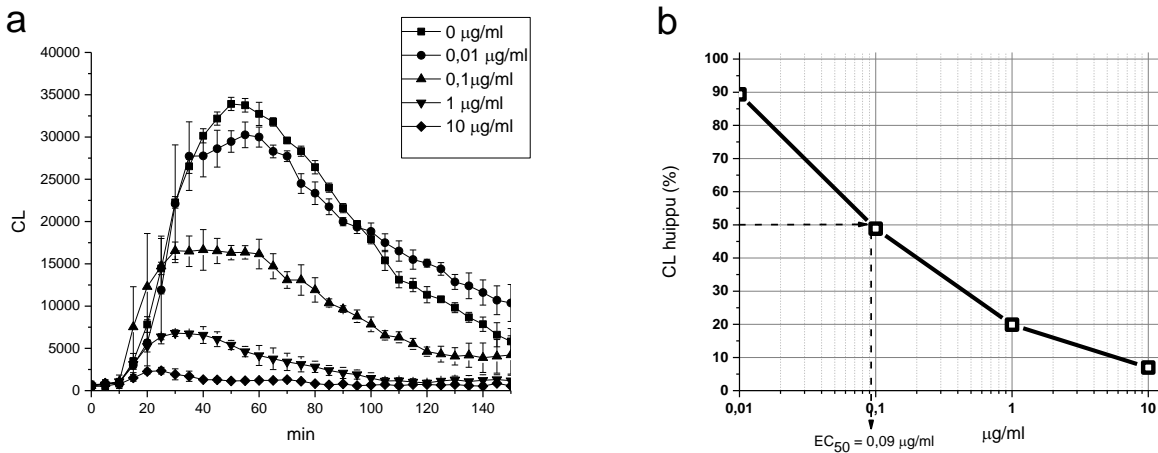
Taulukko 3: Vauriokohteen V2 työntekijöiden oirekyselyjen tuloksia ennen ja jälkeen siivouksen

V2	ennen siivousta (%)	henkilö (lkm)	yläpölysiivouksen jälkeen (%)	henkilö (lkm)
tukkoisuus	53 %	9	51 %	9
nuha	26 %	4	43 %	8
käheys	50 %	9	44 %	8
kuiva yskä	31 %	5	36 %	6
silmäoireet	47 %	8	31 %	5

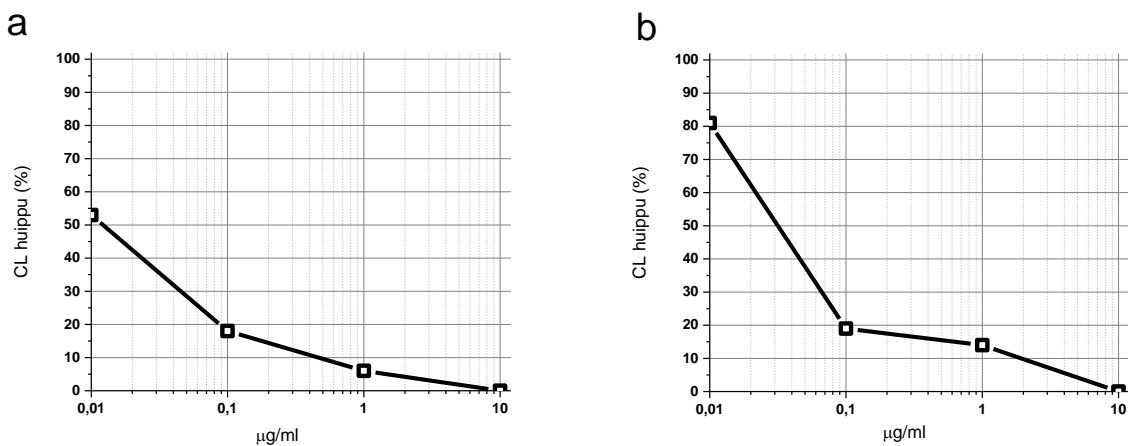
Neutrofiilit koettimena ja mitokondriotoksiisuus

Osa yläpölyistä testattiin myös referenssikoettimella, eli ihmisen perifeerisen verenkierron neutrofiileillä. Menetelmä reagoi varsinkin mitokondriomyrkyllisyyteen [6-9], koska mitattava kemiluminesenssisignaali tulee suoraan fagosytoosireaktiosta [10-14]. Fagosytoosi on paljon energiaa tarvitsevana tapahtumana sidoksissa suoraan valkosolun (neutrofiili) mitokondriotoimintaan.

Testauksessa kokeiltiin ensin puhtaiden mitokondriomyrkyjen (Kuva 1) vaikutusta neutrofiiliaktiivisuuteen. Antimysiini A (Sigma Aldrich) on *Streptomyces*-bakteerien (sädesienet) [8] tuottama antibiootti, joka inhiboi mitokondrion elektronisiirtoketjun kompleksin III toiminnan, lamauttaen soluhengityksen ja siis solun ATP tuotannon.



Kuva 1: Mitokondriomyrky antimysiini A:n vaikutus ihmisen sormenpäáveren neutrofiilien fagosytoosiaktiivisuuteen. Kuvassa **a** vaikutus kemiluminesenssikinetiikkaan. Arvot kolmen mittauskaivon keskiarvo ja STDV. Kuvassa **b** Antimysiini A:n annosvasteet kemiluminesenssin huippuarvoihin. Kuvassa **b** 0 µg/ml annosvaste, eli pelkkien neutrofiilien vaste määriteltiin 100 %:ksi.



Kuva 2: Mitokondriomyrkyjen valinomysiinin (**a**) ja kereulidi-toksiinin (**b**) vaikutus ihmisen sormenpäáveren neutrofiilien fagosytoosiaktiivisuuteen. Kuvissa 0 µg/ml annosvaste, eli pelkkien neutrofiilien vaste oli määritelty 100 %:ksi.

Myös valinomysiini (*Streptomyces*-lajit) (Sigma Aldrich) (Kuva 2) ja kereulidi-toksiini (*Bacillus cereus*) (Wako laboratory chemicals) (Kuva 2), kummatkin antibiootteja, joiden vaikutus nisäkässoluissa kohdistuu mitokondrioihin, laskivat neutrofiilien kemiluminesenssisignaalia. Valinomysiini ja kereulidi-toksiini tuhoavat mitokondrion kalvopotentialin ja sitä kautta pysäyttävät hengitysketjun toiminnan. Mitokondriotoksiineja löytyy myös kosteus- ja mikrobivauriokohteista.

Ongelmana puhtaiden aineiden testauksessa oli niiden huono liukoisuus vesifaasin analyysipuskureihin, joita joudutaan solujen kanssa työskennellessä käyttämään. Vaikka tämä on otettu tuloksissa huomioon, näiden toksiinien todellinen vaikutus saattaa olla kuvien 1 ja 2 vaikutusta tehokkaampaa.

Menetelmää testattiin käytännössä siten, että kohteesta jossa tiedettiin olevan runsaasti sädesienesiintymiä. Terveen koehenkilön neutrofiilejä altistettiin kerättyjen pölyjen uutoksille. Pölyjen analyysi on haastavaa neutrofiilien avulla, koska osa näytteuutokseen jääneestä partikkeleista aktivoi neutrofiilejä. Kymmenestä näytepisteestä, jotka kaikki olivat *E. coli-lux* menetelmällä toksisia, testattiin neutrofiilitestillä pölyuutosten toksisuus. Näistä viidessä oli havaittu sädesienesiintymiä mikrobiologisen tutkimuksen yhteydessä (Taulukko 4).

Taulukko 4: Yläpölynäytteiden (10 kpl) testaus sormenpäáveren neutrofiileillä. *E. coli*-luxmenetelmällä kaikki taulukon kymmenen näytettä olivat toksisia. EC50 arvo määritellään Neutrofiilien kemiluminesenssisignaalin huippuarvon laskuna 50 % kontrolliarvoon verrattuna. Toksisina pidettiin niitä näytteitä, jotka laskivat kemiluminesenssin huippuarvoa referenssinäytteeseen verrattuna

Näyte	<i>E. coli</i> - lux EC50 (µg pölyä/ml)	Sädesienesiintymä	Neutrofiili EC50 (µg pölyä/ml)
1	< 8	Kyllä	>500
2	14	Kyllä	290
3	92	Kyllä	Ei toksinen
4	69	Kyllä	>500
5	77	Kyllä	422
6	94	Ei	Ei toksinen
7	< 8	Ei	>500
8	49	Ei	Ei toksinen
9	13	Ei	>500
10	79	Ei	Ei toksinen

Vaikka otos oli hyvin pieni, tuloksista on nähtävissä (Taulukko 4), että vauriorakennuksen kohdissa joissa sädesientä esiintyi, oli neutrofiileillä mitattua toksisuutta havaittavissa enemmän kuin niissä kohdissa joissa sädesientä ei esiintynyt. Bakteerisoluissa ei ole mitokondrioita, mutta silti nämä pölynäytteet olivat hyvin toksisia myös *E. coli*-lux koettimelle, eli ilmeisesti mukana on myös kombinaatio muuta myrkyllisyyttä.

Yläpölynäytteiden tarkempi kemiallinen analyysi on tulevaisuudessa välttämätöntä, jotta niiden sisältämät yksittäiset toksiinit ja varsinkin mitokondriomyrkylliset toksiinit saadaan määriteltyä.

Kemiluminesenssitestaus voidaan suorittaa myös kokoverellä, ilman leukosyyttien eristystä, esim. sormenpäáverinäytteestä. Kehitteillä on paikan päällä kohteessa suoritettavan pikatestausmenetelmä, jolla mitokondriotoksiisuus on mahdollista havaita.

Huurrevedellä (kondenssivesi) mitattu toksisuus

Kondenssivesinäytteitä kerättiin kaikista palokuntakohteista, mutta niiden antamat tulokset olivat epäselviä ja ristiriitaisia. Toksisuutta ei pystytty löytämään kaikista vauriopisteistä ja ns. puhtaat tilat saattoivat antaa valtavan toksisen vasteen. Kondenssivesikeräykseen pitäisi varautua pitämällä tilan ilmanvaihto ja käyttö minimissä muutaman päivän ajan, jonka jälkeen näytteen voidaan katsoa luotettavasti kertovan analysoidun ilman laadusta. Nämä toimenpiteet eivät kuitenkaan ole mahdollisia toimivalla paloasemalla. Palokuntakohteissa joista huurrevesinäytteitä kerättiin, oli usein tuuletusikkunat auki ja koko henkilökunta paikalla, jokapäiväisissä askareissaan.

Huurrevesisysteemin katsotaan kuitenkin olevan hyvin käyttökelpoinen toksisuusanalyysissä, kunhan näytteenkeräyskohteen olosuhteet ovat oikeat. Menetelmällä on saatu hyviä tuloksia ja sen testausta ja käyttöä jatketaan. Ilmasta kondensoidusta vedestä mitatun toksisuuden katsotaan edustavan hyvin sisäilman ”akuuttia”, sen hetkistä tilannetta ja yläpölyistä mitattu toksisuus ”kroonista”, pitkäaikaista tilannetta.

Huurreveden keräämiseen käytettiin kohteissa kahta erilaista keräintä. Patentoidussa metallilaatikkokeräimessä sisäilman kosteutta kondensoiva kylmäpinta muodostetaan hiilihappojääkasetin avulla [15]. Kokeilussa olevaa sähkökäyttöistä ”retkimallia”, jota hankkeen aikana on kehitelty yhteistyössä Combi Cool Oy:n kanssa. Retkimallisissa kylmäpinta muodostetaan sähköllä toimivan kylmäkoneen avulla ja laitteessa on mukana myös akku, jolloin näytteenkeräystoimintaa voidaan suorittaa myös ilman verkkovirtaa.

2. Serologiset vasteet

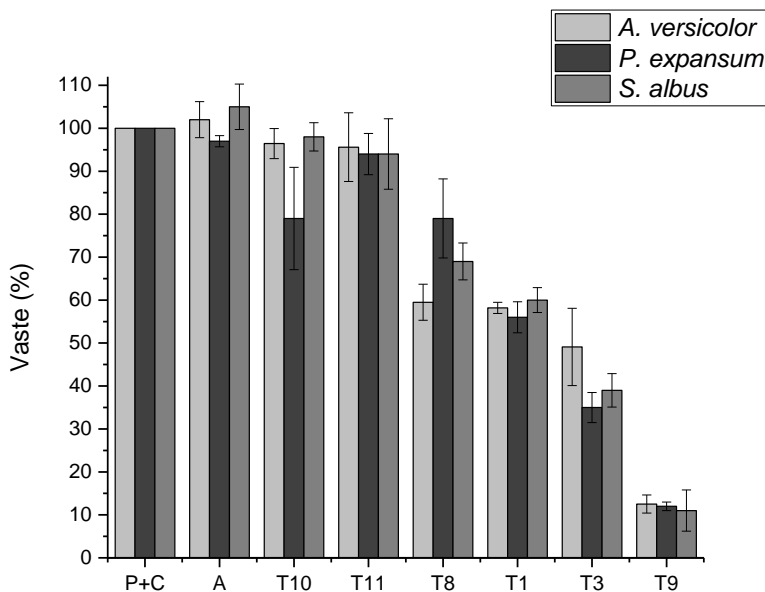
ELISA-testit, Itiöspesifiset vasta-aineet (IgA, IgG ja IgM)

Kesäkuun 2016 aikana laboratorioon pystytettiin itiöspesifinen IgA, IgG ja IgM -ELISA (Enzyme linked immuno sorbent assay) – analyysisysteemi, jonka optimointi aloitettiin käyttämällä antigeeneinä kokonaisia

itiöitä. Itiöiden ja niistä irronneen pölyn tiedetään olevan pääasiallinen altistumistekijä mikrobien vaurioittamassa tilassa [16-18]. Tutkittavana antigeeninä käytettiin *Streptomyces albus* (bakteeri, sädesieni) sekä *Aspergillus versicolor* (home) ja *Penicillium expansum* (home) itiöitä, jotka itse kasvatettiin ja eristettiin [19]. Maaperäbakteeri *S. albus* saatiin lahjoituksena Turun yliopiston biokemian laitoksen Antibiotic Biosynthetic Enzymes (ABE) ryhmältä ja *A. versicolor* ja *P. expansum* Turun yliopiston aerobiologian yksiköltä.

Jo ennestään oli tiedossa, että itiöiden pintarakenne on immunologisesti ”tylsä”, eli pinnalta ei kenties löydy voimakkaasti immunogeenisiä antigeenejä ja, että eri lajien itiöiden pintarakenne on konservoitunut ja toisiinsa verrattuna hyvin samanlainen [20][21,22]. Testauksessa saatiinkin toistuvasti eri lajien itiöillä samansuuntaisia tuloksia, eli ristireagointi eri lajien itiöantigeeneille oli yleistä (Kuva 3) [23].

Testausta päätettiin jatkaa käyttämällä *S. albus* itiöitä, joita oli valmiiksi tuotettuna suuri määrä. Tuloksista on kuitenkin nähtävissä, että varsinkin kohteessa V3, jossa vauriomikrobeina oli runsaasti aktinomykeettejä ja varsinkin *S. albusta*, spesifiset IgG vasteet olivat korkeammalla tasolla kuin muissa kohteissa (data ei näkyvillä) ja siksi tulevaisuudessa on perusteltua harkita testiaineiston analyysia *Streptomyces* itiöiden lisäksi käyttäen antigeeninä myös ainakin yhtä homeitiötä.



Kuva 3: Kahdeksan testihenkilön itiöspesifiset IgG vasteet, kolmea eri itiötä vastaan. Mittauksessa P+C on positiivinen IgG kontrolli, jonka arvo on laitettu 100 %:ksi. Palkissa kolmen mittauskaivon keskiarvot STDV.

Testauksessa kokeiltiin myös eristettyjä pinta-antigeenejä, mutta koska niillä saatiin samansuuntaisia tuloksia kuin itiöilläkin, päätettiin varsinainen tutkimus suorittaa kokonaisilla itiöillä.

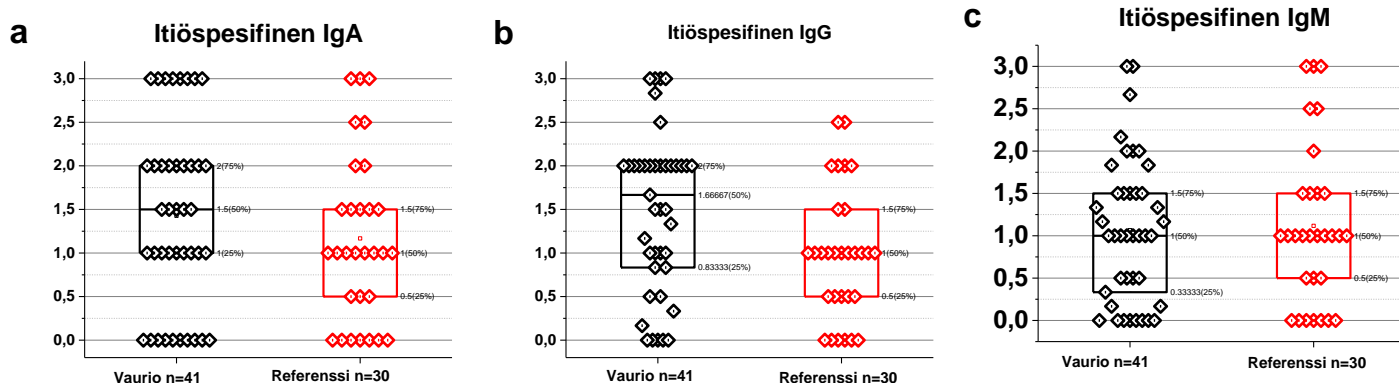
Optimoinnin yhteydessä testattiin myös erilaisia näyteseerumin käsittelyvaihtoehtoja. Komplementtisysteemin aktivaation yhteydessä [24], jonka luonnollisesti oletettiin tapahtuvan itiöiden ollessa kyseessä, itiön pintaan mitä ilmeisemmin aktivoituu komplementin komplekseja (kuten C1-kompleksi, C3-kompleksit sekä lektiini-reaktiotien kompleksit), joiden ajateltiin muodostavan steerisiä esteitä mahdollisten spesifisten vasta-aineiden kiinnittymiselle itiön pintaan. Tämän ilmiön ajateltiin vaikuttavan ainakin IgM:n sitoutumiseen, koska se pentameerinä on molekyylikooltaan suurin [3]. IgG itsessään aktivoi C1-kompleksin, joten IgG:n sitoutumiseen komplementtiaktivaation ei ajateltu vaikuttavan.

Testauksessa verrattiin komplementti-inaktivoitua seerumin (kuumennus 56 C, 30 min), EGTA:lla inaktivoitua (klassinen reaktiotie inaktiivinen) [3] sekä kokoseerumin vasta-ainevasteita kokoitiöön ja myös eristettyihin pinta-antigeeneihin. Vasteissa ei kuitenkaan löytynyt merkittäviä eroavaisuuksia ja pääasiallinen testaus päätettiin suorittaa käsittelemättömällä seerumilla.

Testianalyyseissä 123 seeruminäytteen (varsinaiset tutkimuskohteiden näytteet + ulkopuoliset seeruminäytteet) joukosta etsittiin jokaiselle kolmelle immunoglobuliiniluokalle matalat ja korkeavasteiset seeruminäytteet, joita käytettiin kunkin luokan analyyseissä positiivisina sekä negatiivisina kontrolleina. Tutkimuskohteiden tulokset jaettiin neljään luokkaan, joista 3 (korkea), 2, 1 ja 0 (matala). Toistomittauksien

tuloksista laskettiin keskiarvot ja näiden perusteella tulokset esitettiin kuvan 4 mukaisesti. Vasta-aineanalyysejä toistettiin hyvin moneen kertaan ja taulukossa olevat lukemat ovat näiden testien keskiarvoja.

Varsinaisessa testauksessa vauriokohteeksi valittiin V1 ja V3 (n=41) ja referenssikohteiksi R1, R2 ja R3 (n=30). Ryhmätasolla merkittäviä eroavaisuuksia vauriokohteiden ja referenssikohteiden henkilöiden välillä löytyi seerumin itiöspesifisestä IgG:stä (p=0,01) (Kuva 4). Itiöspesifisen IgA:n kohdalla eroavaisuus ei ollut tilastollisesti merkittävä, mutta vauriokohteissa arvot olivat keskiarvoisesti korkeammalla (Kuva 4). Itiöspesifisten IgM arvojen välillä eroa vauriokohteiden ja referenssikohteiden välillä ei ollut.



Kuva 4: Itiöspesifiset IgA (a), IgG (b) ja IgM (c) arvot. Vauriokohteiden (V1 ja V3) seeruminäytteet (n=41) on merkitty mustalla ja referenssikohteiden (R1, R2 ja R3) (n=30) punaisella. Laatikon alaviiva on 25 %, keskimäinen 50% eli mediaani ja yläviiva 75%. Ylhäällä ja alhaalla ovat MAX (3) ja MIN (0) arvot ja pikku laatikko keskiarvo. Tutkimuskohteiden tulokset jaettiin neljään luokkaan, joista 3 (korkea), 2, 1 ja 0 (matala). Toistomittauksien tuloksista laskettiin keskiarvot. Vasta-aineanalyysejä toistettiin hyvin moneen kertaan ja taulukossa olevat lukemat ovat näiden testien keskiarvoja.

Taulukko 5: Kahden kohteen V1 ja R1 tulokset ja niistä Työterveyslaitoksen (TTL) tekemät IgG ELISA mittaukset (Paneeli 7).

V1	Oma itiospesifinen IgG	TTL (paneeli 7) IgG
1	0	
2	2	
3	2	
4	1	
5	2,5	+
6	1	
7	1,5	+
8	2	+
9	2	
10	1	+
11	3	+
12	2	
13	2	+
14	1	
15	0	
16	2	+
17	2	
18	0,5	
19	0	
20	0	
21	3	+
22	2	+
23	2	+

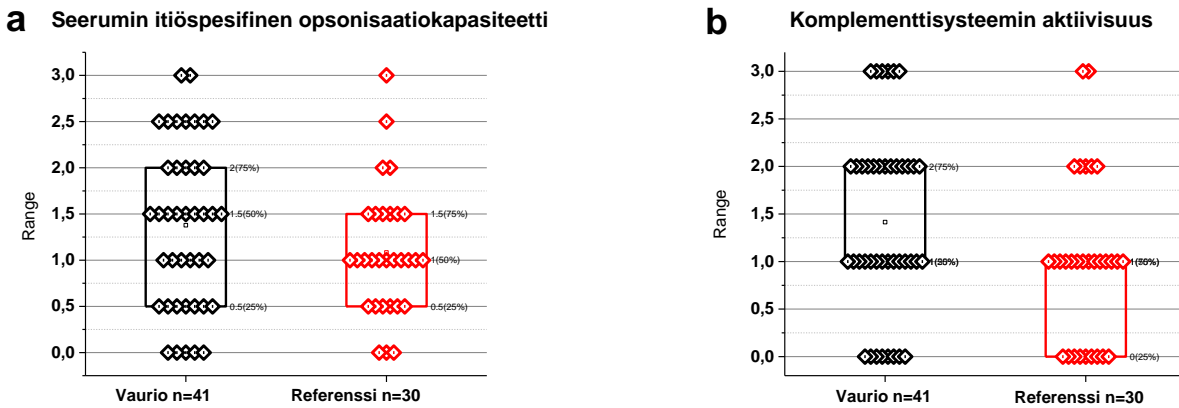
R1	Oma itiospesifinen IgG	TTL (paneeli 7) IgG
1	1,5	
2	1	+
3	0	
4	0	
5	0,5	
6	0,5	
7	0	
8	1	+
9	1	
10	2	
11	1,5	

Osa seeruminäytteistä lähetettiin testattavaksi Työterveyslaitokselle (TTL), jossa niistä tutkittiin mikrobispesifinen IgG käyttäen TTL:n paneeli 7, mikrobiantigeenejä (Taulukko 3). Tietojen mukaan TTL valmistaa antigeenin elävästä mikrobista, joten sen antigeenikoostumus on erilainen verrattuna itiön pinnan vastaaviin. Vertailu omien tulosten ja TTL:n paneeli 7 IgG:n välillä on esitetty taulukossa 5.

Seerumispesifinen opsonisaatioaktiivisuus ja komplementti

Seerumin itiöspesifisiin vasta-aineisiin liittyen, ELISA-testauksen lisäksi, seeruminäytteitä käytettiin opsonisaatiokapasiteetin mittaamiseen neutrofiiliaktiivisuuden avulla. Seerumissa mahdollisesti olevat itiöspesifiset vasta-aineet (myös komplementin komponentit) tarttuvat itiön pintaan, opsonisoiden sen. Opsonisoidun kohteen fagosytoosi on tehokkaampaa, koska neutrofiilillä on opsoniineille spesifisiä reseptoreita ja opsonisaatio näkyy kemiluminesenssimittauksissa neutrofiiliaktiivisuuden kasvuna verrattuna vähemmän spesifisiä vasta-aineita sisältävään seerumiin [14]. Myös tätä menetelmää kokeiltiin seerumilla, josta komplementtiaktiivisuus oli inaktivoitu, mutta merkittäviä eroja ei löydetty.

Seerumin itiöspesifisessä opsonisaatiokapsiteetissa ei löytynyt ryhmien väliltä merkittävää eroa, vaikka vauriokohteissa arvot olivat korkeammalla (Kuva 5).



Kuva 5: Seerumin itiöspesifisessä opsonisaatiokapsiteetissa (a) (mitattu neutrofiiliaktiivisuutena) ei löytynyt ryhmien väliltä merkittävää eroa, vaikka arvot vauriokohteissa olivat korkeammalla. Myös seerumin komplementtisysteemin aktiivisuus (b) oli korkeampi vauriokohteiden ryhmässä, mutta merkitsevää eroa ($p=0,06$) ryhmien välillä ei ollut.

Seerumin komplementtisysteemin aktiivisuus oli korkeampi vauriokohteiden ryhmässä, mutta merkitsevää eroa ($p=0,06$) ryhmien välillä ei ollut. Komplementtiaktiivisuus mitattiin laboratoriossa kehitetyllä mittausmenetelmällä [25], jossa seerumin komplementtiaktiivisuutta mitattiin käyttämällä koettimena *E. coli*-lux bakteerisoluja.

Seerumin tutkimuksissa on tulevaisuudessa selvitettävä IgG alaluokkien mahdollinen esiintyminen. Vaikka IgG arvot olivat vaurior ryhmässä merkitsevästi koholla (Kuva 4), ei fagosytoosiarvot olleet (Kuva 5) suhteessa yhtä korkealla. Opsonisaatiossa IgG on merkittävin immunoglobuliini ja merkittävimmät IgG alaluokat ovat IgG1 ja IgG3, joille neutrofiileillä on omat reseptorinsa [3]. Korkeat seerumin IgG arvot vauriokohteissa saattavat johtua IgG2 tai IgG4 luokan vasta-aineita. IgG2 aktivoi myös komplementin klassista reaktiotietä, joten osa kohonneista komplementtiaktivaatioista voi selittyä tällä, tosin IgG1 ja IgG3 ovat huomattavasti IgG2:stä tehokkaampia komplementin aktivoijia[3].

Serologia ja oireilu

Kun oireilua ja seerumitutkimusdataa analysoitiin kohteista riippumatta, siis kun verrattiin oireilevia henkilöitä ja heidän seerumivasteitaan, ei vahvoja korrelaatioita oireiden kanssa löytynyt. (Taulukko 6).

Taulukko 6: Seerumitulosten ja oireilun suora vertailu. Positiiviseksi luokiteltiin ne, joiden arvot edellä kuvatussa luokituksessa olivat ≥ 2 , muut luokiteltiin negatiivisiksi. **Spesifisyys** tarkoittaa oikeaa positiivista tulosta siis, korkea arvo ja oireita ja **sensitiivisyys** oikeaa negatiivista tulosta, siis matala arvo ja ei oireilua.

	IgA	IgG	IgM	Ops	Kompl.
Spesifisyys (%)	59	72	41	44	50
Sensitiivisyys (%)	67	74	30	61	62

Seerumitestaukset eivät suoraan antaneet erottelevaa tulosta. Testaamiseen tarvitaan tulevaisuudessa todennäköisesti useamman testin kombinaatiota (esim. itiöspesifinen IgG, IgA ja komplementin aktivaatio), jossa saatujen tulosten pisteet summataan tai muuten otetaan kumulatiivisesti huomioon. Varsinainen ”altistumisparametri” on mielestämme löydettävissä, mutta lisää datan käsittelyä sekä uusia tutkimuksia tarvittaisiin, jotta varsinainen mittari saataisiin löydettyä ja käytäntöön. Todennäköisesti yksilöllisen altisteen todentamiseen tarvitaan osatekijäksi myös leukosyyttitestausta, esim. virtausytometrillä tehtävää pintareseptorifenotyypitystä tai fagosytoosiaktiivisuutta.

Rakennuksen ja oireilun yhdistäminen on yksilötasolla haastavaa, koska varmuudella ei voida koskaan tietää, ovatko oireet peräisin juuri kyseisestä rakennuksesta. Jos oireilevia henkilöitä on kohteessa paljon, voidaan kuitenkin epäillä, että kohde on vaurioitunut.

3. Leukosyyttien vasteet

Vaikka immunologisessa tutkimuksessa keskityttiin pääasiallisesti seerumivasteita mittaavien menetelmien käyttöön ja kehittämiseen, tehtiin kohteiden tilankäyttäjien verinäytteistä alustavia, soluvastetta mittaavia testejä. Ideana tutkimuksessa on etsiä kosteus- ja mikrobivaurion aiheuttamien immunologisen muutoksen löytäminen. Soluvasteiden mittaaminen vaatii tuoreen verinäytteen, eikä soluja voi pakastaa myöhempää käyttöä varten, kuten seerumia.

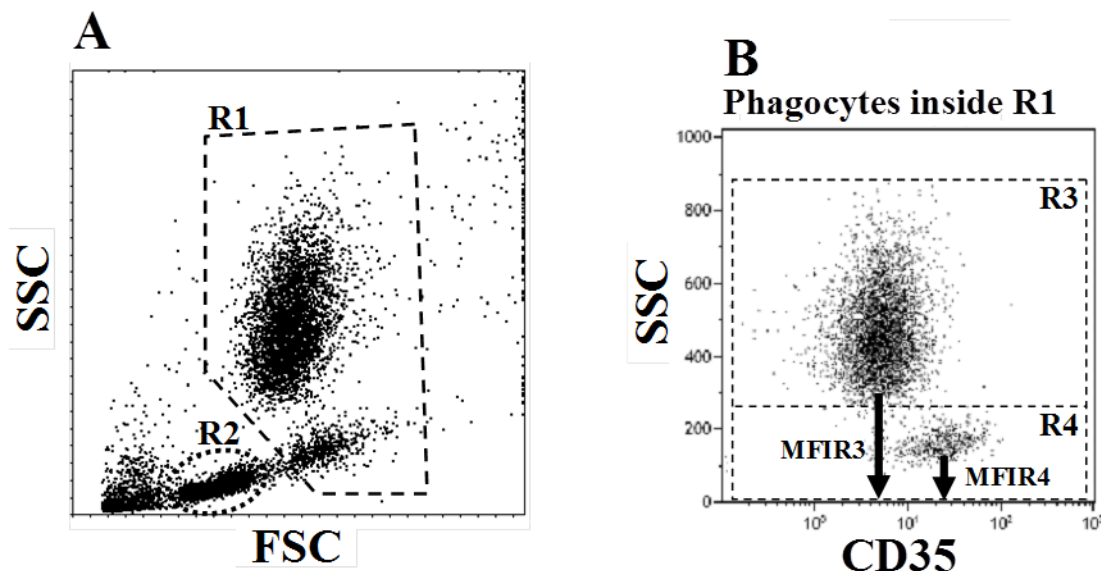
Leukosyyttien pintareseptorien fenotyypitys virtausytometrillä

Leukosyyttien fenotyypitys pintareseptorien perusteella, jonka perusteella mikrobi- ja kosteusvaurioiden aiheuttamat muutokset saattavat erota terveistä kontrolleista sekä bakteeri ja virusinfektioiden vastaavasta. Olemme kehittäneet menetelmän bakteeri-infektioiden erottamiselle virusinfektioista [26-29] Käytössämme on laaja aineisto bakteeri- ja virusinfektioiden sekä joidenkin tulehdustautien aiheuttamista reseptorimuutoksista, joihin vertaamalla saatamme löytää muutokset, jotka ovat aiheutuneet homeinfektioista ja kosteusvaurioista.

Menetelmä perustuu verinäytteen valkosolujen leimaamiseen monoklonaalisilla vasta-aineilla ja analysointiin virtausytometrialla. Leukosyyttipopulaatiosta mitataan materiaalin keräysvaiheessa laaja kirjo reseptoreita, CD35, CD64, CD46, CD55, CD59, CD28, CRP, CD11b ja MHC I ja analyysi tapahtuu statistisesti, erilaisten reseptorien ilmenemisen suhteista. Varsinaiseen menetelmään valikoituu vain muutama reseptori.

Valmis menetelmä on nopea, sillä vastaus saadaan alle tunnissa verinäytteen vastaanottamisesta. Bakteeri- ja virusinfektion erotusdiagnostiikassa menetelmän spesifisyys ja sensitiivisyys ovat yli 95 % ja se erottaa myös tulehdustaudit infektiosta.

Kosteus- ja mikrobivaurioaltistuksen erotuksessa data on toistaiseksi vielä hyvin vähäistä (n=16) ja lisää matutkimusmateriaalia tarvitaan, jotta menetelmä saadaan tulevaisuudessa validoitua. Hankkeessa henkilöiltä analysoitiin CD35 (komplementtireseptori 1) sekä CD64 (FcγR1) ilmenemisiä. Tulokset antavat aiheen olettaa, että vauriorakennusten aiheuttamat muutokset eroavat sekä terveistä kontrolleista että bakteeri- ja virusinfektioiden tuloksista ja että menetelmällä kosteus- ja mikrobivauriorakennuksessa altistuneet sairastuneet voitaisiin tunnistaa.

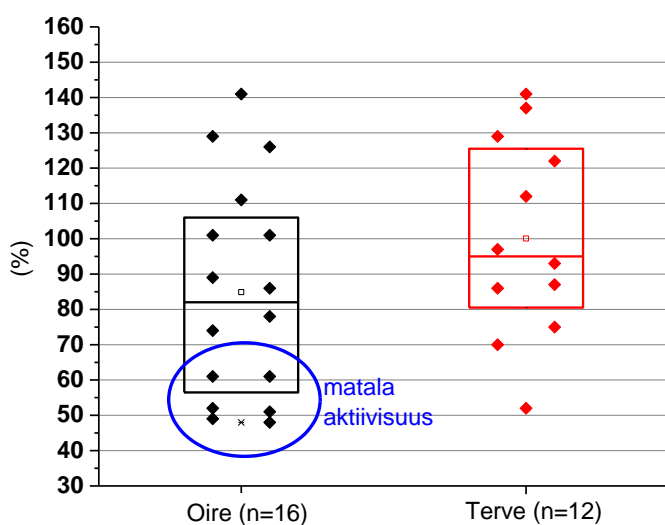


Kuva 6: Erään testihenkilön DC35 ilmenemisprofiili kuvan A) R1- rajaus sisältää granulosityit (ylempi populaatio) ja monosyytit (alempi populaatio). Näistä on oikeassa kuvassa erotettu CD35 ilmeneminen.

Spesifinen fagosytoosiaktiivisuus

Homemyrkkujen tiedetään, omien tutkimustemme perusteella pahimmillaan laskevan yksilön immuunipuolustuksen aktiivisuutta [30]. Tämä on todettu eläinkokeissa, joissa rottia altistettiin ravinnon kautta mykotoksiineille [30]. Tässä tapauksessa altistuminen tapahtuu todennäköisesti ilmaitse, joten vaikutukset eroavat aikaisemmista tutkimuksista [31].

Materiaalista etsittiin pahiten oireilevat henkilöt, joilta oli mahdollisuus kerätä verinäytteet (n=16) ja heiltä testattiin neutrofiilien aktiivisuus kemiluminesenssireaktiolla. Eristetyt neutrofiilit aktivoitiin tsymosaanilla ja mitatut emissiomaksimit jaettiin solujen lukumäärällä, jotta saatiin tieto spesifisestä aktiivisuudesta (aktiivisuus/solu) (Kuva 7). Kontrolliryhmän (n=12), eli terveiden henkilöiden keskiarvo määritettiin 100 % ja kaikkia verrattiin tähän arvoon.



Kuva 7: Testattujen henkilöiden neutrofiilien spesifiset fagosytoosiaktiivisuudet. Kontrolliryhmän Terve (n=12), eli terveiden henkilöiden keskiarvo määritettiin 100 % ja kaikkia verrattiin tähän arvoon. Vaurioryhmän Oire (n=16) kohdalla erottui hyvin alhaisen aktiivisuuden omaava ryhmä, joka on ympäröity sinisellä merkinnällä.

Yleensä aktiivisuudessa on suuriakin yksilöiden välisiä eroavaisuuksia, mutta matalan aktiivisuuden omaavien henkilöiden suuri osuus jo näin pienessä otoksessa on merkki siitä, että vauriokohteilla on vaikutusta tilankäyttäjien immuunipuolustuksen toimintaan. Taulukossa 7 on esitetty niiden henkilöiden serologiset mittausarvot, joiden veren neutrofiilien spesifinen fagosytoosiaktiivisuus oli laskenut. Tulokset eivät poikkea merkittävästi terveen henkilön arvoista.

Taulukko 7: Kuvassa 7 sinisellä ympyröityjen oireellisten (O) henkilöiden (n=6 punainen) ja yhden terveen (T) (n=1 vihreä) henkilön serologisten testien tulokset eivät poikkea toisistaan merkittävästi. Tutkimuskohteiden tulokset jaettiin neljään luokkaan, joista 3 (korkea), 2, 1 ja 0 (matala) (ks. Kuva 4).

Serologia	O1	O2	O3	O4	O5	O6	T1
IgA	1	0	2	2	1	1	1
IgG	1	2	3	0	1	3	2
IgM	2	1	0	3	2	1	1
Ops	0	1	2	0	2	0	1
kompl.	3	1	1	1	2	2	3

4. Hankkeen merkitys

Tutkimushypoteeseina olivat työelämän ja yhteiskunnan kannalta kustannuksia aiheuttavien ongelmien ja sairauksien mahdollinen yhteys sisäilma-altisteisiin ja sisäilmaongelmien korjaustoimiin sekä toistaiseksi kiistanalaisten kroonisten sairauksien ja oireyhtymien mahdollinen yhteys sisäilma-altistukseen suomalaisilla työpaikoilla.

Hankkeessa testatun sisäilman kokonaistoksisuutta yläpölyistä mittaavan *E. coli*-lux menetelmän tulokset korreloivat erittäin hyvin tilojen kosteusvaurioiden ja tilankäyttäjien oireilun kanssa. Materiaalin vahvuutta lisää se, että vertailevaa tutkimusta tehtiin jo hankkeessa TSR 114151, jossa kaikissa vauriokohteissa työntekijöiden oireet olivat huomattavasti korkeammalla tasolla ja toksisuusmittauksissa pölynäytteet huomattavasti toksisempia. Molemmissa hankkeissa on toksisuusmittausmenetelmällä selkeästi pystytty löytämään vauriokohteet ja erottelamaan ne terveistä referenssikohteista.

Nyt kohteina olevissa kolmessa kosteus- ja mikrobivauriorakennuksessa (suuren palokunnan miehistön oleskelu- ja asuin tilat, kehitysvammaisten hoitokeskus sekä suuri kerrostalo), jossa työntekijöillä ja tilankäyttäjillä oli selkeästi lisääntynyttä oireilua, *E. coli*-lux menetelmällä mitattu yläpölyn toksisuus oli huomattavasti korkeammalla tasolla kuin vertailukohteessa (kolmen palokunnan miehistön oleskelu- ja asuin tilat).

Lisäksi hoitolaitoksessa tehdyssä vertailututkimuksessa siivous ei vaikuttanut yläpölyjen toksisuuteen, laskeutunut pöly oli vauriokohteessa toksista sekä ennen siivousta että sen jälkeen. Siivous ei myöskään vaikuttanut oireiluun mikrobivaurioituneessa rakennuksessa.

Menetelmä tarjoaa nopean ja kustannustehokkaan priorisointimenetelmän kosteus- ja mikrobivaurioiden havainnointiin, joka hyödyntää suoraan suomalaista työelämää. Menetelmällä voidaan nopeasti tutkia mahdolliset epäillyt vauriokohteet ja priorisoida niistä suurimman tutkimus- ja korjaustarpeen omaavat kohteet. Menetelmä indikoi myös kohteen aiheuttaman altistuksen tilankäyttäjille ja näin välttämään mm. työntekijöiden tarpeettomalta altistukselta. Mahdollisten saneerauksien jälkeen kynnys uudelleen testaamiseen laskee, koska menetelmä on nopea ja kustannustehokas. Testi toimii hyvin erilaisissa ympäristöissä, paloasemilla, hoitolaitoksissa ja toimistorakennuksissa.

Oireilun ja sisäilman kokonaistoksisuuden korrelaatio, kuten myös se, että vauriokohteiden tilankäyttäjien verinäytteistä näkyi selkeitä merkkejä immunologisten vasteiden muutoksesta, hälventää epäilyksiä siitä, että oireet olisivat pääasiassa psykosomaattisten tekijöiden aiheuttamia.

Referenssimittauksissa käytettiin neutrofiilimenetelmää, joka on hyvä mitokondriovasteen indikaattori. Vauriokohteista, joissa oli runsaasti sädesieniä, ja siis todennäköisesti korkeat mitokondriotoksiinipitoisuudet, mittatiin neutrofiilimenetelmällä toksisuutta, joka oli huomattavasti korkeammalla tasolla kuin vertailukohteen yläpölyn. Testissä voidaan käyttää kokoverinäytettä esim. sormenpääverinäytettä, joka mahdollistaa pikatestausmenetelmien suunnittelun. Testiä voidaan hyödyntää käytännössä kohteiden

toksisuuden toteamiseen, mutta lisätutkimusten ohessa pölynäytteiden tarkempi kemiallinen analyysi on toivottavaa.

Hankkeessa kehitettiin oma ELISA-menetelmä seerumin itiöspesifisten immunoglobuliinien analysointiin. Vauriokohteiden tilankäyttäjillä oli ryhmätasolla korkeammat IgG arvot verrattuna referenssikohteisiin. IgA oli hieman korkeammalla tasolla, IgM tasoissa ei ollut ryhmien välistä eroavaisuutta.

Seerumin itiöspesifisessä opsonisaatiokapsiteetissa arvot olivat vauriokohteissa korkeammalla ja komplementtisysteemin aktiivisuus oli kohonnut vauriokohteiden ryhmässä.

Hankkeen immunologinen tutkimusmateriaali tarjoaa uutta tietoa mikrobivaurioiden aiheuttamista immunologisista muutoksista. Yksilöiden väliset erot suuria, esim. oireiden syntymiseen tarvittavien altisteiden määrät eri ihmisten välillä saattavat olla jopa tuhat kertaisia, joten lähtökohta yhtenäisen mittausmenetelmän löytämiseen on haastava. Hanke on pystynyt näyttämään, että tehdyillä tutkimuksilla on mahdollisuus löytää vasteita, joilla altistus voidaan löytää ja tulevaisuudessa myös tuke diagnostiikkaa.

Seerumitestien yhteydessä tutkittiin itiöantigeenien rakennetta ja immunogeenisyyttä. Seeruminäytteiden ja uusien antigeenipreparaattien avulla tehtävässä lisätutkimuksessa, uskotaan löytyvän tarkka erotteleva menetelmä altistuksen toteamiseen. Rakennuksen ja oireilun yhdistäminen on yksilötasolla haastavaa, koska varmuudella ei voida koskaan tietää, ovatko oireet peräisin juuri kyseisestä rakennuksesta. Jos oireilevia henkilöitä on kohteessa paljon, voidaan kuitenkin epäillä, että kohde on vaurioitunut.

Tutkimuksessa keskityttiin työ- ja resurssiperusteisesti seerumivasteiden mittaamiseen ja tuoreverenäytteistä analysoitiin vain pienen koehenkilöryhmän näytteet. Seerumin käytössä etuna on helppo käsittely ja säilyvyys. Saatuja tuloksia voidaan tutkia uudelleen pakkaseen säilytyillä näytteillä, jos esim. uusia menetelmiä tai vertailutarvetta ilmenee.

Leukosyyttien fenotyyppityksessä vauriokohteiden henkilöiltä havaittiin muutoksia pitäreseptorifenotyypeissä verrattuna terveiden kohteiden työntekijöihin, sekä bakteeri- ja virusinfektioiden aiheuttamiin vasteisiin. Erot eivät vähäisen koehenkilömäärän vuoksi olleet merkitsevä ja materiaalia on lisätutkimuksessa kerättävä lisää. Olemassa oleva bakteeri- ja viruserotusmenetelmä (spesifisyys ja sensitiivisyys yli 95 %) perustuu normaaliin diagnostiseen käytäntöön, jossa suuresta näytemateriaalista ($n \gg 100$) etsitään raja-arvot jotka erottavat sairaan terveestä.

Solunäytteistä analysoitiin pahiten oireilevien henkilöiden fagosytoosiaktiivisuusarvoja ja verrattiin niitä oireettomien henkilöiden arvoihin. Alhaisimmat aktiivisuudet löytyivät vauriokohteissa altistuneiden ja oireilevien joukosta. Löytyi myös selkeästi erottuva ryhmä koehenkilöitä, joilla oli merkittävästi laskeneet neutrofiiliaktiivisuudet. Ryhmä on yksi lisätutkimuksen kiinnostavista lähtökohdista.

Kosteus- ja mikrobiongelmat ovat vakavuutensa ja yleisyytensä takia hyvin kalliita suomalaiselle työelämälle ja koko yhteiskunnalle. Niiden synty- ja vaikutusmenetelmistä kiistellään ja mielipiteitä löytyy laidasta laitaan. Niistä kärsivien ihmisten kirjo on laaja ja hyvin moninainen. Hankkeen aikana ongelmien selvittämiseen ja ratkaisun hakemiseen on otettu merkittävä askel, sillä hanke on ollut osa Turun yliopiston lääketieteellisen tiedekunnan työterveyshuollon ja ympäristölääkätieteen oppiaineen ja matemaattis-luonnontieteellisen tiedekunnan biokemian laitoksen Immunokemian Laboratorion marraskuussa 2016 perustettua kliinistä tutkimusyksikkö **TROSSI**a. Yksikön tavoitteena on tutkia työ- ja elinympäristön altisteiden terveysvaikutuksia. Työ- ja asuinympäristönsä kohdistuvien mittauksien ja kliinisten tutkimusten avulla pyritään saamaan lisänäyttöä mekanismeista, joiden epäillään liittyvän mikrobiologisiin, kemiallisiin ja fysikaalisiin altisteisiin.

<http://www.utu.fi/fi/yksikot/med/yksikot/tyoterveyshuolto/trossi/Sivut/home.aspx>

5. Julkaisutoiminta

Seminaariesitelmät ja posterit

Esitelmä: **Assessing the indoor air toxicity from the condensed water**

Vera Hjält Seminaari, Turku 17.5.2016

Esitelmä/Posterit: **Assessing the indoor air toxicity from the condensed water** (Janne Atosuo, Eetu Suominen, Elisa Aattela, Esa-Matti Lilius)

Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3. – 8.7.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Esitelmä/Posteri: ***E. coli*-lux test from settled dust as a new method in assessing toxicity in indoor air**
(Janne Atosuo, Eetu Suominen, Liisa Vilén, Esa-Matti Lilius, Jussi Kantele, Tuula Putus)
Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3. – 8.7.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Posteri: **Indoor air toxicity assessment using *E. coli*-lux**
(Eetu Suominen, Janne Atosuo, Esa-Matti Lilius)
Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3. – 8.7.2016 (Posteri ei ole liitteenä tekijänoikeudellisten seikkojen vuoksi)

Posteri: **Toxicity assessment from indoor dust using *E. coli*-lux**
(Eetu Suominen, Janne Atosuo, Esa-Matti Lilius)
Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3. – 8.7.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Posteri: **Indoor air toxicity assessments using neutrophils**
(Esa-Matti Lilius, Eetu Suominen, Janne Atosuo) Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3. – 8.7.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Posteri: **TiO₂ nanoparticles eliminate efficiently indoor air molds and bacteria** (Esa-Matti Lilius, Eetu Suominen, Janne Atosuo) Indoor Air kokous, Ghent, Belgia 3.– 8.7.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Esitelmä: **Sisäilman kokonaistoksiusmittaus**
Biokemian laitos 29.8.2016

Esitelmä: **SISÄILMATUTKIMUS – Katsaus tämänhetkiseen tilanteeseen**
(Lilius, Vilén, Atosuo)
Eduskunnan kansalaisfoorumi 13.9.2016

Esitelmä: **SISÄILMATUTKIMUS – Katsaus tämänhetkiseen tilanteeseen**
(Lilius, Vilén, Atosuo)
Ympäristöministeriön kuuleminen 21.9.2016

Esitelmä: **Neutrofiilien käyttö toksikologisten vasteiden ja altisteiden mittauksessa**
Turun Mikrobiologien Tiedeseuran syysseminaari -*tiedettä kaikille selkokielellä* 22.9.2016

Esitelmä: **Immunokemian laboratorio**
Kliinisen tutkimusyksikkö TROSSIn avajaisluento 8.11.2016

Posteri: **Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI** 8.11.2016 (Liitteenä raportin lopussa)

Esitelmä: **Toxicological assessment of the indoor air**
Occupational Health konferenssi, LKT, Turku 16.11.2016

Esitelmä: **SISÄILMATUTKIMUS – Katsaus tämänhetkiseen tilanteeseen**
(Lilius, Vilén, Atosuo)
Eduskunnan Sosiaali- ja terveystieteiden valiokunnan ja ympäristövaliokunnan kuuleminen 8.12.2016

Esitelmä: **Kosteus- ja mikrobivauriorakennuksen aiheuttaman altistuksen mittaus**
Vera Hjält Seminaari, Turku 16.12.2016

Esitelmä: **Toxicological assessment of the indoor air**
FYGE Research Seminar: Biologian laitos, Turun yliopisto, Turku 7.3.2016

Posterit: **KOSTEUSVAURIOINEN KERROSTALO: MIKROBIOLOGINEN JA TOKSIKOLOGINEN ANALYYSI JA ASUKKAIDEN OIREET**, (Esa-Matti Lilius, Liisa Vilén, Eetu Suominen, Janne Atosuo, Tuula Putus), Sisäilmastoseminaari 15.3.2017 (Liitteenä raportin lopussa)

Julkaisut

Schlorke, D, Atosuo, J, Flemmig, J, Lilius, E-, Arnhold, J. 2016. Impact of cyanogen iodide in killing of *Escherichia coli* by the lactoperoxidase-hydrogen peroxide-(pseudo)halide system. *Free Radical Research. Free Radic Res.* 2016 Oct 12:1-9.

Suominen, E, Atosuo, J, Lilius, E-M. Indoor air toxicity assessment using *E. coli*-lux. *Environmental monitoring and assessment.* julkaisussa helmikuu 2017

Vilén, L, Atosuo, J, Lilius E-M. 2017 The response of phagocytes to indoor air toxicity. *Frontiers in Immunology, "Dampness and Mold Hypersensitivity Syndrome (DMHS)"* julkaisussa helmikuu 2017

Lilius, E-M, Atosuo, J. 2017. Myeloperoxidase in phagolysosome is not needed for killing ingested bacteria. Submitted *European journal of Immunology* julkaisussa maaliskuu 2017

Leena Huovila, Kolibakteeri tunnistaa myrkyllisen sisäilman, *Tiedon silta* 12.01.2017 <http://tiedonsilta.fi/kolibakteeri-tunnistaa-myrkyllisen-sisailman/>

Tuula Putus, Nordic-Baltic työ- ja ympäristöterveyskokous Turussa 16. – 17.11.2016, *Sienet ja terveys, Lääketieteellisen mykologian seura ry:n tiedotuslehti* 3/2016 ISSN 1456-3533

Seppo Mölsä, Homesairauksien toksisuusmittari oli liian hyvä ollakseen totta, *Rakennuslehti* 13.3.2017

<http://www.rakennuslehti.fi/2017/03/homesairauksien-toksisuusmittari-oli-liian-hyva-ollakseen-totta/>

Satu Hassi, Sisäilmasairaudet pitää ottaa vakavasti **13.3.2017**

<http://www.satuhassi.fi/2017/hometaloista-ja-sairastumisista/>

6. Tutkimusverkosto

Professori Tuula Putus, Turun yliopisto (UTU), Lääketieteellinen tiedekunta (LKT), THH, Kliininen tutkimusyksikkö TROSSI: Tutkimusjohtaja, eettisten lupien sekä terveystutkimusten koordinaatio

Dos. Jari Nuutila, Tutkija, Immunologi, BK, UTU: HPI-ryhmän johtaja, immunologisen ja biokemiallisen analytiikan vastuhenkilö, väitöskirjatyöntekijöiden ohjaus

Dos. Esa-Matti Lilius, Tutkija, Immunologi, HPI-ryhmä, BK, TROSSI, UTU:

Näytteiden toksisuuden analysointi, väitöskirjatyöntekijöiden ohjaus, biokemiallisen analytiikan koordinaatio

Dos. Jarmo Niemi, Tutkija, Mikrobiologi, BK, UTU: Antibiotic Biosynthetic Enzymes –ryhmän johtaja: Itiöiden pinta-antigeenien rakenteen selvitys

Dos. Jussi Kantele, mikrobiologian erikoislääkäri, Immunologi, UTU, LKT, THH, TROSSI: Immunologian ja mikrobiologian diagnostiikka

TtM. Lisa Vilén, Väitöskirjatyöntekijä, HPI, TROSSI, UTU, LKT, THH, Immunologiset vasteet, näytteiden keräys ja logistiikka, opiskelijoiden ohjaus

FM. Eetu Suominen Väitöskirjatyöntekijä, HPI, TROSSI, UTU, näytteiden toksisuuden analysointi, leukosyyttitestit, Immunologiset vasteet, näytteiden keräys ja logistiikka, opiskelijoiden ohjaus

7. Viitteet

[1] Andesson et al., Department of Occupational and Environmental Medicine, Örebro, Sweden. (1993).

[2] P Susitaival, T (Husman, (1996) 104.

[3] JT Atosuo, Annales Universitatis Turkuensis. A1, no. 512 (2015).

- [4] J Atosuo, Sisäilmastoseminaari 2016. (2016)
<http://sisailmayhdistys.fi/content/download/2895/19164/Sisem2016+Janne+Atosuo.pdf>.
- [5] J Atosuo, The Finnish Work Environment Fund. ISBN 978-951-29-6388-1 (2016).
- [6] S Rasimus-Sahari, VV Teplova, MA Andersson, R Mikkola, P Kankkunen, S Matikainen, et al., *Appl. Environ. Microbiol.* 81 (2015) 2939-2949.
- [7] AA Tonshin, VV Teplova, MA Andersson, MS Salkinoja-Salonen, *Toxicology*. 276 (2010) 49-57.
- [8] AG Kruglov, MA Andersson, R Mikkola, M Roivainen, L Kredics, NE Saris, et al., *Chem. Res. Toxicol.* 22 (2009) 565-573.
- [9] MA Andersson, P Hakulinen, U Honkalampi-Hamalainen, D Hoornstra, JC Lhuguenot, J Maki-Paakkanen, et al., *Toxicol.* 49 (2007) 351-367.
- [10] A Lojek, M Ciz, P Marnila, M Duskova, EM Lilius, *J. Biolumin. Chemilumin.* 12 (1997) 225-231.
- [11] P Marnila, A Tiiska, K Lagerspetz, EM Lilius, *Comp. Biochem. Physiol. A Physiol.* 111 (1995) 609-614.
- [12] EM Lilius, P Marnila, *Experientia*. 48 (1992) 1082-1091.
- [13] E Lilius, A Mäki, J Proskin, A Rajamäki, *Bioluminescence and Chemiluminescence New Perspectives*. (1987) 53-56.
- [14] E Lilius, J Nykänen, M Ståhlberg, *Bioluminescence and Chemiluminescence New Perspectives*. (1987) 145-148.
- [15] **J Atosuo, et al.**, (2016).
- [16] J Kildeso, H Wurtz, KF Nielsen, P Kruse, K Wilkins, U Thrane, et al., *Indoor Air*. 13 (2003) 148-155.
- [17] B Andersen, KF Nielsen, U Thrane, T Szaro, JW Taylor, BB Jarvis, *Mycologia*. 95 (2003) 1227-1238.
- [18] Sosiaali- ja terveysministeriö, 2009,.
- [19] T Kieser, et al., *Practical Streptomyces Genetics*, John Innes Foundation, Norwich, England, ISBN 0-7084-0623-8 2000.
- [20] M Bokhove, D Claessen, W de Jong, L Dijkhuizen, EJ Boekema, GT Oostergetel, *J. Struct. Biol.* 184 (2013) 301-309.
- [21] D Claessen, I Stokroos, HJ Deelstra, NA Penninga, C Bormann, JA Salas, et al., *Mol. Microbiol.* 53 (2004) 433-443.
- [22] M Schor, JL Reid, CE MacPhee, NR Stanley-Wall, *Trends Biochem. Sci.* 41 (2016) 610-620.
- [23] D Schmechel, JP Simpson, D Beezhold, DM Lewis, *J. Immunol. Methods*. 309 (2006) 150-159.
- [24] GL Friec, C Kemper, *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 57 (2009) 393-407.
- [25] J Atosuo, J Lehtinen, L Vojtek, EM Lilius, *Luminescence*. (2012).
- [26] J Nuutila, P Jalava-Karvinen, U Hohenthal, P Kotilainen, TT Pelliniemi, J Nikoskelainen, et al., *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 78 (2014) 116-126.
- [27] J Nuutila, P Jalava-Karvinen, U Hohenthal, P Kotilainen, TT Pelliniemi, J Nikoskelainen, et al., *Hum. Immunol.* 74 (2013) 522-530.
- [28] J Nuutila, P Jalava-Karvinen, U Hohenthal, I Laitinen, P Kotilainen, A Rajamäki, et al., *Hum Immunol.* 70 (2009) 237-43.
- [29] J Nuutila, EM Lilius, *Curr. Opin. Infect. Dis.* 20 (2007) 304-310.
- [30] M Jonsson, J Atosuo, M Jestoi, AV Nathanail, UM Kokkonen, M Anttila, et al., *Toxicol. Lett.* 233 (2014) 38-44.
- [31] J Hope, *ScientificWorldJournal*. 2013 (2013) 767482.