



Loppuraportti, TSR-hanke 113105

Sisäilmaan liitetyillä oireilla on yhteys pölyn ja ilmassa leijuvien mikrobien toksisuuteen: poikkileikkaustutkimus

Salin Janne

Salkinoja-Salonen Mirja

Salin Pekka

Nelo Katri

Holma Tuomas

Ohtonen Pasi

Syrjälä Hannu



Työsuojelurahasto

Arbetskyddsfonden

The Finnish Work Environment Fund

Loppuraportti, TSR-hanke 113105

Sisäilmaan liitetyillä oireilla on yhteys pölyn ja ilmassa leijuvien mikrobien toksisuuteen: poikkileikkaustutkimus

Salin JT¹; Salkinoja-Salonen M^{6,7}; Salin PJ^{5,6}; Nelo K⁵; Holma T²; Ohtonen P^{3,4}; Syrjälä H¹

- 1) Oulun yliopistollinen sairaala, Infektioiden torjuntayksikkö
- 2) Oulun yliopistollinen sairaala, Korva-, nenä- ja kurkkutaudit, Oulun yliopisto PEDEGO tutkimusyksikkö
- 3) Medical Research Center Oulu
- 4) Operatiivinen tulosalue, Medical Research Center, Oulun yliopistollinen sairaala
- 5) Inspector Sec Oy Laboratorio
- 6) Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos, Helsingin yliopisto
- 7) Sähkötekniikan ja automaation laitos, Aalto yliopisto

Tämän tutkimuksen toteuttamista on tukenut Työsuojelurahasto.



Työsuojelurahasto
Arbetskyddsfonden
The Finnish Work Environment Fund

© Inspector Sec Oy ja kirjoittajat

ISBN 978-952-93-9792-1 (nid.)

ISBN 978-952-93-9892-8 (PDF)

Suomen Yliopistopaino Oy – Juvenes Print
Oulu 2017

Sisältö

Tiivistelmä	5
Johdanto	5
Menetelmät	5
Tulokset	5
Johtopäätökset	5
1. Yhteenveto	6
Tausta	6
Menetelmät	6
Tulokset	6
Johtopäätökset	6
2. Johdanto	7
3. Materiaalit ja menetelmät	8
3.1 Koulut	8
3.2 Opettajat	8
3.3 Toksisuuden mittaaminen sisäilmanäytteistä karjun siittiösoluja käyttäen	9
3.4 Tilastollinen analysointi	10
4. Tulokset	11
5. Johtopäätökset	15
6. Kirjallisuusviitteet	19

Tiivistelmä

Sisätilojen toksisuuden yhteys työntekijöiden oireiluun. Helsingin koulututkimuksen aineiston jatkoanalysointi.

Johdanto

Sisäilman mikrobitoroksisuuden epäillään aiheuttavan rakennuksiin liitettyjä oireita, mutta hypoteesia tukevaa epidemiologista tutkimustietoa ei ole ollut tarjolla. Tässä tutkimuksessa tutkittiin, oliko koulurakennusten sisäilmanäytteiden toksisuuksilla yhteyttä työhön liittyviin terveysoireisiin (= building-related symptoms, BRS).

Menetelmät

Helsingin kaupungin Kiinteistöviraston Tilakeskus valitsi 15 koulua tutkimukseen. Vapaaehtoinen työhön liittyvä terveysoirekysely lähetettiin jokaiselle näissä kouluissa työskentelevälle opettajalle. Tilojen sisäilman pölyn ja laskeumamaljoilla kasvavien mikrobien toksisuudet analysoitiin karjun siittiösolujen liikkuvuustestillä.

Tulokset

Opettajat oireilivat 2,8 kertaa enemmän tiloissa, joissa oli toksisia pölynäytteitä verrattuna tiloihin, joissa ei ollut toksisuutta. Mikrobitoroksisissa tiloissa oireilu oli 1,8-kertainen. Myös lomalla helpottuvien oireiden määrä korreloi toksisuuden kanssa.

Johtopäätökset

Opettajilla oli enemmän BRS-oireita luokkahuoneissa, joiden näytteet olivat toksisia. Karjun siittiösolujen liikkuvuustesti on täten lupaava työkalu osoittamaan sisäilman toksisuutta, joka on yhteydessä BRS-oireisiin.

1. Yhteenveto

Tausta

Sisäilman mikrobitoroksisuuden epäillään aiheuttavan rakennuksiin liitettyjä oireita, mutta hypoteesia tukevaa epidemiologista tutkimustietoa ei ole ollut tarjolla. Tässä tutkimuksessa tutkittiin oliko koulurakennusten sisäilmanäytteiden toksisuuksilla yhteyttä työhön liittyviin terveysoireisiin (= building-related symptoms, BRS).

Menetelmät

Helsingin kaupungin Kiinteistöviraston Tilakeskus valitsi 15 koulua tutkimukseen. Vapaaehtoinen työhön liittyvä terveysoirekysely lähetettiin jokaiselle näissä kouluissa työskentelevälle opettajalle. Tilojen sisäilman pölyn ja laskeumamaljoilla kasvavien mikrobien toksisuudet määrittämällä karjun siittiösolujen EC_{50} -arvo eli pitoisuus, jolla 50 % soluista vaurioituu kontrolliin verrattuna.

Tulokset

Kyselyyn vastasi 232 opettajaa, joiden iän mediaani oli 43 vuotta (naisia 190, 82,3 %) ja työajan mediaani kyseisessä koulussa kuusi vuotta. Heidän luokkahuoneistaan otettiin näytteet toksisuusmittauksia varten. Poissonin regressiomallin mukaan opettajilla oli työhön liittyviä BRS-oireita 2,8 kertaa enemmän tiloissa, joissa oli toksisia pölynäytteitä verrattuna tiloihin, joissa ei ollut toksisuutta (95 % CI; 1,6–4,9, $p < 0,001$). Lomalla helpottuvien oireiden määrä oli 1,9-kertainen koululuokissa, joissa oli korkea toksisuus verrattuna vähemmän toksisiin huoneisiin (95% CI 1,1–3,3, $p = 0,03$).

Johtopäätökset

Opettajilla oli enemmän BRS-oireita luokkahuoneissa, joiden näytteet olivat toksisia. Karjun siittiösolujen liikkuvuudesta vaikuttaa lupaavalta työkalulta BRS-oireisiin liittyvän sisäilman toksisuuden osoittamiseen.

2. Johdanto

Terveellinen sisäilma, joka on Maailman terveysjärjestön mukaan yksi ihmisoikeuksista (WHO, 2009), vaarantuu usein rakennuksissa, joiden sisäilma on laadultaan huono. Tästä saattaa olla seurauksena rakennuksiin liittyviä terveysoireita (BRS), joka on yleinen ja maailmanlaajuinen ongelma, ja josta on raportoitu yli 30 vuoden ajan (Burge, 2004). BRS:aan liittyy useita limakalvoihin, ihoon lihaksiin, ruuansulatuskanavaan ja keskushermostoon liittyviä oireita (Assouline-Dayan ym, 2002; Finnegan ym, 1984; Lu ym, 2007; Zhang ym, 2012), joita esiintyy esimerkiksi toimistoissa, kouluissa, päiväkodeissa ja sairaaloissa (Norbäck, 2009).

Vaikka homeet, mykotoksiinit ja haihtuvat orgaaniset yhdisteet on liitetty BRS-oireisiin, on ollut vaikea osoittaa yhteyttä haitallisten terveysvaikutusten ja haitallisen sisäilman epäpuhtauksien välillä (Sahlberg ym, 2013; Straus, 2009; Straus, 2011; Terr, 2009). Olemme osoittaneet aikaisemmin, että haitallisia terveysvaikutuksia aiheuttavista rakennuksista otetuissa materiaali- ja pyyhintäpölynäytteissä kasvoi toksiineja erittäviä bakteereita ja homeita, joiden vaikutukset havaittiin karjun siittiösolujen liikkuvuuteen perustuvalla *in vitro* -menetelmällä (Andersson ym, 2010).

Karjun siittiösolut ovat käyttökelpoisia *in vitro* -työkaluna kvantioitaessa toksisuutta, jota mikrobien erittämät aineet, immonitoksisuus sekä terveydelle haitalliset kemikaalit ja lääkeaineet aiheuttavat nisäkässoluille (Hoornstra ym, 2003; Mikkola ym, 2012; Mikkola ym, 2015; Weinhold, 2013; Rasimus-Sahari ym, 2015; Ajao ym, 2015; Hoornstra ym, 2003; Vicente-Carrillo ym, 2015).

Tässä tutkimuksessa käytettiin karjun siittiösolujen liikkuvuutta arvioitaessa onko pyyhintäpölyn ja laskeumamaljalla kasvavien mikrobien toksisuuden sekä työhön liittyvien BRS-oireiden välillä yhteyttä.

3. Materiaalit ja menetelmät

3.1 Koulut

Helsingin kaupungin rakennusvirasto valitsi 15 koulua, jotka oli rakennettu eri vuosikymmeninä erilaisilla rakennustekniikoilla, ja joista osassa oli raportoitu sisäilmaongelmia. Rakennusvirasto oli kiinnostunut voisiko toksisuuden mittaamisella erottaa koulut, joissa on sisäilmaongelmia niistä, joissa sisäilmaongelmia ei ole. Osassa kouluista oli tehty toistuvia tutkimuksia muilla menetelmillä, jotka yhdistetään sisäilman laatuun, koska sisäilmasta oli valitettu usein. Kuudessa koulussa käyttäjät eivät olleet valittaneet rakennuksen kunnosta tai sisäilmasta. Kouluissa oli erilaisia ilmanvaihtojärjestelmiä (painovoimainen ilmanvaihto, koneellinen poistoilmanvaihto tai koneellinen tulo- ja poistoilmanvaihto), joista joitakin oli korjattu. Ennakoasenteiden välttämiseksi tutkijoille ei annettu rakennusten tietoa ennen projektin päättymistä.

3.2 Opettajat

Tutkimukseen otettiin mukaan opettajat seuraavin perustein: opettaja työskentelee vähintäänseitsemän tuntia viikossa, on ollut vähintään vuoden samassa luokkahuoneessa tutkittavassa koulussa, ei ole raskaana ja hänen työpisteensä on jäljitettävissä. Kysely tehtiin Webropol 2.0-ohjelmalla, ja linkki kyselyyn lähetettiin kaikille 15 koulun opettajille sähköpostitse. Kysely toteutettiin anonyymisti ilman yksittäisen henkilön identifiointia 18.5.–10.6.2011 välisenä aikana ennen kesäloman alkua.

Kyselyssä pyydettiin opettajia osoittamaan työhön liittyvät BRS-oireet, joita heillä oli. Osallistujat saivat valita yhden tai useamman oireen vastaamalla ei tai kyllä, ja lisäksi he saivat kertoa, helpottivatko oireet loman aikana ja pahenivatko kouluvuoden aikana. Oireet sisälsivät seuraavat 20 BRS-oiretta (kuudessa kategoriassa), jotka on aikaisemmin esitelty kirjallisuudessa (Assouline-Dayan ym, 2002; Finnegan ym, 1984; Gyntelberg ym, 1994; Lu ym, 2007; Norbäck ym, 2016; Redlich ym, 1997; Sahlberg ym, 2012; Zhang ym, 2012): 1) kaksi yleisoiretta (väsymys ja kuume), 2) neljä nenäoiretta (tukkoisuus, ärsytysoireet, nenäverenvuoto, nuha), 3) neljä silmäoiretta (kutina, silmien vuotaminen, kuivat silmät, turvonneet silmäluomet), 4) viisi hengitystieoiretta (aivastelu, kurkkukipu, äänen käheys, yskä ja hengenahdistus), 5) kolme iho-oiretta (kuivuus, ihottuma, kutina), ja 6) kaksi keskushermosto-oiretta (päänsärky ja keskittymisvaikeudet). Työhön liittyvien BRS-oireiden lukumäärä saattoi siis vaihdella välillä 0–20. Lisäksi kysyttiin henkilön taustatiedot, tupakointitiedot ja atopian esiintyminen.

Helsingin yliopistollisen keskussairaalan eettisen toimikunnan ohjeiden mukaisesti tämän tyyppiselle anonyymille kyselylle ei tarvita eettistä lupaa. Helsingin kaupungin opetusvirasto antoi tutkimusluvan kouluille. Tämän poikkileikkaustutkimuksen teki kaksi toisistaan riippumatonta ryhmää. Yksi ryhmä otti näytteet luokkahuoneista ja mittasi näytteiden toksisuudet. Toinen ryhmä keräsi ja prosessoi terveysoiretiedot samoista kouluista käyttäjäkyselyn avulla.

3.3 Toksisuuden mittaaminen sisäilmanäytteistä karjun siittiösoluja käyttäen

Jokaisen opettajan pääasiallisen luokkahuoneen sisäilman toksisuudet määritettiin karjun siittiösoluja käyttäen. Luokkahuoneiden pöly kerättiin pyyhkimällä pöly yläpinnoilta (8–12 kuukauden passiivinen laskeumapöly) kouluajan jälkeen 17.3.–11.6.2011 välisenä aikana. Pölynäytteet otettiin pumpulipuikoilla lamppujen ja kaapistojen yläpinnoilta yli 1 m korkeudelta. Ilman mikrobi-itiöt kerättiin laskeumamajalle (1 h laskeuma-aika oppituntien aikana 9.5.–1.6.2011) aikaisemmin kuvatun ohjeen mukaisesti (Andersson ym, 2010). Ilman mikrobit kerättiin mallasagar-maljoille, jotka avattiin tunnin ajaksi, suljettiin, ja 4-6 viikon inkubaatioajan jälkeen kerättiin koko biomassa, mukaan lukien rihmat ja kuroumaitiöt. Pyyhintäpölyt ja maljoilla kasvaneet biomassat uutettiin etanoliin, haihdutettiin kuiviin 62 °C:ssa, jäännös punnittiin ja uudelleen liuotettiin etanoliin pitoisuuteen 10 mg/ml (Andersson ym, 2010).

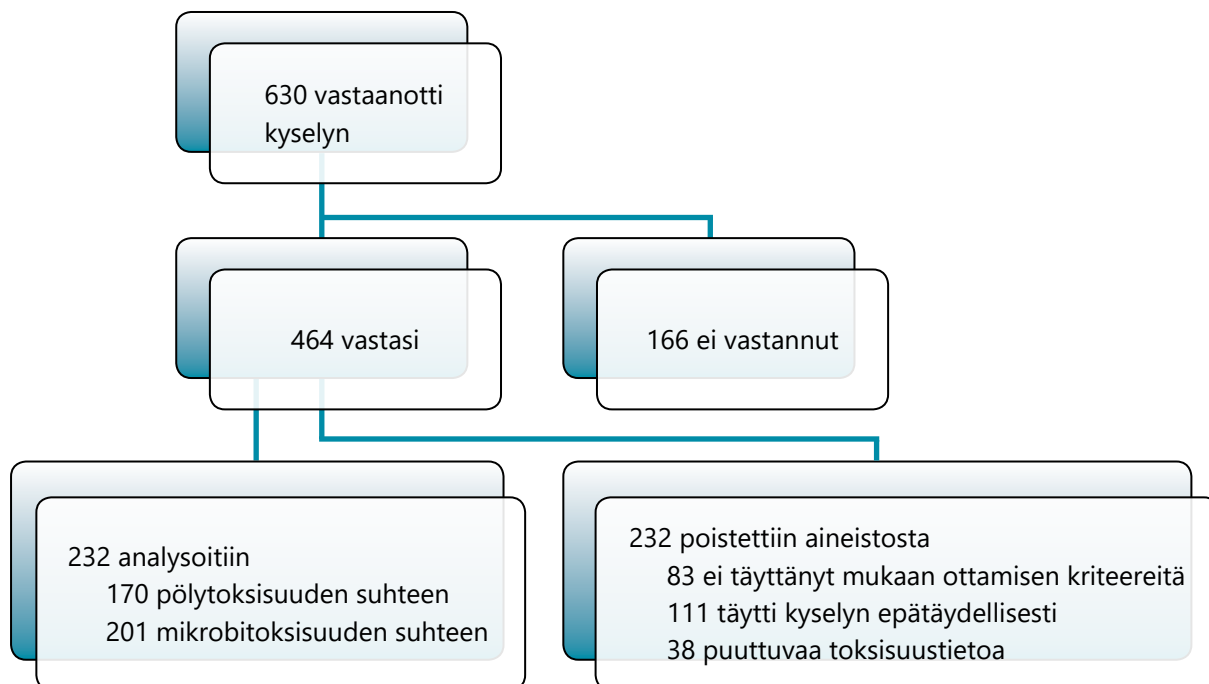
Karjun siittiöt (27×10^6 siittiötä/ml) altistettiin etanoliuutteiden laimennossarjalla kolmen vuorokauden ajan. Altistettujen siittiöiden liikkuvuus määritettiin mikroskoopilla katsomalla. Näin saatiin EC_{50} -arvo (effective concentration eli tehoava pitoisuus) eli se uutteen pitoisuus, joka pysäyttää liikkeen 50 %:sta siittiöitä verrattuna kontrolliin, pelkällä etanolilla altistettuihin siittiöihin. Mitä pienempi EC_{50} -arvo on, sitä toksisempi näyte on siis kyseessä. Karjun siittiösolujen liikkuvuustestit, solutoksisuus huonepölystä ja sisätilojen mikrobi-ilmanäytteen sieni-itiöistä tehtiin Inspector Sec Oy:n laboratoriossa, joka on FINAS-akkreditointipalvelun akkreditoima testauslaboratorio T285, akkreditointivaatimus SFS-EN ISO/IEC 17025 (31.12.2014).

3.4 Tilastollinen analysointi

Mittaustulokset on raportoitu keskiarvoina ja standardideviaatioita (SD) tai mediaaneina ja 25 %-75 % persentileinä ellei ole toisin mainittu. Työhön liittyvien BRS-oireiden lukumäärä ja samojen oireiden helpottaminen lomien aikoina olivat riippuvia muuttujia Poissonin regressioanalyysimalleissa. Ikä, sukupuoli, nykyinen tupakointi ja atopia (mahdolliset sekoittavat tekijät) suhteutettiin, kun arvioitiin luokkahuoneesta otettujen näytteiden toksisuutta tai todettujen oireiden lukumäärää. Poissonin regressioanalyysimalleissa saadut tulokset raportoidaan suhteellisina riskeinä (RR) ja niiden 95 %:n luottamusväleinä (confidence interval, CI) osoittamaan todettujen oireiden välisiä suhteellisia eroja. Tutkimuksessa käytettiin kasisuuntaisia p-arvoja ja analyysit tehtiin Windowsille tarkoitettulla SPSS-ohjelmalla (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

4. Tulokset

Kysely lähetettiin 15 koululle 630 sähköpostiosoitteeseen, joista saatiin 464 vastausta (74 %) (kuva 1). 232 vastaajan (50 %) kohdalla sekä kysely- ja luokkahuoneen toksisuustiedot olivat saatavissa. Vastauksia kustakin koulusta tuli 6-28 kpl. Syyt 232 vastaajan pois jättämiseen analysoinnista selviävät kuvasta 1.



Kuva 1. Tutkimusprosessin kulku.

Lopulliseen tutkimukseen mukaan otetun ryhmän tiedot on esitetty taulukossa I. Suurin osa (82,3 %) opettajista oli naisia, 9,5 % oli sillä hetkellä tupakoitsijoita ja 10,3 %:lla oli atopiaa. Keskimäärin tutkittava koulurakennus oli ollut opettajan työpaikka kuuden vuoden ajan. 232 opettajasta 130:lla (56 %) oli vähintään yksi työhön liittyvä BRS-oire, 44:llä (19 %) oli vähintään viisi työhön liittyvää BRS-oiretta. Mediaani oli yksi oire (taulukko I).

Taulukko I. Lopullinen tutkimusaineisto sisälsi 232 osallistujaa, jotka olivat täyttäneet kyselyn ja joiden luokkahuoneesta oli toksisuustiedot saatavissa. Arvot ovat mediaaneja ja 25 %-75 % persenttilejä, jos ei toisin mainita.

Muuttuja	
Ikä	43 (34–50)
Nainen*, n (%)	190 (82,3 %)
Tupakoi tällä hetkellä, n (%)	22 (9,5 %)
Atopia, n (%)	24 (10,3 %)
Työuran kesto (vuosina)	16 (7–23)
Kyseisessä rakennuksessa työskentelyaika (vuosina)	6 (2–12)
Työskentelyaika ensisijaisessa luokassa (tuntia viikossa)	21 (17–26)
Yhteenlaskettu BRS-oireiden lukumäärä	1 (0–3)
Pölyn toksisuus ensisijaisessa luokassa, EC ₅₀ µg/ml, n (%)	
6	15 (8,8 %)
12	44 (25,9 %)
25	100 (58,8 %)
50	11 (6,5 %)
Yhteensä	170 (100 %)
Ilman mikrobien toksisuus ensisijaisessa luokassa, EC ₅₀ µg/ml, n (%)	
≤ 12	83 (41,3 %)
> 12	118 (58,7 %)
Yhteensä	201 (100 %)

Työhön liittyvien BRS-oireiden maksimipistemäärä oli 20 pistettä. Toksisuustiedot on ilmoitettu EC₅₀-arvoina. Mitä pienempi EC₅₀-arvo on, sitä toksisempi näyte on kyseessä. Toksisuus määritettiin 170 pölynäytteelle ja 201 laskeumamaljanäytteelle.

*Yhden henkilön tieto puuttuu.

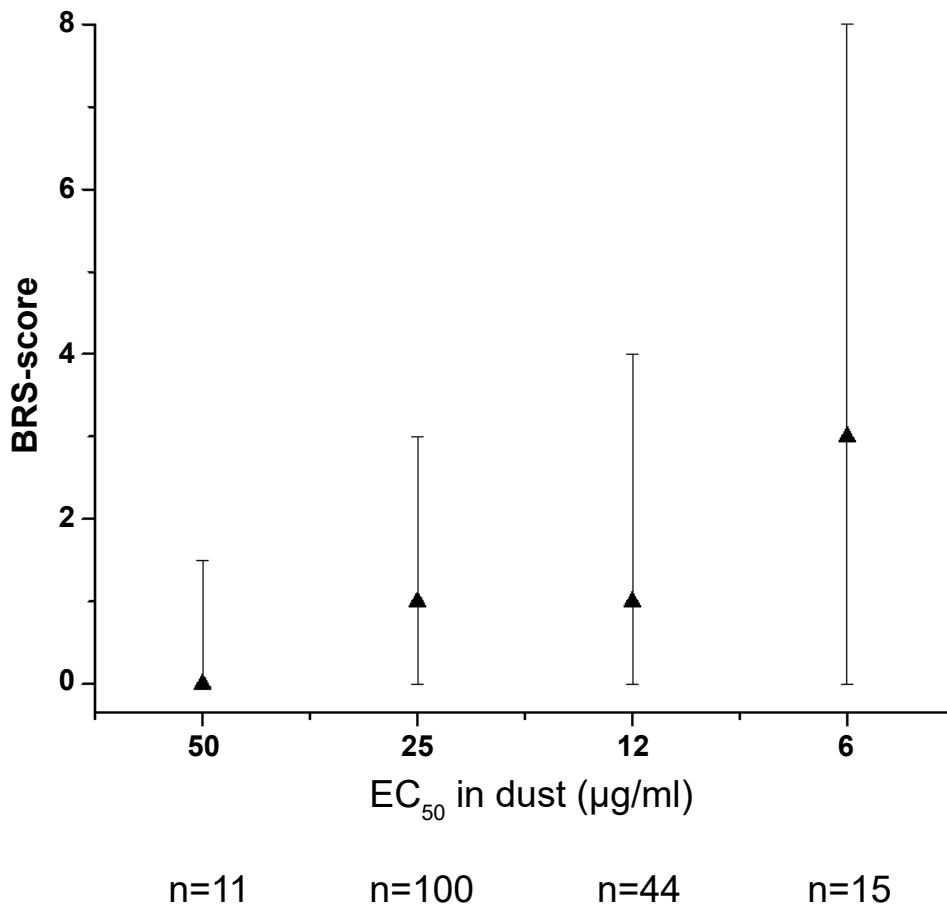
Lopullisesta tutkimuksesta ulkopuolelle jääneet eivät poikenneet tupakoinnin tai atopian suhteen; 22 henkilöä (9,5 %) tupakoi sillä hetkellä ja atopiaa oli 24 henkilöllä (10,3 %). Pieniä eroja oli sukupuolen (180 naista, 80,7 %), iän (mediaani 44 vuotta), työkokemuksen (mediaani 15 vuotta) ja työskentelyn nykyisessä koulussa (mediaani viisi vuotta) suhteen.

Pyyhintäpölyjen toksisuudet jaettiin neljään ja laskeumanäytteiden mikrobiviljelmät kahteen luokkaan toksisuuden mukaan (taulukko II). Kuvassa 2 esitetään BRS-oireiden ja toksisuuden välinen yhteys pölynäytteissä. Toksisissa luokissa (EC_{50} -arvo ≤ 6) työskentelevillä opettajilla oli 2,8 kertaa enemmän työhön liittyviä BRS-oireita kuin opettajilla, joiden luokahuoneissa ei ollut merkittävää toksisuutta (EC_{50} -arvo ≥ 50) (taulukko II). Tämä havainto oli tilastollisesti merkittävä ($P < 0,001$). Lomalla helpottuvien oireiden lukumäärä oli korkeampi toksisimmissa luokahuoneissa molemmilla analyysimenetelmillä; RR pyyhintäpölynäytteille oli 1,9 (95 % CI: 1,1–3,3, $p=0,03$) ja mikrobien biomassoille 1,8 (95 % CI: 1,5–2,3, $p < 0,001$).

Taulukko II. Poissonin regressiomallin tulokset esitettynä suhteellisina riskeinä (RR) toksisuuden vaikutuksesta työhön liittyvien BRS-oireiden summaan suhteutettuna iän, sukupuolen, tupakoinnin ja atopian suhteen.

	RR	95 % CI	p-arvo
Pölyn toksisuus*			
6	2,78	1,58 - 4,88	<0,001
12	1,62	0,95 - 2,77	0,080
25	1,22	0,72 - 2,04	0,67
50	1,00	(referenssi)	
Mikrobitoksisuus*			
≤ 12	1,76	1,45 - 2,14	<0,001
> 12	1,00	(referenssi)	

*Pölyn ja ilman mikrobien toksisuudet on ilmaistu EC_{50} -arvoina. Mitä pienempi EC_{50} -arvo, sitä toksisempi näyte.



Kuva 2. Luokkahuoneen pölyn toksisuus verrattuna ja opettajien työhön liittyvien BRS-oireisiin. Toksisuus on esitetty EC₅₀-arvona. Mitä pienempi EC₅₀-arvo, sitä toksisempi näyte. Merkki n ilmaisee yksilön lukumäärää kussakin toksisuusluokassa. Pylväät ilmaisevat 25 %-75 % persenttiilit.

5. Johtopäätökset

Tuloksemme osoittivat, että opettajien BRS-oireilla on yhteys heidän luokkahuoneissaan esiintyvien haitallisten aineisiin, jotka suoraan (pölyn kautta) tai epäsuorasti (itiöiden kasvatuksen kautta) heikensivät karjun siittiöiden liikkuvuutta *in vitro* -testissä. Tulokset olivat tilastollisesti merkittäviä.

Allerman ym (2003) raportoivat, että interleukiini (IL)-8:n erityis lisääntyi ihmisen keuhkojen epiteelin A549-soluilla, kun niitä altistettiin pölyllä, joka oli koulusta, jossa oli korkea BRS-esiintyvyys verrattuna kouluihin, joissa BRS-esiintyvyys oli pienempi. Meidän tutkimuksemme, joka yhdistää opettajien BRS-oireet luokkahuoneiden *in vitro* -toksisuuteen on ensimmäinen, jossa yksilöiden BRS-oireet korreloivat merkittävästi sisäilmanäytteiden toksisin vaikutuksiin nisäkässoluilla.

Vastikään Malesiassa tehdyssä tutkimuksessa oppilaiden BRS-oireet korreloivat merkittävästi sisäilman sienten DNA:n kokonaismäärään qPCR-menetelmän perusteella. Todennäköisyys vaihteli välillä 1,57–3,60, tosin toksisia vaikutuksia ei reportoitu (Norbäck ym, 2016). Laaja Euroopan laajuinen koulututkimus selvitti oppilaiden BRS-oireiden liittymistä sienten ja mikrobien DNA:han qPCR-menetelmällä, mutta yhteyttä ei löydetty (Borra-Sanot ym, 2016; Jacobs ym, 2014). Tästä voidaan päätellä, että mikrobien sisäilmaan erittämät metaboliitit ovat tärkeämpiä kuin niiden DNA BRS-oireissa.

Laaja epidemiologinen BRS-tutkimus Pohjois-Euroopan kaupungeissa osoitti yhteyden asukkaiden limakalvo- ja hengitystieoireiden sekä ilmassa olevan 1-okteeni-3-olin välillä (OR 1.91, 95% CI: 1.18–3.10) (Sahlberg ym., 2013). 1-okteeni-3-oli on potentiaalinen neurotoksiini, haihtuva oksilipiini, jota monet erilaisen sienet, mukaan lukien syötävät sienet, erittävät, ja jota voi syntyä linoleiinihapon hapettumisen seurauksena (Kaminski ym, 1974; Inamdar ym, 2014; Combet ym, 2006). Meidän tutkimuksemme haihtuvien yhdisteiden, kuten 1-okteeni-3-olin, vaikutus havaintoihin on epätodennäköistä johtuen näytteen valmistustavasta, jossa pöly ja kasvatettu biomassa uutettiin etanoliin, jonka jälkeen liuennut fraktio haihdutettiin kuiviin 62°C:ssa, jonka jälkeen jäännös uudelleenliuotettiin ja lisättiin siittiösoluihin. Mikä tahansa haihtuva aine häviää haihdutuksen aikana. Valmistetut uutteen sisälsivät 5–10 % alkuperäisen näytemateriaalin massasta kuivapainona (Andersson ym, 2010).

Viime aikoina on osoitettu, että jopa pieni määrä gramnegatiivisten bakteerin endotoksiineja (LPS) vaikuttaa NLRP3-inflammasomin aktivaation sisäilman sienten ja/tai grampositiivisten bakteerien etanoliliukoisten toksien kautta, joita ovat esim. roridiini, amyloosiini ja valinomysiini (Kankkunen ym, 2009; Korkalainen ym, 2016; Rasimus-Sahari ym, 2015). NLRP3-inflammasomilla, joka tunnetaan myös nimillä NALP3 ja kryopyriini, on tärkeä osa tulehdukseen liittyvien sytokiinien (TNF- α , IL-1 β , IL-18) aktivoinnissa. Nämä sytokiinit liittyvät monien ei-tarttuvien tautien kehittymiseen sekä akuuttien ja kroonisten hengitysteiden oireisiin, jotka ovat tyypillisiä BRS-oireita (Burge 2004; Hosseinian ym, 2015; Martinon ym, 2002; Sahlberg ym, 2012).

Karjun siittiöiden liikkuvuus riippuu olennaisesti oksidatiivisen fosforylaation tuottamasta ATP:stä, ja liikkuvuuden inhibition oletetaan johtuvan mm. mitokondriotoksiineista (Hoonstra ym, 2013; Vicente-Carrillo ym, 2015). "Sairaista" rakennuksista eristettyjen sienet ja bakteerit todellakin tuottavat aineita, jotka inhiboivat karjun siittiöiden liikkuvuutta ja toimivat mitokondriotoksiineina (Andersson ym, 1997; Andersson ym, 1998; Andersson ym, 2009; Kruglov ym 2009; Mikkola ym, 2012; Mikkola ym, 2015; Peltola ym, 2001; Peltola ym 2002, Rasimus-Sahari et al, 2015; Weinhold, 2013).

Siittiösolun liikkuvuus riippuu siittiön hännän pyörimisliikkeestä. Häntä muistuttaa rakenteellisesti ja toiminnallisesti nisäkkäiden somaattisten solujen värekarvoja (Konno ym, 2015; Marshall, 2008). Siksi on todennäköistä, että karjun siittiötestillä saadaan selville värekarvojen toimintaa lamaavien toksien vaikutuksia. Tällaisia toksineja tuottaa esim. huonepölystä löytyvä *Chaetomium*-home (Piecková & Kunová, 2002; Piecková & Wilkins, 2004). Värekarvat puhdistavat hengitysteiden limakalvopintoja, jotka peittävät jopa 80 % ihmisen keuhkojen ylemmistä ilmasteistä (Marshall, 2008; Piecková & Kunová, 2002). Värekarvojen lyöntitiheyden hidastuminen edistää tulehdusta ja sen tiedetään johtavan sairauteen ihmisellä (Piecková & Wilkins, 2004; Workman & Cohen, 2014).

Karjun siittiön liikkuvuustestin tiedetään havaitsevan hyvin monenlaisia toksineja, joita bakteerit ja sienet tuottavat, ja joiden on raportoitu olevan vaurioituneiden rakennusten sisäilman kontaminantteja. Tällaisia kontaminantteja ovat mm. immunotoksiiniset bakteeripeptidit amyloosiini (*Bacillus amyloliquefaciens*), valinomysiini ja antimysiini A (*Streptomyces*-alalajit); toksiset indolentit alkaloidit stefasidiini A ja B, avrainvillamidi (*Aspergillus westerdijkiae*) ja akrebolit (*Acremonium*); sekä useat ionikanavien

muodostavat peptiditoksiinit, kuten trilongiinit, hartsianiinit ja alametisiinit (*Trichoderma*-alalajit) (Andersson ym, 1997, 1998, 2009; Kankkunen ym, 2009; Mikkola ym, 2009, 2012;2015, Peltola ym, 2001, 2002; Rasimus-Sahari et al, 2016; Weinhold, 2013). Tutkimuksessamme karjun siittiöitä käytettiin toksisuusmäärittelyssä ja tulokset osoittivat voimakkaan positiivisen yhteyden sisäilmanäytteiden inhiboivien vaikutusten ja työhön liittyvien BRS-näytteiden välillä.

Tutkimuksellamme on useita vahvuuksia. Ensiksi sisäilman toksisuus mitattiin kahdella toisistaan riippumattomalla menetelmällä, joka kuvastaa erilaisia sisäilmakontaminaation muotoja. Pyyhintäpölynäytteet edustavat luokkahuoneen pitkän aikavälin (8-12 kk) kontaminaatiota. Ilmassa leijuvien itiöiden laskeuma puolestaan kerättiin yhden oppitunnin aikana, mikä kertoo mahdollisten toksisten metaboliitteja tuottavien mikrobi-itiöiden läsnäolosta luokkahuoneissa, joissa opettajilla oli BRS-oireita. Toiseksi tutkimus suoritettiin kouluissa, jotka Helsingin kaupungin rakennusvirasto valitsi, joten tutkijat eivät tienneet rakennuksiin liittyviä tietoja. Kolmanneksi kaksi ryhmää työskenteli erillään toisistaan, toinen ryhmä keräsi näytteet ja mittasi niiden toksisuudet, toinen ryhmä keräsi nettikyselyllä terveys- ja oiretiedot samoista kouluista ja käsitteli ne. Neljänneksi tutkimukseen hyväksytyillä ja hyväksymättömillä ei ollut yleisesti ottaen tai kouluittain eroa taustatiedoissa.

Tutkimuksellamme oli myös muutamia rajoituksia. 630 opettajasta 74 % vastasi kyselyyn, mutta 50 % jouduttiin jättämään pois tutkimuksesta eri syiden takia (kuva 1). On mahdollista, että vastaamatta jättäneillä opettajilla (26 %) ei ollut vakavia BRS-oireita. Lisäksi saimme tulokset vain pääasiallisista luokkahuoneista, joten muista tiloista joko koulusta tai kotoa ei ole saatavilla tietoa. Myöskään aikaisempiin työpaikkoihin liittyvää tietoa ei ole saatavilla. Johtuen poikkileikkauslähestymistavasta seurantatuloksia ei ole olemassa.

Yhteenvetona tuloksemme siis näyttivät selvän yhteyden opettajien työhön liittyvien BRS-oireiden ja luokkahuoneista kerätyn pölyn ja/tai laskeumamallin biomassan toksisuuden suhteen karjun siittiösolujen liikkuvuuteen perustuvalla *in vitro* -testillä. Tämän perusteella voidaan olettaa, että tämä testi on hyvä käytännön työkalu tietyn tyyppisten rakennusten toksisuuden arviointiin. Tarvitaan kuitenkin lisätutkimuksia varmistamaan tulokset muun tyyppisissä rakennuksissa.

Tutkimuksen ensimmäinen kansainvälinen julkaisu on ilmestynyt *Environmental Research* -lehdessä (Salin ym, 2017).

Tutkimusta rahoittivat Työsuojelurahasto, Suomen Akatemia, Sosiaali- ja terveysministeriö sekä Helsingin kaupungin rakennusvirasto.

6. Kirjallisuusviitteet

Ajao, C., Andersson, M., Teplova, V.V., Nagy, S., Gahmberg, C.G., Andersson, L.C., Hautaniemi, M., Kakasi, B., Roivainen, M., Salkinoja-Salonen, M.S., 2015. Mitochondrial toxicity of triclosan on mammalian cells. *Toxicology Reports*, 2, 624–637. 10.1016/j.toxrep.2015.03.012

Allermann, L., Meyer, H.W., Poulsen, O.M., Nielsen, J.B., Gyntelberg, F., 2003. Inflammatory potential of dust from schools and building related symptoms. *Occup. Environ. Med.* 60, E5.

Andersson, M.A., Mikkola, R., Helin, J., Rainey, F., Kroppenstedt, R., Sivonen, K., Salkinoja-Salonen, M.S., 1998. Mitochondrial toxin produced by *Streptomyces* strains isolated from indoor environment is valinomycin. *Appl. Environ. Microbiol.* 64 (12), 4767-4773.

Andersson, M.A., Mikkola, R., Raulio, M., Kredics, L., Majjala, P., Salkinoja-Salonen, M.S., 2009. Acrebol, a novel toxic peptaibol produced by an *Acremonium exuviarum* indoor isolate. *J. Appl. Microbiol.* 106, 909-923.

Andersson, M.A., Mikkola, R., Rasimus, S., Hoornstra, D., Salin, P., Rahkila, R., Heikkinen, M., Mattila, S., Peltola, J., Kalso, S., Salkinoja-Salonen, M., 2010. Boar spermatozoa as a biosensor for detecting toxic substances in indoor dust and aerosols. *Toxicol. In Vitro.* 24, 2041–2052. doi: 10.1016/j.tiv.2010.08.011.

Andersson, M.A., Nikulin, M., Koljalg, U., Andersson, M.C., Rainey, F., Reijula, K., Hintikka, E.L., Salkinoja-Salonen, M.S., 1997. Bacteria, molds, and toxins in water-damaged building materials. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 387–393.

Assouline-Dayana, Y., Leong, A., Shoenfeld, Y., Gershwin, M.E., 2002. Studies of building related symptoms. IV. Mycotoxicosis. *J. Asthma.* 39, 191-201.

Borras-Santos A., Jacobs, J.H., Täubel M., Haverinen-Shaughnessy, U., Krop E.J.M., Huttunen K., Hirvonen, M.R., Pekkanen, J., Heederik D.J.J., Zock J.-P., Hyvärinen A., 2013. Dampness and mould in schools and respiratory symptoms in children: the HITEA study. *Occup. Environ. Med.* 70, 681-687.

Burge, P.S., 2004. Sick building related symptoms. *Occup. Environ. Med.* 61, 185-90.

Combet, E., Henderson, J., Eastwood, D.C., Burton, K.S., 2006. Eight carbon volatiles in mushrooms and fungi: properties, analysis, and biosynthesis. *Mycoscience*. 47, 317-326. doi: 10.1007/s10267-006-0318-4

Finnegan, M.J., Pickering, C.A., Burge, P.S., 1984. The building related symptoms: prevalence studies. *Br. Med. J. (Clin Res Ed)*. 289 (6458), 1573-5.

Gyntelberg, F., Suadicani, P., Nielsen, J.W., Skov, P., Valbjørn, O., Nielsen, P.A., Schneider, T., Jørgensen, O., Wolkoff, P., Wilkins, C.K., Gravesen, S., Norn, S., 1994. Dust and the sick building syndrome. *Indoor Air*. 4, 223-38.

Hornstra, D., Andersson, M.A., Mikkola, R., Salkinoja-Salonen, M.S., 2003. A new method for in vitro detection of microbially produced mitochondrial toxins. *Toxicol. In Vitro*. 17, 745-51.

Hornstra, D., Andersson, M.A., Teplova, V.V., Mikkola, R., Uotila, L.M., Andersson, L.C., Roivainen, M., Gahmberg, C.G., Salkinoja-Salonen, M.S., 2013. Potato crop as a source of emetic *Bacillus cereus* and cereulide-induced mammalian cell toxicity. *Appl. Environ. Microbiol.* 79, 3534-43. doi: 10.1128/AEM.00201-13.

Hosseini, N., Cho, Y., Lockett, R.F., Kolliputi, N., 2015. The role of the NLRP3 inflammasome in pulmonary diseases. *Ther. Adv. Respir. Dis.* 9, 188-97. doi: 10.1177/1753465815586335.

Inamdar A.A., Masarekar P., Hossain M., Richardson, J.R., Bennett J.W., 2014. Signaling Pathways Involved in 1-Octen-3-ol-mediated neurotoxicity in *Drosophila melanogaster*. Implication in Parkinson's Disease. *Neurotox. Res.* 25, 183-191. doi:10.1007/s1260-013-9418-z.

Jacobs, J., Borràs-Santos, A., Krop, E., Täubel, M., Leppänen, H., Haverinen-Shaughnessy, U., Pekkanen, J., Hyvärinen, A., Doekes, G., Zock, J.P., Heederik, D., 2014. Dampness, bacterial and fungal components in dust in primary schools and respiratory health in schoolchildren across Europe. *Occup. Environ. Med.* 71, 704-12. doi: 10.1136/oemed-2014-102246.

Kaminski, E., Stawicki, S., Wasowicz, E., 1974. Volatile flavor compounds produced by molds of *Aspergillus*, *Penicillium* and fungi imperfecti. *Appl. Microbiol.* 27, 1001-1004.

Kankkunen, P., Rintahaka, J., Aalto, A., Leino, M., Majuri, M.L., Alenius, H., Wolff, H., Matikainen, S., 2009. Trichothecene mycotoxins activate inflammatory response in human macrophages. *J. Immunol.* 182, 6418-25. doi: 10.4049/jimmunol.0803309.

Konno, A., Shiba, K., Cai, C., Inaba, K., 2015. Branchial cilia and sperm flagella recruit distinct axonemal components. *PLoS One*. 10, e0126005. doi: 10.1371/journal.pone.0126005. eCollection 2015.

Korkalainen, M., Täubel, M., Naarala, J., Kirjavainen, P., Koistinen, A., Hyvärinen, A., Komulainen, H., Viluksela, M., 2016. Synergistic proinflammatory interactions of microbial toxins and structural components characteristic to moisture-damaged buildings. *Indoor Air*. Jan 25. doi: 10.1111/ina.12282.

Kruglov, A., Andersson M.A., Mikkola, R., Roivainen, M., Kredics, L., Saris, N.-E., Salkinoja-Salonen, M.S., 2009. Novel Mycotoxin from *Acremonium exuviarum* is a powerful inhibitor of the mitochondrial respiratory chain complex III. *Chemical Research in Toxicology*. 22, 565-573

Lu, C.Y., Ma, Y.C., Lin, J.M., Li, C.Y., Lin, R.S., Sung, F.C., 2007. Oxidative stress associated with indoor air pollution and building related symptoms-related symptoms among office workers in Taiwan. *Inhal. Toxicol*. 19, 57-65.

Marshall, W.F., 2008. The cell biological basis of ciliary disease. *J. Cell. Biol.* 180, 17-21. doi: 10.1083/jcb.200710085.0

Martinon, F., Burns, K., Tschopp, J., 2002. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL-beta. *Mol. Cell*. 10, 417-426

Mikkola, R., Andersson M.A., Teplova V.V., Grigoriev P., Kuehn T., Loss S., Tsitko I., Apetroaie C., Saris N.-E. L., Veijalainen P., Salkinoja-Salonen M.S., 2007. Amylosin from *Bacillus amyloliquefaciens*, a K⁺ and Na⁺ channel forming toxic peptide containing a polyene structure. *Toxicon*, 49, 1158-1171.

Mikkola, R., Andersson, M.A., Hautaniemi, M., Salkinoja-Salonen, M.S., 2015. Toxic indole alkaloids avrainvillamide and stephacidin B produced by a biocide tolerant indoor mold *Aspergillus westerdijkiae*. *Toxicon*. 99, 58-67. doi: 10.1016/j.toxicon.2015.03.011.

Mikkola, R., Andersson, M.A., Kredics, L., Grigoriev, P.A., Sundell, N., Salkinoja-Salonen, M.S., 2012. 20-Residue and 11-residue peptaibols from the fungus *Trichoderma longibrachiatum* are synergistic in forming Na⁺/K⁺ -permeable channels and adverse action towards mammalian cells. *FEBS J*. 279, 4172-90. doi: 10.1111/febs.12010.

Norbäck, D., 2009. An update on building related symptoms. *Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol.* 9, 55-9. doi: 10.1097/ACI.0b013e32831f8f08.

Norbäck D., Hashim J.H., Markowicz P., Cai G.H., Hashim Z., Ali F., Larsson L., 2016. Endotoxin, ergosterol, muramic acid and fungal DNA in dust from schools in Johor Bahru, Malaysia--Associations with rhinitis and sick building syndrome (SBS) in junior high school students. *Sci. Total. Environ.* 545-546, 95-103. doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.12.072.

Peltola, J., Andersson, M., Rainey, F.A., Haahtela, T., Mussalo-Rauhamaa, H., Samson, R., Salkinoja-Salonen, M.S., 2001. Toxic metabolite producing bacteria and fungi in indoor environment. *Applied and Environmental Microbiology.* 67, 3269-3274.

Peltola, J., Niessen, L., Nielsen, K.F., Jarvis, B. B, Andersen, B., Salkinoja-Salonen, M.S., Möller, E., 2002. Toxigenic diversity of two different RAPD groups of *Stachybotrys chartarum* isolates analyzed by potential for trichothecene production and boar sperm cell motility inhibition., *Canadian J Microbiol.* 48, 1017-1029.

Piecková, E., Kunová, Z., 2002. Indoor fungi and their ciliostatic metabolites. *Ann. Agric. Environ. Med.* 9, 59-63.

Piecková, E., Wilkins, K., 2004. Airway toxicity of house dust and its fungal composition. *Ann. Agric. Environ. Med.* 11, 67-73.

Rasmus-Sahari, S., Teplova, V.V., Andersson, M.A., Mikkola, R., Kankkunen, P., Matikainen, S., Gahmberg, C.G., Andersson, L.C., Salkinoja-Salonen, M., 2015. The peptide toxin amyloisin of *Bacillus amyloliquefaciens* from moisture-damaged buildings is immunotoxic, induces potassium efflux from mammalian cells, and has antimicrobial activity. *Appl. Environ. Microbiol.* 81, 2939-49. doi: 10.1128/AEM.03430-14.

Rasmus-Sahari, S., Mikkola, R., Andersson, M.A., Jestoi, M., Salkinoja-Salonen, M., 2016. *Streptomyces* strains producing mitochondriotoxic antimycin A found in cereal grains. *Int. J. Food. Microbiol.* 218, 78-85. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.11.007.

Redlich, C.A., Sparer, J., Cullen, M.R., 1997. Sick-building syndrome. *Lancet.* 349, 1013-6.

Sahlberg B., Norbäck D., Wieslander G., Gislason T., Janson C., 2012. Onset of mucosal, dermal, and general symptoms in relation to biomarkers and exposures in the dwelling: a cohort study from 1992 to 2002. *Indoor Air.* 22, 331-8. doi: 10.1111/j.1600-0668.2012.00766.x.

Sahlberg, B., Gunnbjörnsdóttir, M., Soon, A., Jogi, R., Gislason, T., Wieslander, G., Janson, C., Norback, D., 2013. Airborne molds and bacteria, microbial volatile organic compounds (MVOC), plasticizers and formaldehyde in dwellings in three North European cities in relation to building related symptoms (SBS). *Sci. Total. Environ.* 444, 433-40. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.10.114.

Salin JT, Salkinoja-Salonen M, Salin PJ, Nelo K, Holma T, Ohtonen P, Syrjälä H, 2017. Building-related symptoms are linked to the in vitro toxicity of indoor dust and airborne microbial propagules in schools: A cross-sectional study. *Environ Res.* 154:234-239.

Straus, D.C., 2009. Molds, mycotoxins, and building related symptoms. *Toxicol. Ind. Health.* 25 , 617-35. doi: 10.1177/0748233709348287.

Straus, D.C., 2011. The possible role of fungal contamination in building related symptoms. *Front Biosci (Elite Ed).* 3, 562-80.

Terr, A.I., 2009. building related symptoms: is mould the cause? *Med Mycol.* 47, Suppl 1, S217-22. doi: 10.1080/13693780802510216.

Vicente-Carrillo, A., Edebert, I., Garside, H., Cotgreave, I., Rigler, R., Loitto, V., Magnusson, K.E., Rodríguez-Martínez, H., 2015. Boar spermatozoa successfully predict mitochondrial modes of toxicity: implications for drug toxicity testing and the 3R principles. *Toxicol. In Vitro.* 29, 582-91. doi: 10.1016/j.tiv.2015.01.004.

Weinhold, B., 2013. Trilongins offer insight into mold toxicity. *Environ. Health. Perspect.* 121, a44. doi: 10.1289/ehp.121-a44.

WHO Guidelines for Indoor Air Quality, 2009. Dampness and Mould. Geneva: World Health Organization.

Workman, A.D., Cohen, N.A., 2014. The effect of drugs and other compounds on the ciliary beat frequency of human respiratory epithelium. *Am. J. Rhinol. Allergy.* 28, 454-64. doi: 10.2500/ajra.2014.28.4092.

Zhang, X., Sahlberg, B., Wieslander, G., Janson, C., Gislason, T., Norback, D., 2012. Dampness and moulds in workplace buildings: associations with incidence and remission of building related symptoms (SBS) and biomarkers of inflammation in a 10 year follow-up study. *Sci. Total. Environ.* 430, 75-81. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.04.040.

ISEC

Inspector Sec Oy

Kääpätie 3
90820 Kello
www.isec.fi



Työsuojelurahasto
Arbetarskyddsfonden
The Finnish Work Environment Fund

ISBN 978-952-93-9792-1 (nid.)
ISBN 978-952-93-9892-8 (PDF)