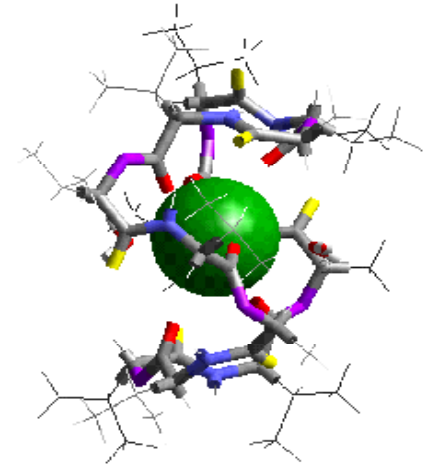
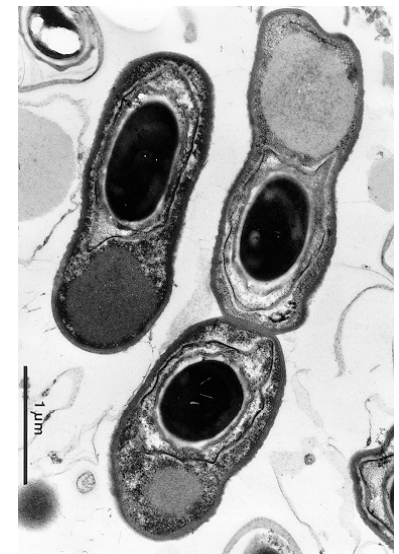


# SOLUMYRKYLLISIÄ AINEITA TYÖPAIKKAILMASSA



Mirja Salkinoja-Salonen<sup>1</sup>, Raimo Mikkola<sup>1</sup>, Maria A Andersson<sup>1</sup>, Harri Alenius<sup>2</sup>, Sampsa Matikainen<sup>2</sup>, Pekka Salin<sup>3</sup>, Stiina Rasimus<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Helsingin Yliopisto, Elintarvike- ja ympäristötieteiden  
Iits (mikrobiologia), <sup>2</sup>Työterveyslaitos,  
Immunotoksikologian kärkitutkimusyksikkö, Helsinki,  
<sup>3</sup>Inspectorsec Oy, Haukipudas



**Tiedetään:** Monista Suomessa ja muissa maissa tehdyistä tutkimuksista tiedetään tilastollisella varmuudella, että kosteusvauriorakennuksissa sairastetaan enemmän kuin vauriottomissa. **Miten mikrobi voi aiheuttaa sairautta?**

Mikrobi voi vaurioittaa terveyttä jos se:

1. Tunkeutuu elimistöön lisääntyen siellä niin, että elimistön toiminnalle on siitä selvää haittaa. Tätä mekanismia sanotaan **infektioksi, TAI**
2. Tuottaa **myrkyllisiä aineita, jotka** elimistöön joutuneina **vaurioittavat kudoksia, TAI**
3. **Tuottaa aineita jotka** ihmiseen päästyään (iho-, hengityselimet, iho, ruuansulatuskanava) **ohjaavat ihmisen elimistön toimintaa epänormaaliin suuntaan.**

**KAIKISSA TAPAUKSISSA** terveyshaitan synty edellyttää että mikrobi tai sen tuote joutuu ihmiseen, eli tapahtuu **altistuminen (exposure) mikrobille tai sen tuotteelle.**

## **Altistumisen mittaaminen!**

Rakennus ei ole infektion lähde (rakennuksen mikrobit eivät infektoi ihmistä).

**Toksiinit?** Kosteusvaurioisten rakennusten ilmasta on etsitty mykotoksiineja monissa eri tutkimuksissa (Brasel em, 2005; Bloom ym 2007; Tuomi ym, 2000; Curtis ym. 2004; Gottschalk ym 2008; Polizzi ym., 2009). Etsitty on satratoksiineja G, H, roquefortiinia, roridiinia, ketoglobosiinia, sitriniiniä, nivalenolia, T2-toksiinia, okratoksiinia A-ta, sterigmatokystiiniä.....

**Mykotoksiineja joko ei ollenkaan löydetty sisäilmasta tai niiden pitoisuudet olivat pieniä ja vaihtelevat satunnaisesti.**

## **Miksi ei löytynyt?**

**Selitys 1:** Rakennuksen ilmassa ei ollut niitä toksiineja, joiden hakemiseen massaspektrometri oli viritetty?

**Selitys 2:** Toksiineja ei ollut ilmassa näytteenottohetkellä – toksiinien purkautuminen rakennuksen uumenista sisäilmaan on ehkä epäsäännöllistä?

**Selitys 3:** Käytetty ilmanäytteenottomenetelmä ei sovellu k.o. toksiinien keruuseen?

**Selitys 4:** Kyse on toksisista mikrobimetaboliiteista joiden rakenne ja ominaisuudet ovat tuntemattomia, joita siis ei voi kohdennetusti etsiä?

## Mistä ratkaisu?

### 1. Käytetään vastehakuista mittausmenetelmää

rakennehakuisen (massaspektrometria ym) asemesta haetaan *myrkyllistä vaikutusta*. Altistetaan laboratoriossa ihmisen tai muiden lämminveristen eliöiden soluja aerosolinäytteelle. Jos aerosolinäyte vaurioittaa jotakin solun toiminnoista, se on merkki toksisen aineen läsnäolosta näytteessä.

### 2. Käytetään monia erilaisia ilmanäytteen keruumenetelmiä, myös uusia, ennen kokeilemattomia.

Yksi menetelmä ei välttämättä nappaa ilmasta kaikkia toksisia aineita.

### 3. Pidentetään näytteenkeruuaikaa, niin saadaan epäsäännöllisetkin purkaukset kiinni.

### 4. Käytetään erilaisia uhrisoluja.

Elimistömme eri osissa eri toiminnot ovat aktiiveja. Mitataan altistetuista soluista toiminnon häiriintymistä / pysähtymistä tai uudistoiminnon (jota k.o. solu ei normaalioloissa tuota) käynnistymistä.

## ***Uusia näytteenkeruita***

### *Tietokoneet toksisen pölyn kerääjinä?*

Kaikilla tietokoneilla on ilmajäähdytys. Tietokoneen tuuletinpyörä kerää pölyä työpisteen ilmasta.

**Voiko tätä pölyä tutkimalla saada tietää, leijuuko työpisteen ilmassa jotain haitallista ainetta tai mikrobia?**

**Pilottikoe:** Tutkimme neljän tietokoneen pölyjen toksisuuden. Näistä kolme oli työtilassa, jossa työntekijä koki sisäilmaan liittyvää terveyshaittaa, yksi kone oli (vertailu)työpisteestä, jonka haltijalla ei ollut valittamista.

**Tästä pienestä otoksesta saatiin tulos, että kaikkien kolmen valituskohteen tietokoneet sisälsivät pölyä, josta tehdyn etanoliutteen EC<sub>50</sub> oli 3 – 5 µg /ml, eli se oli myrkyllistä.**



Kolmen tietokoneen pölyt sisälsivät 94, 50, and 100 µg /mg etanoliliukoista tavaraa, joka oli myrkyllistä. Vertailukone sisälsi 50 µg etanoliliukoista tavaraa / mg, eikä se ollut myrkyllistä.

# **Taulukko 1. Erilaisia näytteiden**

**keruumenetelmiä:** P, imuroitu pöly; T, tietokoneen sisältä kerätty pöly; S, sedimentoitunut (=laskeutunut) pöly tasopinnalle tai LVI kalustoon.

<b>Näyttenottoaika</b>	<b>Toiminnan laatu</b>	<b>Näytteen laatu</b>	<b>näyte</b>
rivitalo, Lohja	asunto	pölynimurilla kerätty	P8
kerrostalo, Helsinki	asunto	pölynimurilla kerätty	P9
toimisto suuressa rakennuksessa, Helsinki	toimistotyö	tietokoneeseen kertynyt pöly	T10
toimisto suuressa rakennuksessa, Helsinki	keskeytynyt toimistotyö	pölyä varastoon siirretyn tietokoneen sisältä	T11
taksiasema, Kankaanpää	taukotila ja toimisto	tietokoneeseen kertynyt pöly	T12
toimisto asuinrakennuksessa Helsinki	toimistotyö	tietokoneeseen kertynyt pöly	T13
asunto, Pori	tietokonetyö kotona	tietokoneeseen kertynyt pöly	T14
toimisto, Helsinki	tutkimustyö (ei laboratorio)	loisteputkivalaisimien päälle kertynyt pöly	S15
laitetila, Oulu	kokeellinen tutkimustyö	ilmanvaihtokanavan suodinelementtiin kertynyt pöly	S16
toimisto, Oulu	tutkijan kirjoitustila	valaisimen päälle, hyllyn ja kaapin päälle kertynyt pöly	S17

**Taulukko 2 . Sisätiloista eri tavoin kerättyjen pölyjen mitatut toksisuudet. *Kohteet\** joissa terveyshaitta epäily. EC<sub>50</sub> on siittiöaltistuksessa se tutkitun aineen pitoisuus, joka pysäyttää >50 % siittiöistä**

Näyte	kerätyn pölyn saalis	etanoli liukoinen osuus paino % saaliista	EC <sub>50</sub> , µg/ml 3 – 4 d altistus
<b>Pölynimurista</b>			
P8*	65 200 mg	3,4	5
P9	4 000 mg	1,4	40
<b>Tietokonepölyt</b>			
T10*	12 mg	5,0	5
T11*	30 mg	2,2	25
T12*	16 mg	9,4	3
T13	60 mg	5,0	25
T14*	28 mg	10,0	3
<b>Laskeutuneet pölyt pinnoilta &gt;1 m korkeudessa</b>			
S15*	63 mg	9,0	0,8
S16*	97 mg	4,1	10
S17*	75 mg	0,8	12
heinäpöly	vertailuaine	2,7	50

## Näin tutkittiin aerosoli- ja pölynäytteiden toksisuusvaste

1. Näytteistä pieni erä mikrobien viljelyyn, muu osa upotettiin etanoliin (94%, 2 h). Saadusta etanoliuutteesta poistettiin liukenematon aines dekantoimalla, sentrifugoimalla tai suodattamalla, uute haihdutettiin kuiviin (50°C) ja haihdutusjäännös liuotettiin pitoisuuteen 10 mg ml<sup>-1</sup>. Tästä tehtiin laimennossarja niin, että korkein altistuspitoisuus oli 100 µg / ml, alin 0,6 µg / ml.

2. Näyteuutteiden solumyrkyllisyys tutkittiin sian siittiöitä ja muita soluja testisoluna käyttäen. Myrkyllisyys ilmaistiin EC<sub>50</sub> arvona. Siittiötä käytettäessä EC<sub>50</sub> tarkoittaa pienintä tutkitun uutteen pitoisuutta, joka lamauttaa liikkuvuuden yli 50% :ssa altistetuista siittiöistä verrattuna siittiöihin jotka on altistettu vastaavalle nollanäytteelle (=ei sisällä pölyä).

3. EC<sub>50</sub> arvo ilmoitetaan mikrogrammoina uutteen sisältämää ainetta millilitrassa siittiösoluja (µg ml<sup>-1</sup>). Siittiösoluja on millilitrassa kaupallisesti saatavaa siemen-nestettä 27 milj.

## **Ihmisen altistumisen mittaaminen: edellyttää tietoa kertymäajasta ja pitoisuuksista ilmassa**

Tietokoneisiin, pölynimureihin ja korkealla oleville tasopinnoille kertyneen pölyn toksisuus osoitti että osassa tutkittuja työtiloja oli ilmassa leijunut myrkyllistä pölyä tai aerosolia.

Koska kertymäajan pituudesta tai huoneessa leijailleen aerosolin sakeudesta tuona aikana ei ollut tietoa, saatu tulos on vain kvalitatiivinen todiste altistumisesta.

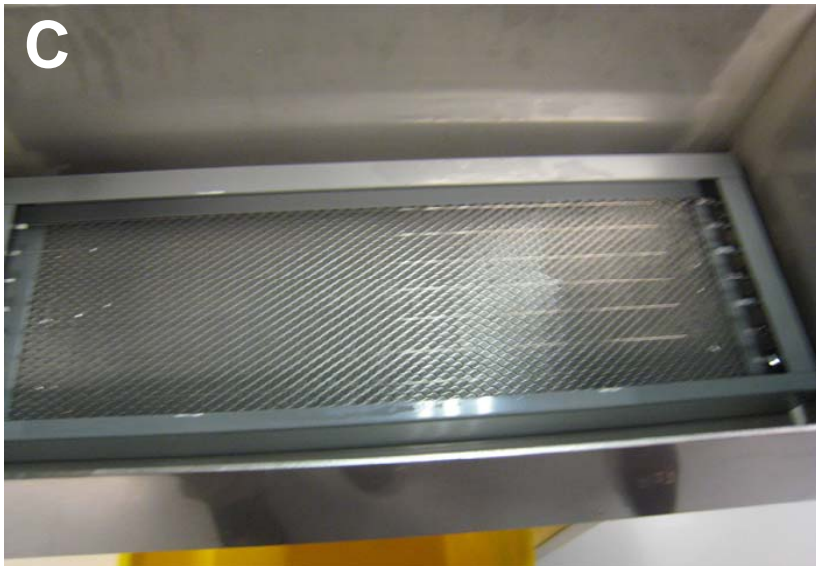
Kvantitatiivista altistumistietoa varten tarvitaan kvantitatiivinen, toistettava, dokumentoitu aerosolin keräysmenetelmä.

**Tähän tavoitteeseen olemme tutkineet kolmea erilaista näytteenkeruumenetelmää: sähköstaattinen keräys, suodatinkeräys, adsorptiokeräys.**

**Näistä esittelen seuraavassa sähköstaattisella keräyksellä saatuja tuloksia.**



Aerosolin keruumenetelmiä: A. näytepaikka; B. adsorptiosuodin; C. elektrostaattinen suodin; D. liuotiniukoisen jakeen erottaminen suotimesta



### *Taulukko 3. Tutkimusta varten kerätyt aerosolinäytteet päiväkodeista v. 2009-2010.*

Työpaikka	Toiminnan laatu	Näytteen laatu	näyte
päiväkoti, Tampere	lasten ruokailutila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A1
päiväkoti, Tampere	lasten leikkiutila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A2
päiväkoti, Tampere	lasten lepotila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A3
päiväkoti, Tampere	lasten ruokailutila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A4
päiväkoti, Uusimaa	henkilöstön taukutila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A5
päiväkoti, Uusimaa	lasten lepotila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A6
päiväkoti, Uusimaa	lasten ruokailutila	sisäilmaa keräimellä 720 h	A7
päiväkoti, Uusimaa	lasten leikkiutila	sisäilmaa keräimellä 672 h	A8
päiväkoti, Uusimaa	lasten ruokailu ja lepotila	sisäilmaa keräimellä 672 h	A9

*Taulukko 4. Päiväkodeista 2009-2010 kerättyjen aerosolien mitatut toksisuudet. Kohteet\* joissa terveyshaitta epäily.*

näyte	kerätyt aerosolit, saalis $\mu\text{g}$		etanoliliukoinen osuus aerosolista ja sen toksisuus	
	$\mu\text{g}$ (keräysaika h) / $\text{m}^2$	keskisaalis $\mu\text{g}$ / 8h koko tilasta	paino % aerosolin saaliista	$\text{EC}_{50}$ , $\mu\text{g}/\text{ml}$ 3 – 4 d altistus
A1*	1800 (720 h)	530	8	2
A2*	2800 (720 h)	820	14	3
A3*	1900 (720 h)	820	7	3
A4*	800 (720 h)	290	19	3
A5*	600 (720 h)	270	46	<3
A6*	4400 (720 h)	1400	20	<6
A7	1300 (720 h)	560	24	<3
A8	790 (672 h)	51	67	25
A9	690 (672 h)	23	24	18

Sähköstaattista keräintä käytettiin päiväkodeissa (näytteet A1-A9). Kohteina oli 9 tilaa, joista 6:ssa oli tiedossa oire-epäily.

Kunakin kohteen ilmaa kerättiin yksi kuukausi. Siinä ajassa keräimeen kertyi 0,6 – 4,4 mg aerosolia huonetilan pinta-ala m<sup>2</sup> kohti.

Tutkittua huonetta ja 8 h mittausjaksoa (= työpäivä) kohti laskettuna kertymä oli 0,3 - 1,4 mg.

**Sähköstaattisesti kerätystä aerosolista keskimäärin 20% (7% – 46%) oli etanoliliukoista. Etanoliin liukoisen aerosoli-aineksen ominaismyrkyllisyys oli suuri: EC<sub>50</sub> 2 – 6 µg ml<sup>-1</sup> (3-4 päivän altistus).**

**Taulukoiden 1 ja 4 näytteistä 11 (A1, A2, A3, P8, P9, T10, T12, T13, T14, S16, S17) viljeltiin ja niistä kasvaneiden seosviljelmien myrkyllisyydet tutkittiin sian siittiöttestillä.**

Heinäpölystä ja myrkyttömistä pölyistä P9 ja T13 saadut viljelmät eivät olleet myrkyllisiä ( $EC_{50} \geq 50 \mu\text{g ml}^{-1}$ ) mutta näytteistä A1, A2, A3, P8, T10, T12, S17 saadut viljelmät olivat erittäin myrkyllisiä ( $EC_{50}$  0.03 - 6  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ).

**Myrkyllisistä näytteistä kasvoi myrkyllisiä mikrobeja. Myrkyttömistä näytteistä kasvoi myös paljon mikrobeja, mutta ne eivät olleet myrkyllisiä.**

**Myrkylliset aerosolit sisälsivät siis eläviä, toksineja tuottavia mikrobeja.**

Tunnistettujen myrkyntuottajien lajistossa oli mukana *Bacillus cereus*, *Bacillus simplex*, *Bacillus subtilis*, *Paenibacillus polymyxa*, *Streptomyces griseus* ja *Aspergillus sp.*, joiden tuottamista toksineista tunnistettiin kereulidi, amylosiini, valinomysiini ja stefasidiini B.

**Taulu 5. Oireilevista ja oireettomista sisätiloista kerättyjen aerosolien ominaisuuksia Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen, 2010-01-19**

<i>Aerosoli tai pöly</i>	<i>Aerosolin vijelytulos maljalla</i>	<i>Sisätilaan liittyvää oireilua</i>	<i>tutkitut pölyt &amp; aerosolit</i>
Toksinen, EC <sub>50</sub> 3 – 5 µg/ml	toksinen, TSA ja MEA maljoilla EC <sub>50</sub> 1 – 3 µg/ml	on	T10, T12, T14, A1, A2, A3, A4, P8, S17
Ei toksinen, EC <sub>50</sub> 25 – 100 µg/ml	ei-toksinen TSA ja MEA maljoilla EC <sub>50</sub> 25 – 100 µg/ml	ei	T13, P9, Hei
Toksinen EC <sub>50</sub> 3 µg/ml	ei toksinen EC <sub>50</sub> 100 µg/ml TSA, MEA?	on	T11
Toksinen, EC <sub>50</sub> 10 µg/ml	Ei toksinen, EC <sub>50</sub> 27 µg/ml TSA EC <sub>50</sub> 62 µg/ml MEA	rakennuksessa on, k.o. tutkimuksessa tilassa ei	S16
Toksinen EC <sub>50</sub> 3 µg/ml	?? (ei vielä tehty)	ei tiedossa	A7

Entä kemialliset aineet? Tähänastisten tutkimusten perusteella näyttää siltä, että vain harvat epäorgaaniset aineet ovat niin myrkyllisiä että EC<sub>50</sub> arvoksi sian siittiötestissä tai muissakaan solutoksikologisissa testeissä tulee luku joka on <10 µg ml<sup>-1</sup>.

Orgaanisista aineista, joita koti- ja työpaikkaympäristössä varmasti aina on, myrkyllisimpiä ovat desinfiointiaineet. Triklosaanin, diklorofeeniin ja myrkyllisimpien ftalaattien EC50 (3-4 d) oli 1 – 5 µg ml<sup>-1</sup>.

Nämä aineet ovat rasvaliukoisia. Jos niitä pölyssä on, ne varmasti löytyvät etanoliliukoisesta jakeesta. Hyvin monet arkipäivän hyödykkeet sisältävät triklosaania: muovit (myös elintarvike-) tekstiilit kuten vuodevaatteet, lelut, hygieniatuotteet kuten nestesaippuat ja hammastahnat (korkein sallittu pitoisuus 0.3%). Ftalaatteja on lähes kaikissa muovituotteissa.

**Kuitenkaan näiden kemikaalien määrät sisätilapölyssä eivät voi olla niin suuria, että selittäisivät aerosolien ja pölyjen etanoliliukoisen jakeen EC50 arvoja 1 – 6 µg ml<sup>-1</sup>.**

Taulu 5. Eräiden myrkyllisten aineiden  $EC_{50}$  arvoja sian siittiötestillä mitattuna

Aine	$EC_{50}$ , $\mu\text{g} / \text{ml}$ 3-4 d altistuksen jälkeen
<b>Kemiallisia myrkkijä</b>	
2,4-dinitrofenoli	<3
3,5-dikloorifenoli	1
triklosaani (Irgasan DP300)	0,6 – 1
kaliumdikromaatti	50
di-n-oktyyli ftalaatti	5
<b>Mykotoksiineja (sienimyrkkijä)</b>	
T-2 toksiini (trikotekeeni)	0,5
satratoksiinit (G ja H)	5
<b>Sinilevämyrkkijä</b>	
anatoksiini A	>40
nodulariini	40

**Myrkyllisen aineen haitta elimistölle riippuu aineen ominaismyrkyllisyydestä, elimistöön kohdistuvasta kuormasta; aineen imeytyvyydestä elimistöön, altistumisajasta ja -tavasta.**

**Rasvahakuiset = lipofiiliset = hydrofobiset aineet imeytyvät elimistöön ihon ja limakalvojen läpi tehokkaasti**, rasvapakoiset = hydrofiiliset = pooliset aineet eivät imeydy.

**Etanoliin liukeneva aines sisältää näytteen kaikki rasvahakuiset aineet.**

**Näytteiden uutossa käytetty etanoliupotus on standardoitu haitta-aineiden mittaukseen** muoveista ja osoitettu soveltuvaksi myös monien muiden seosten, kuten paperituotteiden ja keräyskuidun, toksisuuden määrittämiseen.

**Miksi *in vitro* testi eikä *in vivo* testi = eläinkoe LD50 arvon (= 50% koe-eläimistä tappava) määrittämiseen?**

EU:n REACH määräysten myötä kaikkien uusien kemikaalien turvallisuus on tutkittava solutoksikologisia testejä (*in vitro*) käyttäen, ilman eläinkokeita.

**Miksi siittiötesti?**

Sian siittiötesti on REACH lainsäädännössä tarkoitettu *in vitro* testi. Sen herkkyys kemiallisten aineiden myrkkyyvaikutuksille on todettu samaksi kuin muiden käytössä olevien *in vitro* testien (Severin ym 2005).

**Tämän tutkimuksen saadut tulokset osoittavat, että siittiötesti soveltuu vaurioituneen sisäilmaston vastehakuiseen mittaamiseen.**

# KIITOS kiinnostuksesta!

- KIITOKSET TUESTA
- Työsuojelurahasto (hanke 109124)
- Suomen Akatemian tutkimuksen huippuyksikkö "Photobiomics" (hanke # 118637)
- ABS tutkijakoulun paikka MMM Stiina Rasimukselle
- Aerosoli-keräinten koostamisesta, huollosta ja innovaatioista kiitämme Risto Salinia (Inspectorsec Oy)
- Asiantuntijatuesta kiitämme prof. Magnus C. Anderssonia, prof. Tuula Putusta, Viikin Tiedekirjastoa ja Maat. Metsät. tdk Laitekeskusta. Kiitämme lukuisia tahoja avusta näytteiden keruussa ja sijoituspaikkojen löytämisestä keräinlaitteille.