

Biologiset riskitekijät sisätiloissa

Töölön rotarit

2012 06 07

Mirja Salkinoja-Salonen

Sisältö

1. Väärinkäsityksiä ja käsitteitä
 - historiaa, lainsäädäntöä
2. Ympäristötoksikologian menetelmistä
3. Esimerkki toteutetusta hankkeesta Helsingissä:
Helsingin koulut , 15 koulua, 403 opetustilaa, 450 opettajaa –
laajin koskaan toteutettu hanke, jossa kaksoisokkoutetusti
mitattiin:
 - haitallisten biologisten tekijöiden läsnäolo työtilassa
 - henkilöstön terveyshaittaoireet (laatu ja prevalenssi)
4. **Mikrobien tekemiä rikoksia ja niissä käytetyt
aseet: kolme tapausselostusta**
5. Kiitokset

Väärinkäsityksiä ihmisen sairauksien aiheuttajista

Väärinkäsitys 1ehkäiseviin toimenpiteisiin ei voi ryhtyä, koska sairauden aiheuttajaa ei tunneta.....

Tämä koskee suurinta osaa ihmisiä kroonisesti vammauttavista sairauksista: allergia, atopia, sydän- ja verisuonitaudit, kuulon heikentyminen, syövät, ihon sairaudet, neurologiset sairaudet, dementia, diabetes...

Mutta näillekin sairauksille on kansanterveystilastoista löydetty *korrelaatioita tiettyihin olosuhteisiin*, joissa ko sairaus yleistyy. Tilastollisen korrelaation perusteella on ryhdytty toimenpiteisiin olosuhteiden muuttamiseksi, mm. toteutettu tupakkalaki, ja sairausriskin vähentäminen näillä keinoin on onnistunut vaikka syy-yhteys jääkin epäselväksi.

Väärinkäsitys 2..... koska vain (pieni) osa työntekijöistä sisäilmaongelmaisessa rakennuksessa sairastuu, syynä ei voi olla sisäilma. Se että vain pieni osa altistuneista sairastuu (vakavasti) on sääntö eikä poikkeus, niissäkin sairauksissa joiden aiheuttaja tunnetaan! Esimerkkejä: poliovirus (lapsihalvaus) tartunnan saaneista (1950-60 luvun epidemioissa) alle 1% sai vammauttavia halvauksia; helikobakteerin kantajien riski saada peptinen mahahaava on alle 10% ja mahasyöpään sairastuu muutama %. Silti: helikobakteeri tiedetään mahasyövän tärkeimmäksi aiheuttajaksi ja potilaille suositellaan helikobakteerin häätöä.

Historiaa: Sisäilman epäpuhtauksiin liittyviä altisteita, tupakansavu ja asbesti.

Tupakansavu koostuu sadoista eri aineista. *Tupakansavulle altistumisen estäminen on nyt osa lakisääteistä työterveyshuoltoa. Se säädettiin ehkäisemään (tupakoimattomien) työntekijöiden altistumista työtilojen sisäilmassa.*

Ei tiedetä mikä tai mitkä tupakansavun sisältämistä aineista mahdollisesti ovat syy-yhteydessä sairastumiseen. Tupakkalain säätämisen perusteena oli *tilastollinen korrelaatio tupakansavulle altistumisen ja eri sairauksien välillä* (mm. sydän- ja verisuonitaudit, keuhkoahdauma, syövät). Näihin tauteihin voi sairastua ilman tupakansavu-altistumistakin. *Korrelaatio tarkoittaa sitä, että savulle altistuminen lisää sairastumisen riskiä. Vain pieni osa altistuneista sairastuu, mutta ehkäisevä laki oli tarpeen koska etukäteen ei tiedä kuka sairastuu.*

Sensijaan asbestoosin osoittaminen keuhkosyövän aiheuttajaksi (mesentiliooma) oli yksinkertaista, koska asbestikuitujen analysointiin ei tarvita kemiaa vaan ne näkyvät jo mikroskoopilla, niin ympäristössä kuin ihmisen keuhkokudoksissakin. *Mineraalikuuduille altistumisen ehkäiseminen ja seuranta on osa työterveyshuoltoa.*

Toksisuuden vastehakuinen mittaus on ympäristötoksikologian tärkeä menetelmä

Vastehakuista menetelmää käytetään *kun ei ole etukäteistietoa siitä mitkä aineet voivat aiheuttaa* haitallisen lopputuleman, (Kuch ym 2010).

Etsitään siis haitallista vastetta. Se voi olla jonkin sairauden tai oireen yleistymisen tietyllä asuinalueella, syntymävammat (esim. sukupuolielinten vajaakehitys).

Vastehakuisella (engl. Effect-based") menetelmällä etsitään mm sisäeritystä häiriköiviä aineita vesiympäristönäytteistä (mm Itämeri).

Vastehakuiset menetelmät otettiin ympäristötoksikologiassa käyttöön kun ilmeni, että satoja samalla tavoin häiriköiviä eri aineita löytyy ympäristöstä (kemikaalien muuntumistuotteet mukaan lukien).

Yksittäisten aineiden seulonta ei silloin ole mielekästä eikä taloudellisesti mahdollistakaan.

Ympäristötoksikologiassa tärkein numerollinen mittari on haittavaste, ilmaistuna EC arvolla. EC_{50} = se ympäristöaltisteen pitoisuus jolle altistettuna >50% soluista tai yksilöistä vaurioituu.

Solutoksikologinen mittaus:

1. Vaurio todetaan nopeasti, tunneissa tai vuorokausissa.
2. Saadaan selville solutason sellaisiakin vaurioittavia mekanismeja, joiden ilmeneminen eläimissä / ihmisessä on hidasta, tai joille koe-eläimet eivät lainkaan ole herkkiä (esim. talidomidi "epidemia", 10 000 vammautunutta (Weidenbach 1959, Wiedemann 1961, Lenz & McBride 1961); margariiniepidemia "Planta" (Unilever)).
3. REACH lainsäädäntö (EU) edellyttää eläinkokeiden vähentämistä. Ympäristönäytteiden ja kemikaalien testaukseen ei eläinkoelupia yleensä anneta .

Toksisuus tutkittiin
InspectorSec OY:n toimesta
Helsingin Yliopistossa vv.
1995-2000 kehitetyllä
solutoksikologisella
menetelmällä.

Menetelmän
sisäilmasovellus on validisti
kuvattu kansainvälisesti
arvostetuimmassa
solutoksikologian sarjassa
"Toxicology in Vitro"



Boar spermatozoa as a biosensor for detecting toxic substances in indoor dust and aerosols

M.A. Andersson^{a,1}, R. Mikkola^{a,1}, S. Rasimus^a, D. Hoornstra^a, P. Salin^b, R. Rakkila^a, M. Heikkinen^{c,2}, S. Mattila^d, J. Peltola^{a,e,3}, S. Kalso^e, M. Salkinoja-Salonen^{a,*}

^a Department of Applied Chemistry and Microbiology, P.O. Box 56, Biocenter 1, FI 00014 Helsinki University, Finland

^b InspectorSec Ltd., Asemakylätie 29, FI 90840 Haukipudas, Finland

^c New York University School of Medicine, New York, NY 10016, USA

^d Unit of Structural Chemistry, Department of Chemistry, P.O. Box 3000, FI 90014 University of Oulu, Finland

^e Metropolilab, P.O. Box 550, FI 00099 City of Helsinki, Finland

ARTICLE INFO

Article history:
Received 22 February 2010
Accepted 16 August 2010
Available online 21 August 2010

Keywords:
Aerosol toxicity
Dust
Boar sperm
Amylosin
Cereulide
Stephacidin B
Valinomycin

ABSTRACT

The presence, quantity and origins of potentially toxic airborne substances were searched in moisture damaged indoor environments, where building related ill health symptoms were suspected and reference sites with no health complaints. Boar spermatozoa were used as the toxicity sensor. Indoor aerosols and dusts were collected from kindergartens, schools, offices and residences ($n = 25$) by electrostatic filtering, vacuuming, wiping from elevated surfaces and from the interior of personal computers. Toxicity was measured from the ethanol or methanol extracts of the dusts and aerosols. EC_{50} was expressed as the lowest concentration of the airborne substance that inhibited motility of >50% of the exposed sperm cells compared to vehicle control, within 30 min, 1 day or 3–4 days of exposure. Remarkably toxic aerosols ($EC_{50} \leq 6 \mu\text{g ml}^{-1}$) were found from 11 sites, all of these were sites with known or suspected for building related ill health. Toxic microbial cultures were obtained from subsamples of the toxic aerosols/dusts. From these cereulide, amylosin, valinomycin and a novel indoor toxin, stephacidin B were identified and toxicities measured. Airborne dispersal of valinomycin from *Streptomyces griseus* cultures was evaluated using a flow-through chamber. Significant amounts of valinomycin (LC–MS assay) and toxicity (boar sperm motility assay) were carried by air and were after 14 days mainly recovered from the interior surfaces of the flow chamber.

© 2010 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Indoor air related adverse health effects are frequent in countries where people spend most of their time indoors. The complaints often involve moisture damaged buildings (WHO, 2009) but no correlation of health complaints has been found with microbial densities or species representation (Curtis et al., 2004) except for high concentrations of *Stachybotrys* molds (Kuhn and Ghannoum, 2003) which almost always correlate with occupant health problems. Correlation with endotoxins, known mycotoxins, microbial volatile organic emissions (MVOCs) or

other microbial metabolites have been sought for but none has been found (Bornehag et al., 2004; Brasel et al., 2005; Tuomi et al., 2000).

Adverse health effects experienced by persons working or living in moisture troubled buildings range from upper and lower respiratory tract symptoms, eye irritation, headache and tiredness to asthma, chronic fatigue, arthritis, cardiovascular and other serious health damages (Curtis et al., 2004; Husman, 1996; Storey et al., 2004). Yet in many cases the health authorities are left with no tool to monitor the living or working environment for agents to predict or estimate risks for health in a suspected building. The recent study of Polizzi et al. (2009) indicated that the fungal metabolites detected in indoor air of moldy interiors were other than those usually analysed by the mycotoxin targeted techniques. This is similar to the situation for monitoring environmental exposure to endocrine disrupters, of which some are known but many unknown substances, each at a low concentration. A solution for this was recently offered by developing an effect-based bioassay instead of measuring concentrations of known individual

* Corresponding author. Tel.: +358 9 19159300 (Office), +358 40 5739049 (Mobile); fax: +358 9 19159301.

E-mail address: mirja.salkinoja-salonen@helsinki.fi (M. Salkinoja-Salonen).

¹ These authors contributed equally to this work.

² Present address: Westat, 1600 Research Boulevard, Rockville, MD 20850, USA.

³ Present address: Central Hospital of Lapland, Laboratory of Microbiology, Ounasrinteentie 22, FI 96400 Rovaniemi, Finland.

3. 1. Tutkimuksen kohde: koulujen sisäilma

- MIKSI?
- Koulurakennusten sisäilmaan liittyvä korjausrakentaminen on merkittävä menoerä jokaisessa suomalaisessa kunnassa.
- Kouluja tutkitaan ja korjataan sisäilmaongelmien takia paljon.
- *Korjaustoimien jälkeen sisäilma saattaa täyttää viranomaiskriteerit hyvälle sisäilmalle (STM, TTL, THL).*
- *Siitä huolimatta korjaukset usein epäonnistuvat siinä mielessä, että koulun työntekijöiden ja koululaisten terveyshaittojen vähentyminen jää saavuttamatta.* (Sauni ym., Remediating buildings damaged by dampness and mould for preventing or reducing respiratory tract symptoms, infections and asthma, Review, The Cochrane Collaboration, 2011, 53 pp)

Tutkimus tehtiin koska:

Viralliset ohjeet (Sosiali- ja terveystieteiden ministeriö, Työterveyslaitos), mittareiden ja viitearvojen puute eivät anna mahdollisuutta sisätilojen terveysriskin arviointiin viranomaishyväksytyillä menetelmillä.

Tämä ongelmallisen asiointilan on tuonut äskettäin julkisesti esille mm Suomen suurin kiinteistöjen omistaja, Helsingin kaupungin kiinteistövirasto.

Helsingin kaupungin kiinteistövirasto päätti v. 2011 ottaa (koe)käyttöön Helsingin Yliopisto kehittämän, sisätilanäytteiden toksisuuteen perustuvan menetelmän.

Toksisuustutkimuksen kehittäminen koulurakennuksissa



9.3.2012
Sari Hildén

Helsingin kaupunki
Kiinteistövirasto

Tausta

- Pääosa kaupungin julkisten rakennusten korjauksista liittyy erilaisiin sisäilmaongelmiin
- Nykyisillä sisäilmatutkimusmenetelmien avulla ei läheskään aina pystytä arvioimaan ongelmien todellista syytä, kosteusvaurioiden merkitystä, korjausten onnistumista
 - meillä ei ole riittäviä keinoja korjausten priorisointiin ja korjausmenetelmien oikeaa valintaan sekä korjausten onnistumisen arviointiin

2
9.3.2012
TILAKESKUS

Helsingin kaupunki
Kiinteistövirasto

3.2. Helsingin koulut: tutkimus sisätilojen toksisuudesta, toteutettu 2011:

Helsingin kaupungin kiinteistövirasto tilasi tutkimuskonsortiolta Helsingin Yliopisto – InspectorSec Oy 15 koulun sisätilatoksisuuden tutkimuksen samanaikaisesti sisätiloihin liittyvän oireilun tutkimuksen kanssa.

Tavoitteena oli selvittää, olisiko sisätilojen toksisuuden tutkiminen mahdollinen työväline opettajien koulurakennuksiin liittyvän terveyshaittaoireilun välisten yhteyksien selvittämiseen.

Tutkimuksen tulokset esiteltiin valtakunnallisessa Sisäilmastoseminaarissa 14.3.2012.

Helsingin kaupungin kiinteistöviraston tiedote 9.3.2012:

Perustietoja tutkimuksesta

- Työsuojelurahaston ja kaupungin puoliksi rahoittama tutkimus
- Professori Mirja Salkinoja-Salonen oli tutkimuksen vastuuhenkilö (Helsingin yliopiston Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos)
- Tarkoitus oli selvittää laajalla terveyshaittakyselyllä ja kolmella erilaisella toksisuuden arviointimenetelmällä näiden menetelmien soveltuvuutta sisäilmaongelmien tutkimiseen

9.3.2012
Esityksen nimi / Tekijä

Helsingin kaupunki
Kiinteistövirasto

Toksisuus

- Aineen myrkyllisyys riippuu annoksesta
- Esimerkiksi: Lääkkeiden ohella tärkein kuolemaan johtavia myrkytyksiä aiheuttava aine Suomessa on alkoholi, jonka myrkyllisyys on suhteellisen vähäinen mutta kuolemaan johtava annos suuri.
- **Myrkyllisyys** eli **toksisuus** kuvaa kemiallisten aineiden kykyä aiheuttaa elimistön toiminnan häiriöitä tai rakenteellisia vaurioita
- Perinteisissä sisäilmatutkimuksissa on joskus määritelty mykotoksiineja eli home- ja sienten myrkyllisiä aineenvaihduntatuotteita) tuottavat mikrobilajit.
- **Toksiineja** tuottavia bakteereja ovat useita.

4
9.3.2012
TLAKESKUS

Helsingin kaupunki
Kiinteistövirasto

3. Tutkimuksen strategiat

1. Koulurakennusten omistaja valitsi tutkimukseen 15 koulua siten että ne heijastivat mahdollisimman hyvin Helsingin koulukantaa :

- ❖ uusia, vanhoja,
- ❖ pieniä, suuria,
- ❖ keskustassa ja esikaupungeissa,
- ❖ ala-, yläasteita, lukioita,
- ❖ koneellinen tai painovoimainen ilmanvaihto tai sekajärjestelmä

2. Koulujen henkilöstön terveystilanne kartoitettiin kaikki elimistön osa-alueet kattavalla kyselyllä :

- ❖ 136 oiretta, 50 nimettyä sairautta
- ❖ demograafiset kysymykset
- ❖ elintapa- ja urakysymykset

3. Toinen tiimi keräsi samanaikaisesti kaikkien koulujen kaikista opetukseen liittyvistä tiloista sisätilänäytteet (3 kpl/tila). Näytteet kerättiin opetuksen aikana ja niistä mitattiin toksisuus solutestillä laboratoriossa.

4. Terveystilakysely ja toksisuustutkimus tehtiin kaksoissokkoutettuna: kaksi erillistä tiimiä, koodit avattiin vasta kun molemmat osiot valmistuivat.

3.4. Tutkimuksen toteuttaminen:

Terveyshaittaoirekyselyn vastauksia käytettiin terveyshaittaoiretilanteen arviointiin edellyttäen että:

- Lomakkeen olennaisiin kysymyksiin oli vastattu
- Vastaajan työtila tunnistettiin koulun tilaksi
- Vastaaja työskenteli tämän koulun tiloissa lukuvuonna 2010-2011 vähintään 7 viikkotuntia
- Työpiste oli säilynyt samana koko lukuvuoden

Sisätilanäytteet, joista tutkittiin toksisuus, olivat :

1. Yläpinnalta kerätty pöly
2. Opettajan pöydälle 1 tunnin ajaksi (opetuksen aikana) avoimena sijoitettu viljelymalja

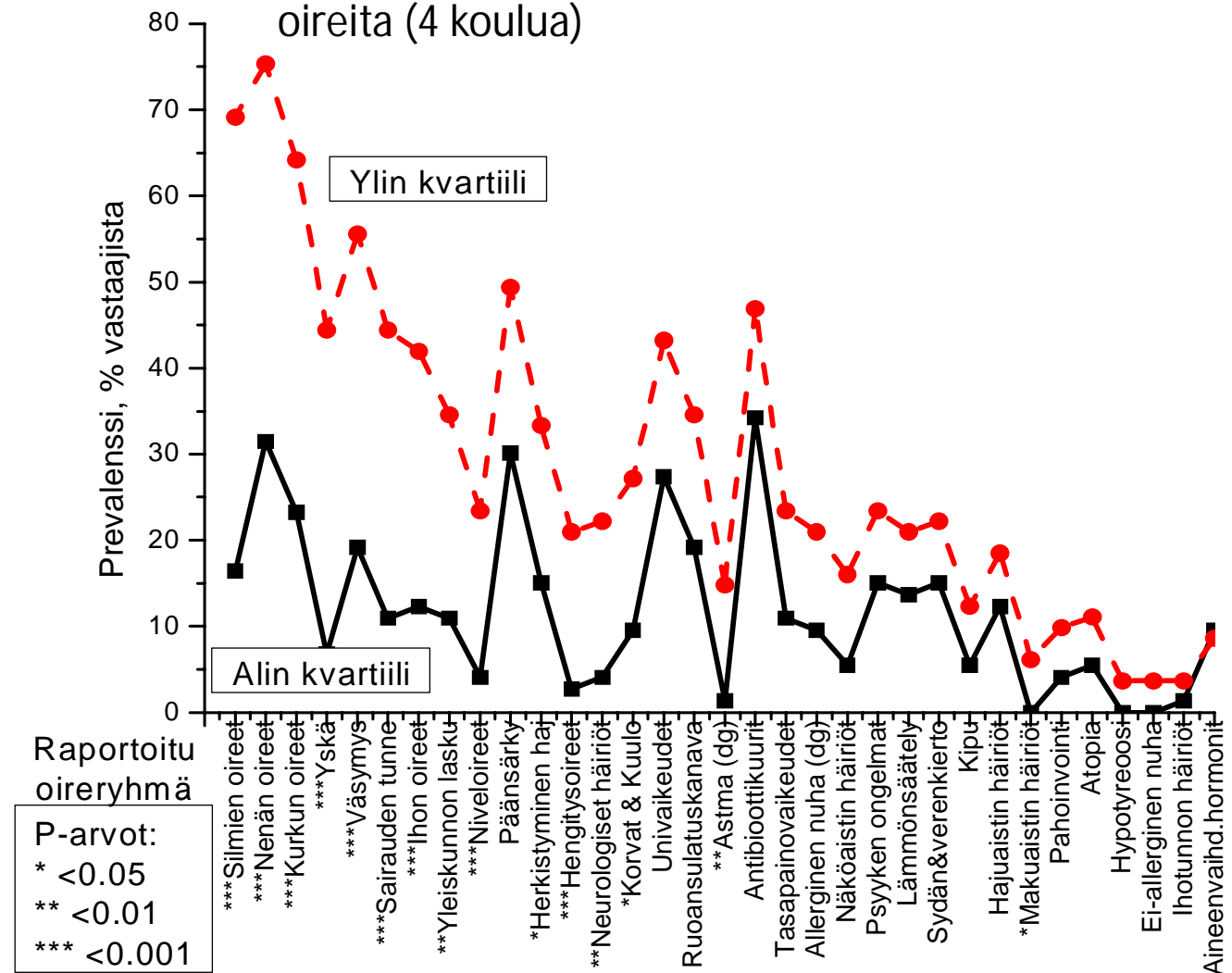
Toksisuuden mittaaminen :

1. Mitattiin yläpölyjen etanoliuutteesta ja laskeumamaljojen kasvustoista (4 vk kasvatus)
2. Testisolu: sian siittiö; end point: liikkuvuus
3. Toksisuuden kriteeri: viitearvo EC_{50} 12 $\mu\text{g/ml}$ (REACH, kategoria 3 ATE "acute toxicity estimate" hengityselinten kautta altistukselle)

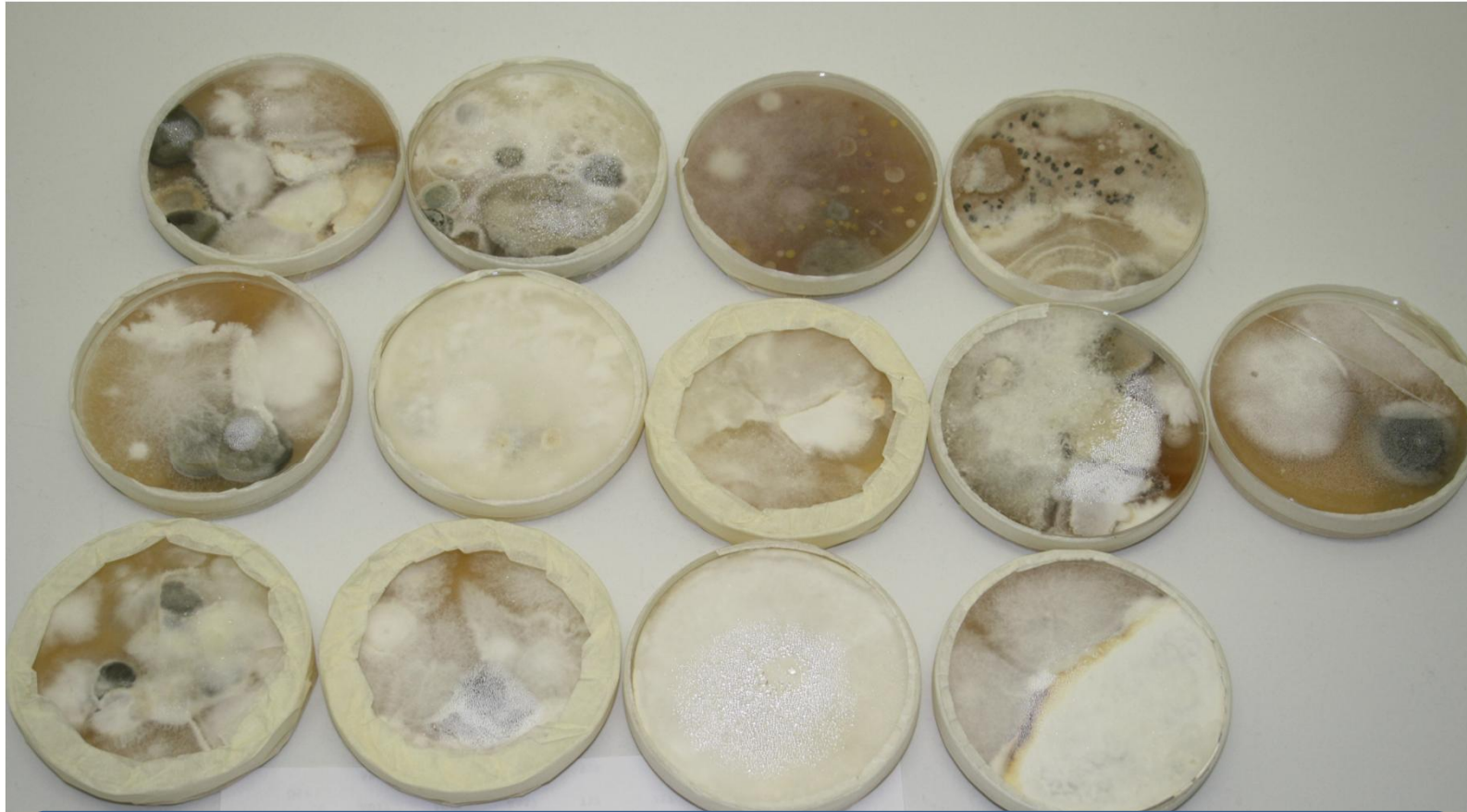
3.5. Tuloksia

Kyselyyn vastasi n. 450 opettajaa 15 koulusta. Näistä 382 opettajan vastaukset, täyttivät edellytetyt kriteerit

Terveyshaittaoireryhmien (32 ryhmää) prevalenssit kvartiileittain: eniten oireita (4 koulua), vähiten oireita (4 koulua)



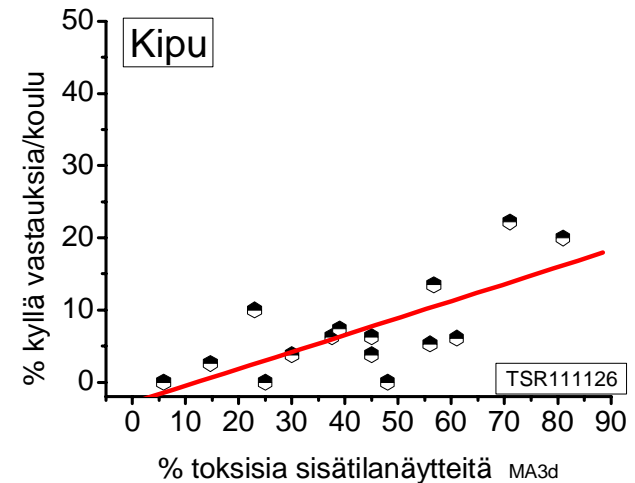
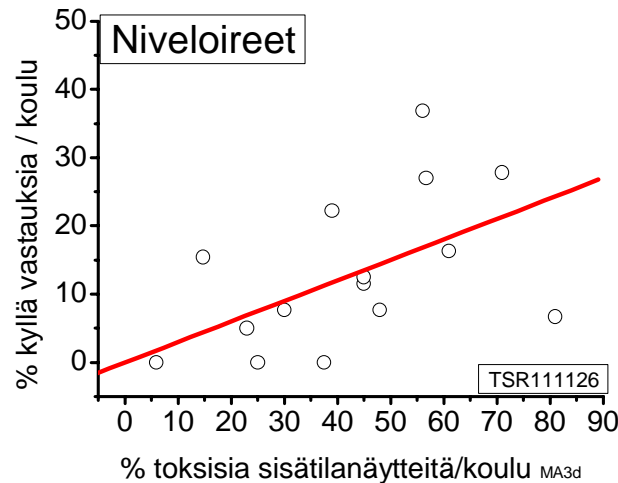
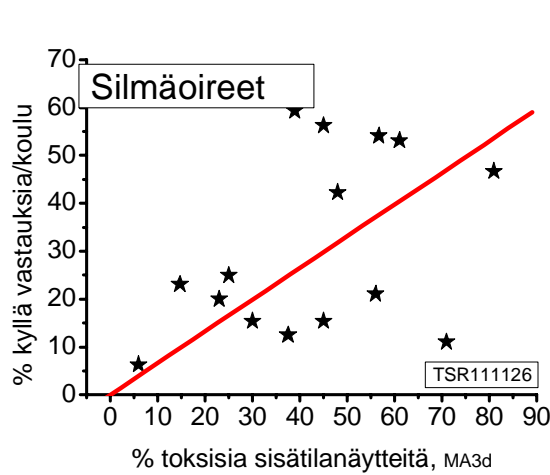
Opetustilan ilman passiivikeräysnäyte: Viljelymalja avattiin yhden tunnin ajaksi opettajan pöydällä. Sitten se suljettiin, vietiin laboratorioon ja annettiin kasvaa 4 viikon ajan. Muodostuneen kasvuston toksisuus mitattiin.



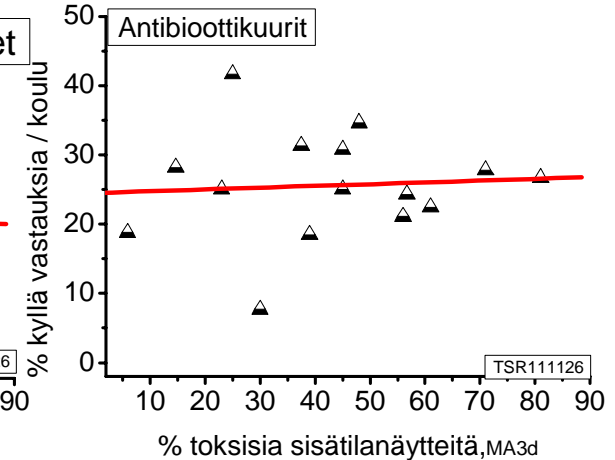
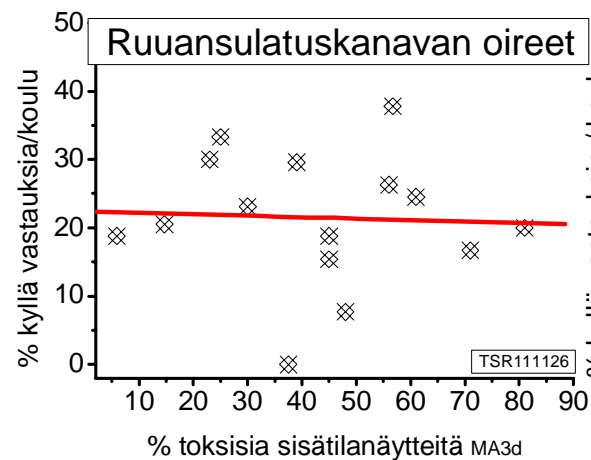
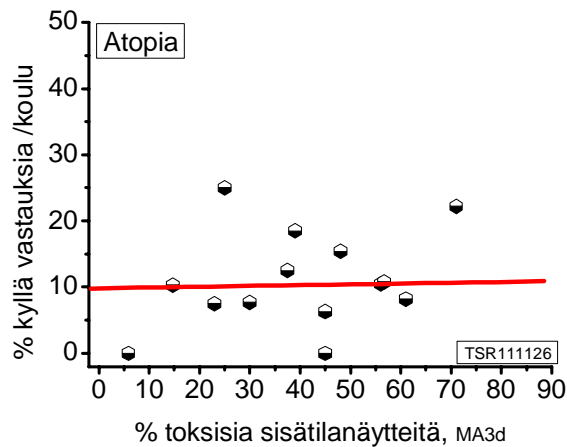
Koulun laskeumamaljoja 4 viikon kasvatuksen jälkeen menossa toksisuuden mittaukseen.

Verrataan laskeumamaljojen toksisuusmittausten tuloksia opettajien terveyshaittaoirekyselyn tuloksiin:									
	Kaikki koulut		Näytteet vähiten		Keskiryhmä		Näytteet eniten		
Sisätilänäytteiden toksisuus:			toksisia:				toksisia:		
Koulujen lkm	15 koulua		5 koulua		5 koulua		5 koulua		
Näytteitä, n	365		120		126		119		
Toksisiksi todettuja*, n	162		26		58		78		
Toksisten osuus, %	44,4		21,7		46,0		65,8		
Terveyshaittakyselyn (kaksoissokkoutettu) tulokset:									
Vastaajat, n	382		137		114		131		
Kysytty 136 erillistä oiretta.			vastaukset, pyydetty kyllä/ei						
Oireryhmät (32 kpl):	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%	
Yleisoireet	188	49,2	56	44,1	56	49,1	72	60,5	
Päänsärky	128	33,5	44	34,6	44	38,6	40	33,6	
Väsytys	122	31,9	41	32,3	32	28,1	49	41,2	
Sairauden tunne	77	20,2	11	8,7	24	21,1	42	35,3	
Yleiskunnon lasku	69	18,1	17	13,4	19	16,7	33	27,7	
Pahoinvointi	20	5,2	5	3,9	6	5,3	9	7,6	
Nenäoireet	175	45,8	51	40,2	48	42,1	76	63,9	
Kurkkuoireet	141	36,9	36	28,3	43	37,7	62	52,1	
Silmäoireet	126	33,0	24	18,9	44	38,6	58	48,7	
Univaikeudet	107	28,0	32	25,2	27	23,7	48	40,3	
Ihon oireet	93	24,3	25	19,7	27	23,7	41	34,5	
Yskä	87	22,8	21	16,5	26	22,8	40	33,6	
Herkistyminen haju ym	89	23,3	26	20,5	26	22,8	37	31,1	

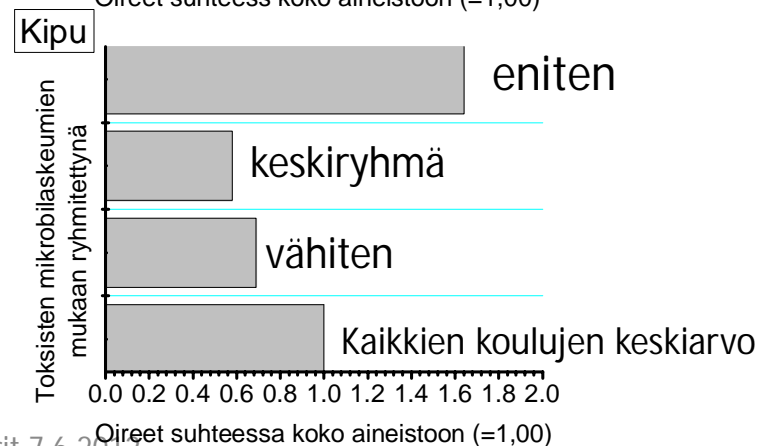
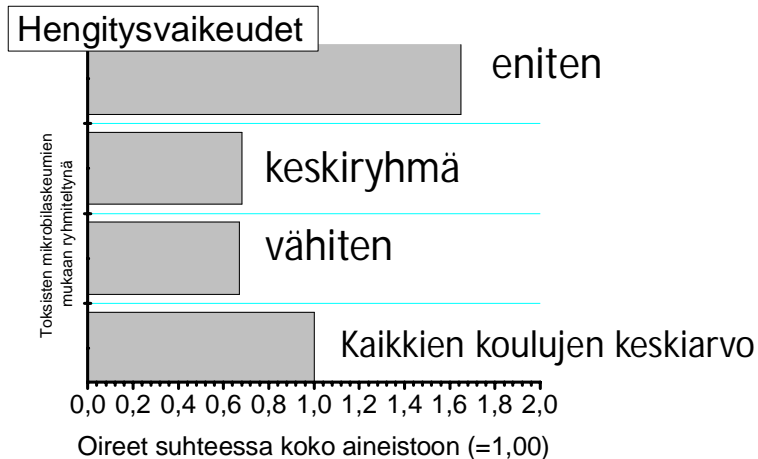
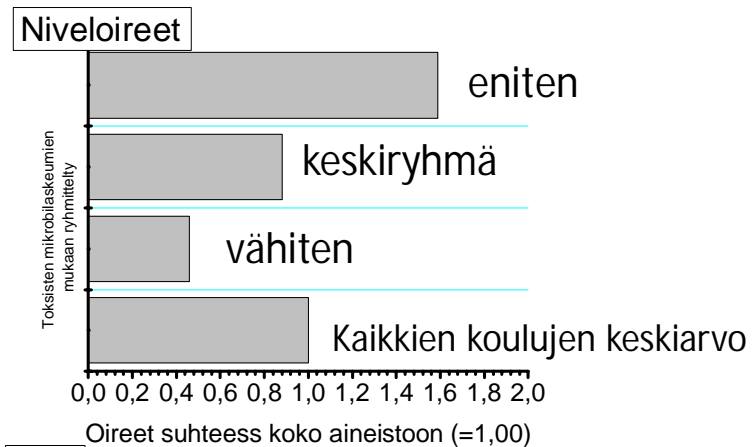
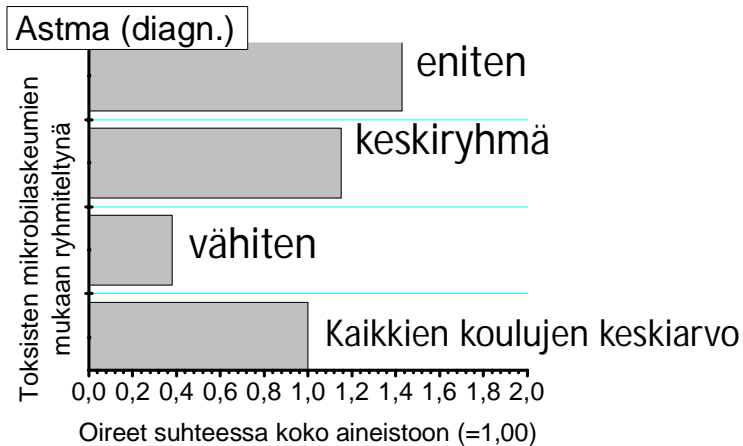
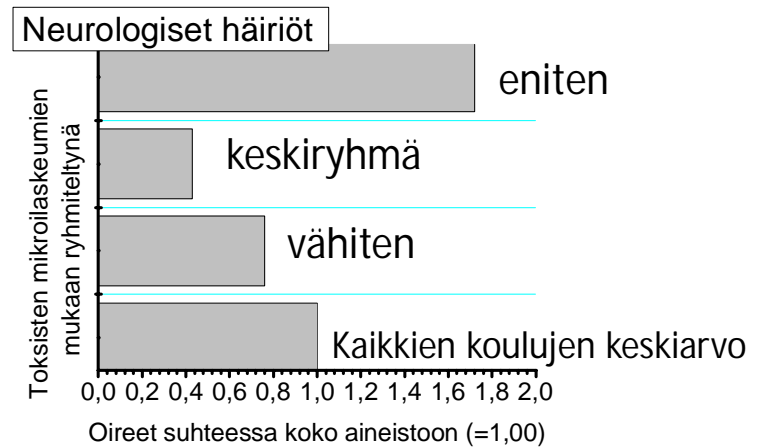
Laskeumamikrobien toksisuus korreloi koulukohtaisesti samoihin terveyshaitta-oireisiin kuin yläpölyjen toksisuus. Kukin täplä = yksi koulu, keskimäärin 25 vastaajaa ja 25 laskeumanäytettä:



Alla, atopia, ruuansulatuskanavan oireet tai antibioottien tarve eivät korreloineet toksisuuteen:

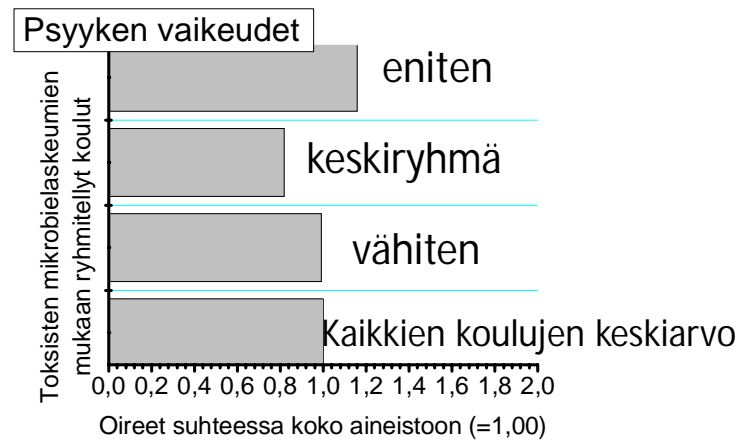
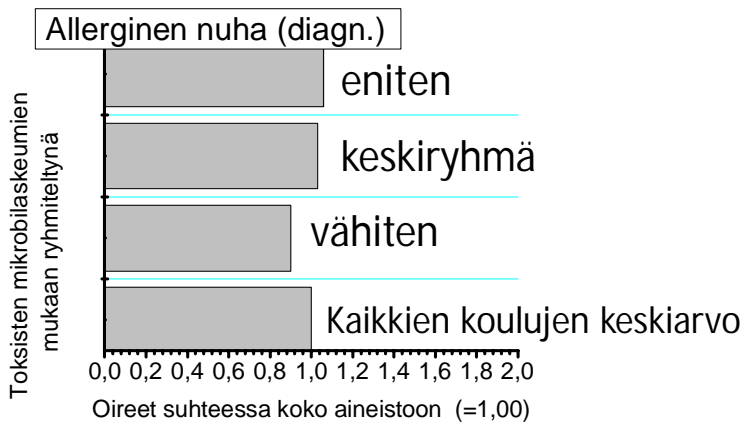
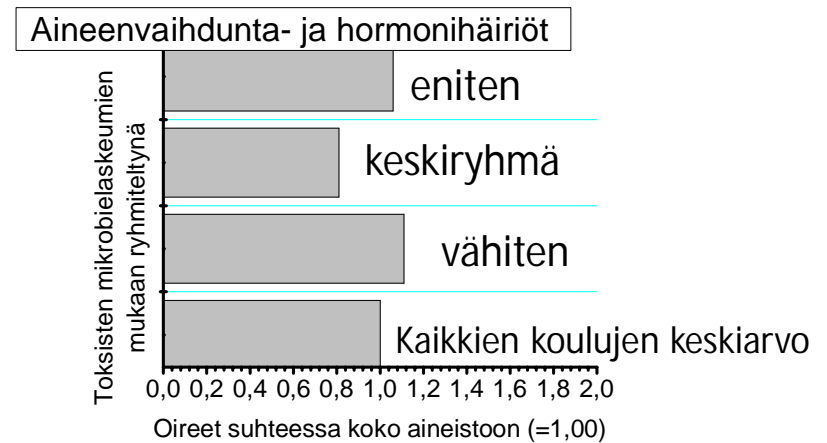
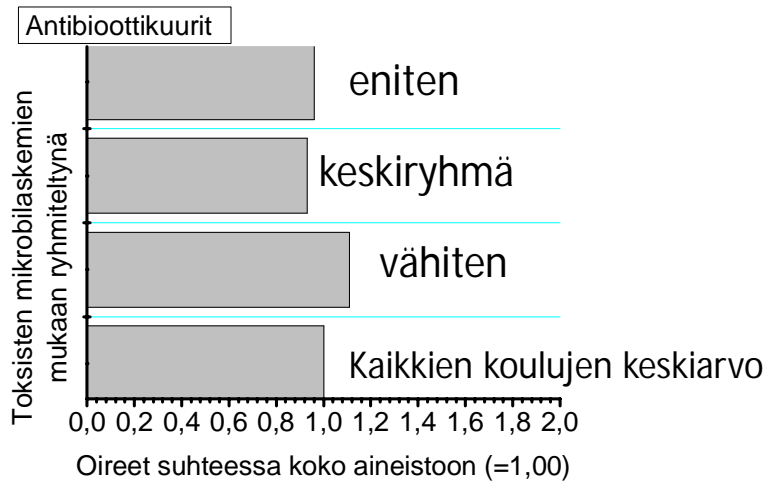


Palkin pituus näyttää kunkin oireen esiintyvyyden (382 vastaajaa, 15 koulua) kouluryhmissä joista toksisia sisätilanäytteitä löytyi *eniten* (5 koulua), *keskiryhmän* (5 koulua) ja *vähiten* (5 koulua).
 Astmaa, hengitysvaikeuksia, neurologisia ja niveloireita sekä kipuilua yliesiintyi kouluissa joiden ilmassa toksiineja tuottavia mikrobeja oli eniten.

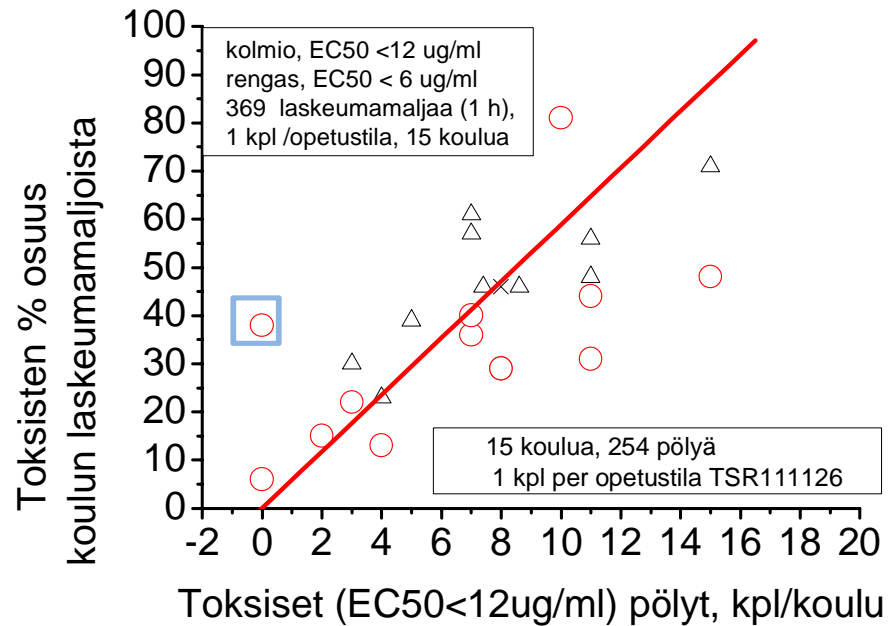


....sisätilanäytteiden toksisuudella EI havaittu yhteyttä seuraavien oireiden esiintyvyyteen koulujen (=15) henkilöstössä (382 vastaajaa): aineenvaihdunnan häiriöt, psyyken vaikeudet, allerginen nuha, antibioottikuurien tarve . Palkin pituus näyttää oireiden esiintyvyyden suhteessa kaikkien koulujen keskiarvoon.

Koulut jaoteltuina toksisten mikrobieläskemien määrän mukaan:



Yhden tunnin laskeumanäytteen toksisuus korreloi oireiden ja ylätilapölyn toksisuuteen:



Korrelaatio pölyjen ja laskeumien toksisuuden välillä löytyi kouluissa joista tutkittiin enemmän kuin 10 työtilan pölyt. Tämä tavoite saavutettiin kaikista kouluista yhtä lukuunottamata (merkitty).

3.5. Tiivistelmä ja johtopäätökset

Aineisto: Opetustiloista tutkitut 254 pölyä, 348 + 369 laskeumanäytettä, ja terveyshaittaoirekyselyyn kattavasti vastanneet 382 opetushenkilöä:

1. Koulujen työtiloista kerätyistä näytteistä osa oli luokiteltavissa toksisiksi. Yläpölyjen ja tunnin maljakeräyksen toksisuudet korreloivat toisiinsa koulutasolla.
2. Maljakeräys näyttää soveltamiskelpoiselta indikaattorilta esim. tilanteisiin kun mittauksia on tarpeen toistaa, kuten rakennuksen korjaamisen vaikutusten seurantaan.
3. Henkilöstön kokemien terveyshaittaoireiden määrä korreloi toksisten sisätilänäytteiden määrään kouluissa.

Tulokset osoittivat että (jatkoa):

4. Terveyshaittaoireiden yliesiintyvyyttä havaittiin koulurakennuksissa, kun toksista pölyä tai toksiinia tuottavia laskeumamikrobikasvustoja löytyi yli kolmasosasta koulun työtiloja ja edellyttäen että työtiloja tutkittiin yli 10 kpl / koulu. Usein yliesiintyviä terveyshaittoja olivat mm. astma ja hengitysvaikeudet, kipu, silmä-, nivel- ja neurologiset oireet.
5. Useiden terveyshaittaoireiden esiintyvyys kouluissa (n= 5) joista löytyi eniten toksisia sisätilänäytteitä, oli 2 – 3 kertainen verrattuna kouluihin (n = 5) joista toksisia näytteitä löytyi vähiten.
6. Sisätilänäytteiden toksisuudella EI havaittu yhteyttä seuraaviin: päänsärky, psyyken vaikeudet, allerginen nuha, atopia, ruuansulatuskanavan oireet, aineenvaihdunta- ja hormonihäiriöt, antibioottikuurien käyttö.

Mikrobien tekemiä rikoksia Keissi 1:

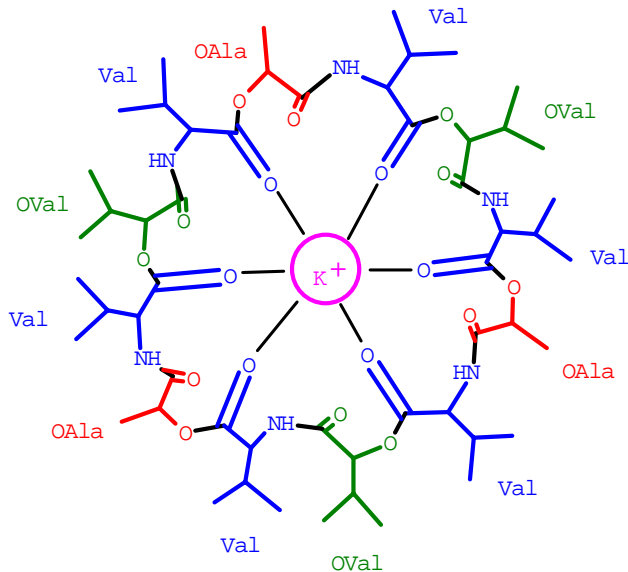
Myrkyllisen bakteerin hyökkäys leipomoon:



Leipomon työntekijät saivat oireita työtiloihinsa liittyen. Oiretilan lattiasta löytyi valinomysiiniä.

Valinomysiinin tuottajaksi paljastui aktinobakteeri *Streptomyces griseus* joka oli valloittanut rakennuksen.

Valinomysiini on syklinen jonofoorinen peptidi. Sen myrkyllisyys johtuu sen kyvystä kuljettaa kaliumia solukalvojen läpi. Solun kalium tasapaino (homeostaasi) luhistuu.



Valinomysiini on rasvaliukoinen ($\log K_{ow} = 5$) ja senvuoksi läpäisee ihon ja limakalvot.

Andersson M.A. et al., Appl Environ Microbiol (1998)

Paananen, A., et al., Inf & Imm, 68(1) 165-169 (2000)

Teplova V. et al, Toxicology and Applied Pharmacology, (2006)

Keissi 1 jatkuu...

Missä suomalaiset valinomysiiniä tuottavat streptomykeetit pitävät majaa?

Maria Andersson tutki ihmisen elinympäristöstä valinomysiinin tuottaja-streptomykeksiä

Motiivi tutkimukseen oli löytää ympäristöt joissa valinomysiiniä tuottavat bakteerit voisivat olla terveysriski ihmiselle tai tuotantoeläimelle.

Maria Andersson tutki kaupunkiympäristöä (koulut, päiväkodit, asunnot) ja maatiloja (eläinsuojat, rehuvarastot, viljat ja rehut).

Näytteenotto keskitettiin ilmassa leijuvaan ja siitä laskeutuvaan pölyyn, pinnoilla jotka olivat ≥ 1.5 m lattiatason yläpuolella. Eläinsuojat tutkittiin sisäruokintakauden aikana.

Case 1, contd

Sites and locations Numbers (n) of locations sampled and analysed for toxigenicity of <i>Streptomyces</i> isolates	Numbers of <i>Streptomyces</i> isolates		
	total	valino- mycin produc- ing	valino mycin nonprod- ucing
Commercial bakery with worker health problems, water damaged indoor wall material	11	7	4
Moisture damaged children's day care center, indoor dust	6	2	4
Moisture damaged elementary school building, indoor air (Anderson impactor sampling)	3	1	2
Moldy urban residential home, air (Anderson impactor sampling)	6	2	4
Moldy urban residential home, indoor dust	2	1	1
Urban residential homes (n = 10), indoor dust	36	0	36
Hay barns (n = 3) , indoor dust	50	0	50
Hay barns (n = 3) , indoor air	6	0	6
Horse stables (n = 2), indoor dust	10	0	10
Silage (n = 1) suspected as source of animal health problem	32	0	32
Bedding material, cow barn (n = 1)	23	0	23
Straw beddings (pigs) (n = 3)	5	0	5
Cereal grains (farm harvests, n = 4)	6	0	6
Potatoes (farm harvest)	12	0	12
Sum of the strains	208	13	195

Jatkoa, valinomysiinin tuottajien etsintä,

Maria Andersson eristi näistä ympäristöistä yhteensä 208 *streptomyces* kantaa. Löysimme niiden joukosta 13 valinomysiinin tuottajaa = 6%.

Kaikki (= 100%) 13 valinomysiinin tuottajaa löytyivät rakennuksista, joissa kärsittiin sisäilmaan liittyvästä terveysthaitasta.

Tutkittiin myös "toisin päin": eristettiin 64 *Streptomyces* kantaa "sairusrakennuksista". Tutkittiin näiden kyky tuottaa valinomysiiniä: 20% noista 64:stä oli valinomysiinin tuottajia.

Maatalousympäristöistä eristettiin 144 *streptomyces* kantaa, ja mitattiin näiden kyky tuottaa valinomysiiniä. Tulos oli nolla: yhtäkään tuottajaa ei löytynyt tästä joukosta.

Valinomysiiniä tuottavien *Streptomyces* kantojen esiintyvyys kaupungeissa (asunnoissa, työpaikoilla) oli melko vähäistä, <1% tutkituista kannoista.

Johtopäätös: valinomysiiniä tuottavien *Streptomyces* esiintyvyys rajoittui rakennuksiin, joissa oli kosteusvaurioita,

Keissi 2: Suomalaisten tutkijoiden löytämä mitokondriotoksiini

Mitokondrio on kaikkien korkeampien eliöiden solujen "sähkölaitos": mitokondriot polttavat ravintoaineita hapen avulla vedeksi ja hiilidioksidiksi, tuottaen samalla sähköä, jonka solu tarvitsee solukalvojensa sähkövarausten ylläpitoon (solun sisäpuoli on aina negatiivisesti varattu, ulkopuoli positiivisesti).

Monet mikrobit tuottavat molekyyliä, jotka ovat myrkyllisiä ympäristölleen aiheuttamalla "sähkövuodon" ja "oikosulkemalla" solun sähköisen viestinnän ja energianhankinnan. Mitokondriomyrkkijä tuottavia mikrobeja on "hometaloista" löytynyt viime vuosina tiuhaan tahtiin.

Seuraavassa esittelen yhden ensimmäisistä, "sähkönsyöjän", amyloosiiniksi nimetyn myrkkyaineen.

Amylosiini on mitokondriomyrkkö, sitä tuottaa *Bacillus amyloliquefaciens*, niminen bakteeri, jota esiintyy ruuan raaka-aineissa ja ympäristönäytteissä. *B. amyloliquefaciens* on myös paljon käytetty entsyymiteollisuuden työhevonen. Sillä tuotetaan mm. pesuaine-entsyymit ja aromiaineina käytetyt aminohappotuotteet. Se ei aiheuta ihmisessä infektioita, mutta jotkut sen kannat tuottavat peptiditoksiineja. *B. amyloliquefaciens* aiheutti 1990-luvulla ”tryptofaani-onnettomuuden”, joka vaati tuhansia ihmisuhreja. Mikä ja miten oli se haitta-aine joka syntyi tryptofaani-nimisen aminohapon tuotantoprosessissa (tuottajana *B. amyloliquefaciens*) ei tuohon aikaan selvinnyt tai ainakaan ei julkistettu.

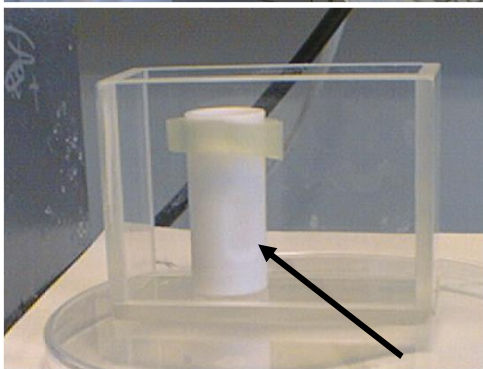
□ Me löysimme amylosiinin: rasvaliukoinen peptidi, molekyylipaino 1197 Da, sisältää leusiinia, proliinia, seriiniä, aspartaattia, glutamaattia ja tyrosiinia. Se tunnustuu massaspektrometrillä molekyylipainonsa avulla (1197g/mol)

□ Amylosiini molekyylituoottaa kationiselektiivisiä jonikanavia lipidikalvoihin, myös ihmisen soluihin. Kanavat läpäisivät kaliumia ja natriumia suhteissa $K^+ : Na^+ : Ca^{2+}$ of 26:15:3.5. Sairautta se aiheutti purkamalla elimistön solujen ja kudosten väliset jonigradientit: *kalium vuoti soluista ulos, ja natriumia tunkeutui veriplasmasta soluihin.*

□ Näistä jonivuodoista seuraa että mitokondriot (ensin) ja solukalvot (sitten) depolarisoituvat, eli niiden sähköinen homeostaasi tuhoutuu.

Mikkola, R; MA. Andersson, V Teplova, P Grigoriev, T Kuehn, S Loss, I Tsitko, C Apetroaie, N-E L. Saris, P Veijalainen, MS. Salkinoja-Salonen. 2007. *Toxicol*, 49, 1158-1171

Tässä on solukalvon sähkön läpäisevyyden mittaus menossa (black lipid membranes, BLM)



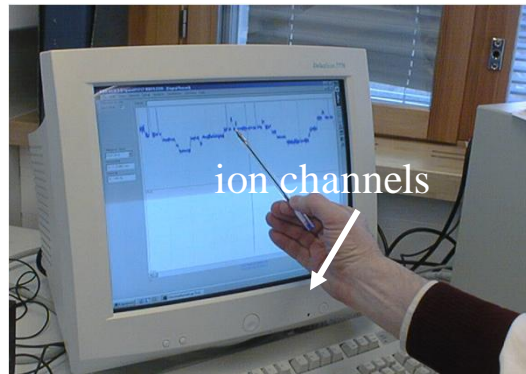
Mittaus tehdään teflonkyvetissä, jonka seinään on porattu 0,0075mm² reikä. Reikä peitetään lipidikalvolla. Sisä- ja ulkokammioissa on suolaliuos. Lipidikalvon sähkön johtavuus mitataan elektrodeilla.

Bakteeritoksiinista muodostui nanokanavia solukalvoon ja mitokondriokalvoon.

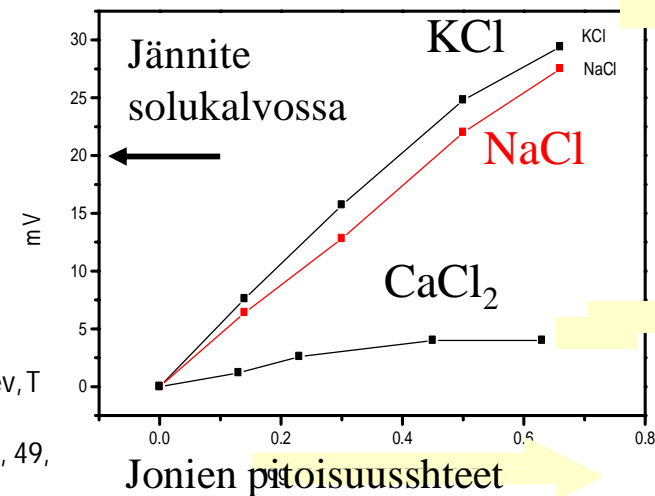
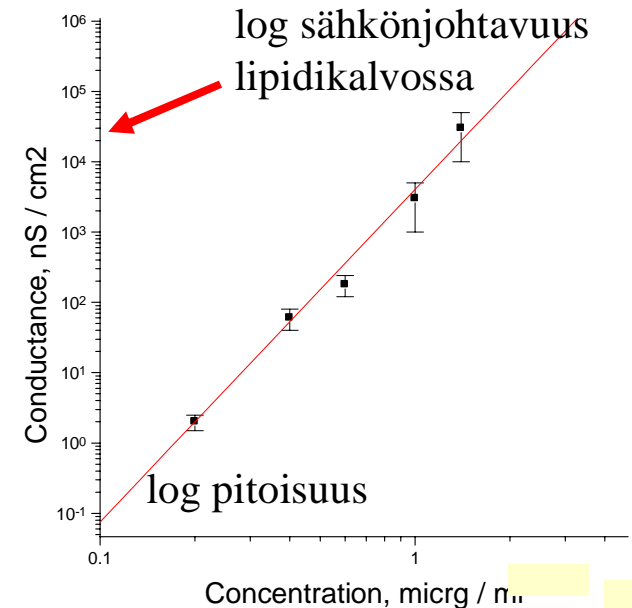
$$K^+ / Cl^- > 26$$

$$Na^+ / Cl^- = 15$$

$$Ca^{2+} / Cl^- = 3.5$$



Mikkola, R; MA. Andersson, V Teplova, P Grigoriev, T Kuehn, S Loss, I Tsitko, C Apetroaie, N-E L. Saris, P Veijalainen, MS. Salkinoja-Salonen. 2007. Toxicon, 49, 1158-1171
Töölön Rotarit 7.6.2012



Keissi 3: Sienen (homeen) tuottama jonikanavia muodostava peptidi.

Trichoderma harzianum Rifai ES 39

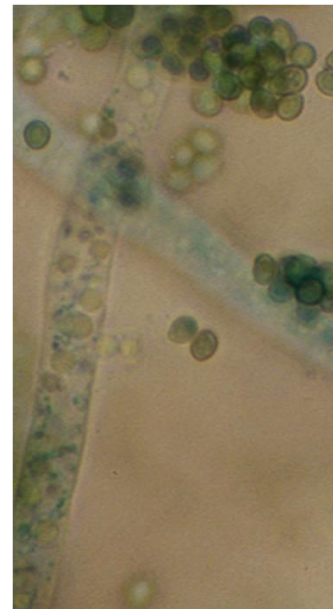
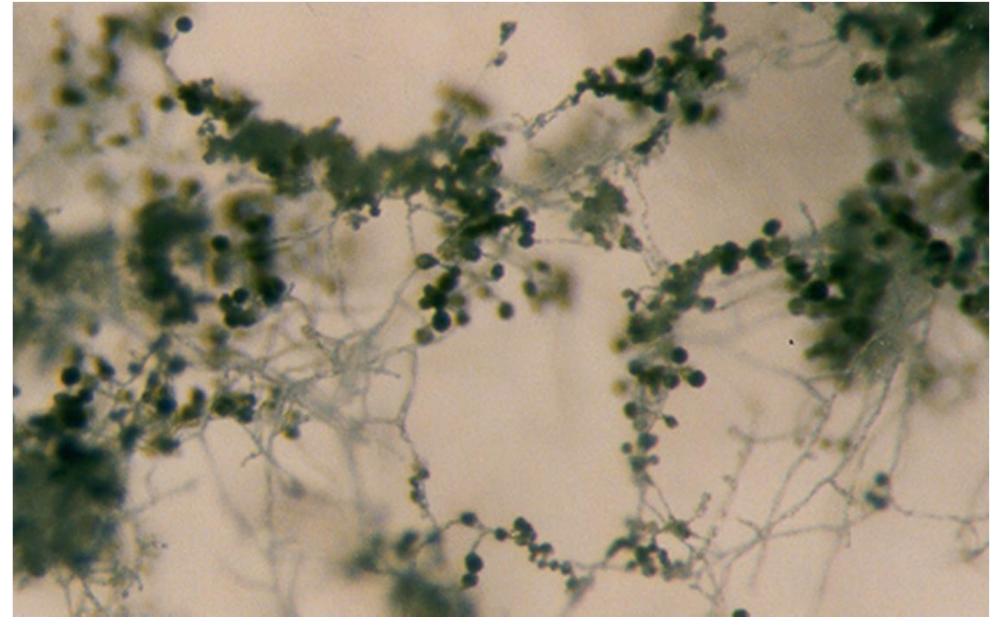
Trichoderma harzianum, tuottaa toksiinia joka muodostaa kaliumia läpäiseviä nanokanavia.

Altistuminen: hometaloissa
Seuraus: ihmisen solujen kalium homeostaasin luhistuminen

Tämä toksiini sai nimen hartsianiini ES39. Se kolonisoi pitäjämäkeläisen pientalon, ja yhdessä 6 muun toksiinintuottajan kanssa, tuhosi koko perheen terveyden.

Peltola, J., Andersson, M., Rainey, F.A., Haahtela, T., Mussalo-Rauhamaa, H., R. Samson & Salkinoja-Salonen, M.S.2001. Appl.Environm Microbiol, 67(7)3269-3274.

Peltola, J., Ritieni, A., Mikkola, R., Grigoriev, P.A., Pocsfalvi, G., Andersson M.A. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2004. Appl Environm Microbiol, 70 (8) 4996-5004.



Kiitokset teille, arvon Rotarit, että jaksotte kuulla tämän tarinan.....

Nämä tutkimukset on tehty Suomen Akatemian Huippuyksikkörahoituksen ja Työsuojelurahaston tuella.