

DIAGNOSTISIA TYÖKALUJA RAKENNUSTEN PATOLOGIAAN

Mirja Salkinoja-Salonen



Mikrobiologian julkaisuja 50
Helsingin yliopisto 2016

DIAGNOSTISIA TYÖKALUJA RAKENNUSTEN PATOLOGIAAN

Mirja Salkinoja-Salonen
Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos
Helsingin yliopisto

Työryhmä (2012-2015): Mirja Salkinoja-Salonen (vast.) , FT Maria A. Andersson,
FT Raimo Mikkola, DI Johanna Salo, MTT Stiina Rasimus-Sahari, MSc Charmaine Ajao

Mikrobiologian julkaisuja 50
Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos 2016

ISBN 978-952-93-7928-6 (nid.)
ISBN 978-952-93-7929-3 (PDF)
ISSN 1238-1136

Kansikuva: Maria Andersson. Kuvassa on *Trichoderma viridescense*, jäähallihomeen itävä itiö
Layout: PSWFolders Oy/Tinde Päivärinta

Hansaprint, Vantaa 2016

Sisällysluettelo

1. Sisäilmasta joukkosairastumisen historiaa Suomessa.....	5
1.1. Miten neljä historiallista sisäilmaepidemiaa ratkaistiin?.....	5
1.2. Viides sisäilmaepidemia ja rakennusdiagnostiikan kehittämisen strategia.....	6
2. Terveystilaa, mikrobit ja toksisuus	8
2.1. Mitä voidaan ottaa opiksi elintarvikkeiden homebakteriologian osalta?	8
2.1.1. Toksinisuus – mitä se on?.....	8
2.1.2. Ympäristö-toksinisuuden mittaustekniikat	9
2.1.3. Toksinisuuden mittaaminen	11
3. Sisätiloissa haitallista altistumista aiheuttava mikrobit	13
3.1. Suomalaisen terveyshaittaisten sisätilojen homeet	13
3.2. Näytteenotto- ja viljelyolosuhteet ratkaisevat, paljonko ja mitä mikrobeja löydetään.....	15
3.3. Miten tunnistetaan myrkyä tuottavat sisätilamicrobit?	20
4. Sisäympäristölle haitallisia mykotoksiineja ja niiden tuottajiksi osoitettuja homeita	23
4.1. <i>Acremonium</i>	23
4.2. <i>Acrostalagmus</i>	24
4.3. <i>Aspergillus</i> eli nuijahome	24
4.4. <i>Chaetomium globosum</i> ja <i>spp</i>	30
4.5. <i>Paecilomyces</i>	32
4.6. <i>Penicillium</i> eli pensselihomeet	34
4.7. <i>Stachybotrys chartarum</i>	36
4.7.1. Historiaa.....	36
4.7.2. <i>Stachybotrys</i> Suomessa	37
4.8. <i>Trichoderma</i> suku	38
4.8.1. Mikä trikodermaissa sairastuttaa?.....	39
4.8.2. Trikoderman toksiinit muodostavat jonkinlaista	40
4.9. <i>Mycelia sterilia</i> – mikä ihmeen homeelaji?.....	43
4.10. Suomalaisista sisäilmaongelmaisista rakennuksista löydettyjä mykotoksisia homeita ja niiden toksiinit.....	43
5. Sisäympäristöä pilaavia ja suojelevia bakteereja	47
5.1. Antagonismin merkitys sisätilojen mikrobiomissa.....	47
5.2. <i>Bacillus</i> ja <i>Paenibacillus</i>	47
5.3. <i>Streptomyces</i>	51
5.4. <i>Nocardiosis</i> , <i>Mycobacterium</i> ja <i>Williamsia</i>	53
6. Rakennusmateriaalien haitalliset kemikaalipäästöt	55
6.1. Rikkipäästöt	55
6.1.1. Kipsi rakennuksissa	55
6.2. Biosidit ja muut kemikaalit rakennuksissa.....	60
6.2.1. Historia joka on myös nykypäivää.....	60
6.2.2. Mikrobit ja biosidit	63
6.3. Biosidiset kemikaalit rakennusten sisätiloissa	64
6.3.1. Polyguanidiset biosidit	64
6.3.2. Isotiatsoloni-ryhmä	68
6.3.3. Reaktiiviset happipäästöt (reactive oxygen species, ROS)	68
6.3.4. Kationiset tensidit ja desinfiointiaineet.....	69
6.4. Myrkyllisyys ja antimikrobisuus sisäilmassa.....	69
6.5. Terveystilalle haitallisten aineiden kulkeutuminen ja muuntuminen sisäilmassa.....	73

7. Sisäilmassa altistuminen haitallisille aineille.....	75
7.1. Altistumisen mahdolliset reitit	75
7.2. Mikrobitoksisuus sisätiloissa: lyhyt historia.....	76
7.3. Mikrobitoksiinien nestemäiset emissiot.....	77
7.4. Sisätilahomeiden nestemäiset, toksiset, emissiot rakennusnäytteistä.....	79
8. Sisäilmaan liittyvä sairastaminen	86
8.1. Sairastaminen kouluissa.....	86
8.2. Sisäilman laatuun liittyvät silmäsairaudet	87
8.3. Sisätilojen kostutinaaineet, biosidit ja happiradikaalit (ROS) terveyshaitan aiheuttajina ...	91
8.3.1. Kostutinkemikaalit	91
8.3.2. Sisäilman biosidiset altisteet.....	91
8.3.3. Sisäilman reaktiiviset happiyhdisteet	92
8.4. Mitokondriotoksiset aineet	94
8.4.1 Mitokondriotoksisten aineiden kokeellinen mittaus	94
8.4.2. Mitokondriotoksisuuden yhteisvaikutukset.....	95
8.5. Akrebolit	96
8.6. Kaliumjoneja kuljettavat toksiinit	94
8.6.1. Valinomysiini.....	97
8.6.2. Kereulidi.....	97
8.7. Jonikanavia tuottavat toksiinit	99
8.8. Luontaista immuunijärjestelmää häiriköivät toksiinit.....	101
8.9. Sisätiloissa käytetyn polyguanidini-desinfiointiaineen aiheuttamat terveyshaitat	102
8.10. Mikrobittomuuteen liittyviä sairauksia	104
Jälkipuhe	107
Lähdeviitteet	108

Tekstissä esitellään useita erilaisia tutkimus ja näytteenottomenetelmiä, ja niillä saatuja tuloksia. Raportti on jaoteltu siten, että eri aiheita ja niihin liittyviä tausta/kirjallisuus tietoja käsitellään aihepiireittäin, omina kokonaisuuksinaan. *Tutkimustulokset on merkitty ”tsr112134” silloin kun on kyse uusista, alkuperäisistä tuloksista, jotka on tuotettu Työsuojelurahaston tuella tehdyssä hankkeessa tsr112134, eikä niitä ole vielä julkaistu muulla foorumilla.* Muissa tapauksissa on merkitty muu käytetyn tiedon lähde.

Kirjoittaja toivoo, että tämä tutkimusraportti, varustettuna tiedonlähdemerkinnöillä ja teollisen kirjallisuuden tulkinnoilla, on hyödyllinen tietolähde sekä alan ammattilaisille että suu-
relle yleisölle.

1. SISÄILMASTA JOUKKOSAIRASTUMISEN HISTORIAA SUOMESSA

1.1. Miten neljä historiallista sisäilmaepidemiaa ratkaistiin?

Vuosien 1950-2000 aikana ratkaistiin neljä sisäilmaongelmaa: *asbesti*, *radon*, *formaldehydi* ja *tupakansavu*.

Asbesti. Asbestia käytettiin rakennuksissa 70 vuotta ennen kuin kertynyt tilastollinen näyttö asbestialtistuksen ja keuhkosityövän yhteydestä otettiin tosiasiana ja saatiin aikaan säädökset työntekijöiden suojaamiseksi altistukselta: Valtioneuvoston päätökset asbestipitoisista tuotteista ja asbestityöstä 852(1992), Nr1380 (1994) ja jatkona työturvallisuuslain 738 10§ 1. mom (2002), täydennetty 25.6.2015 asetuksella # 798, määräämistä suojatoimista työntekijöiden altistumisista patologisille hiukkasille. Patologiseksi määriteltiin teolliset mineraalikuidut joiden pituuden, $>5 \mu\text{m}$, suhde paksuuteen, $<3 \mu\text{m}$, ylittää 3:1. Näitä pääsee sisäilmaan mm. lämmöneristeistä ja ilmanvaihtokanavien päällystämättömistä äänieristeistä. Patologisia kuituja saattavat olla myös uudet synteettiset MWCNT (monikerroksiset nanohiili-) putket, joista ei vielä ole säädöksiä (luku 8.4.2.).

Radon. Radon on radioaktiivinen kaasu, jota nousee sisätiloihin suomalaisesta moreeni-maaperästä. Aluksi väitettiin siitä, miten pitoisuus sisätiloissa voisi olla korkeampi kuin ulkoilmassa. Sille löytyi yksinkertainen syy: kaasumaiset aineet, kuten radon, kulkevat nousevan lämpötilan suuntaan. Suomessa maaperä on viileä, -20 cm syvyydessä lämpötila ei ylitä $+15^\circ$ edes heinäkuussa (Hari ym., 2013). Suomessa radonkaasu siis nousee maaperästä sisätilaan. Radonin kulkeutuminen sisätiloihin ehkäistään nyt rakennusteknisin ratkaisuin (radonputki). Kuva 1.

Formaldehydi. Kolmas sisäilma epidemia oli formaldehydi - yksi, hyvin yksinkertainen molekyyli joten altistumisen mittaukseen tarvittiin vain yksi analyysi. Viitearvo oli helppo asettaa ja altistumista ehkäisevät toimenpiteet päätökset saatiin alle vuosikymmenessä. (Kuva 2).

Passiivinen tupakointi. Neljäs sisäilma"epidemia": tupakansavu. Tupakansavulle on altistuttu sisätiloissa yli sata vuotta, mutta vasta 1970 luvulla opittiin analysoimaan savun sisältöä, tunnis-

RADON (Rn-222) on radio-aktiivinen kaasu, joka kuuluu uraanisarjaan. Radonia syntyy koko ajan suomalaisen kallioperän uraanista (U-238) useiden hajoamisten kautta. Fysikaalisen kemian lakien mukaan radon, kuten muutkin kaasut, kulkeutuu kylmästä ympäristöstä lämpimään, eli maaperästä ja ulkotiloista sisätiloihin, ellei sitä johdeta pois (radonsuojaus). Työpaikko-jen radonpitoisuudelle on asetettu raja-arvot säteilyasetuksen 27 §:ssä. Työpaikoilla radonpitoisuus ei saa säännöllisessä työssä ylittää arvoa 400 becquereliä kuutiometrissä (Bq/m^3). Tätä toimenpidearvoa sovelletaan myös kouluihin, päiväkoteihin ja muihin julkisiin tiloihin. Työpaikkojen radonia koskevat tarkemmat ohjeet ja vaatimukset on esitetty ohjeessa ST 12.1.(Lähde: Säteilyturvalaitos)

Kuva 1.

Formaldehydikaasulle, HCHO , altistutaan Suomessa hengitysteitse rakennus- sekä tekstiili-teollisuudessa (ompelijat, huonekalupuusepät, elektroniikka-asentajat, myymälänhoitajat, verhoilijat, vanerityöntekijät, maalarit ja laborantit). Ympäristöministeriö on määrännyt että sisätilojen suunnittelu on tehtävä niin, että viitearvo $50 \mu\text{g} / \text{m}^3$ ei ylitä. Rakennustieto-säätiö antaa puhtaimman, eli M1 luokan, päästöluokituksen materiaaleille, joiden päästö on $< 50 \mu\text{g} / \text{m}^2/\text{tunti}$. Varsinainen sisäilman pitoisuus riippuu ilmanvaihto-kertoimesta ja kellonajasta. Monista liimoista, joita käytetään komposiittimateriaaleissa, irtoa formaldehydiä. Siivous-aineiden hajusteet (linalooli, limoneeni) reagoivat koneellisen ilmanvaihdon tuloilman tuoman otsonin ja sisätiloissa käytettyjen hapettavien desinfiointiaineiden kanssa tuottaen formaldehydiä ja/tai monia muita myrkyllisiä orgaanisia karbonyyleja kuten glyoksaalia ja metyyli glyoksaalia ("sekundäärinen orgaaninen aerosoli", SOA). Lähde: EU-hanke Offcair

Kuva 2.

tettiin muutamia *satoja kemiallisia yhdisteitä*. Silti on edelleen epäselvää mikä tai mitkä niistä ja miten, *aiheuttaisivat* sairastumista. Tupakkalaki, joka suojelee tupakansavulle altistumiselta (passiivitupakointi) sekä työpaikoilla, että julkisilla paikoilla, saatiin lopulta kuitenkin säädettyä (Tupakkalaki 9, 765/1994, Kuva 3).

1.2. Viides sisäilmaepidemia ja rakennusdiagnoosiikan kehittämisen strategia

Tunnetaan rakennuksia, joihin liittyy tilankäyttäjän/jien vakava sairastuminen, jopa niin, että käyttäjä ei voi k.o. rakennukseen tulla ollenkaan ilman, että seurauksena on vakavat terveyshaittaoireet. Kyseistä rakennusta on saatettu jo toistuvasti saneerata tai korjausrakentaa, ja jos terveyshaittatilanne ei muutoin ratkea, rakennus saatetaan hylätä ja päättää purettavaksi (Sauni ym. 2011). Luopumispäätöstä edeltää usein, saneerauksien lisäksi, tilakohtaisten ilman puhdistimien käyttö. *Tässä on tutkijan haaste: siitä rakennuksesta on löydyttävä jokin tai useita sellaisia ominaisuuksia, jotka tavalla tai toisella poikkeavat rakennuksista, joissa vastaavaa terveyshaittaoireilua ei ole.* Tämä tutkimusraportti on kohdennettu tällaisten poikkeavuuksien tunnistamiseen. Työhypoteesinä on, että vakavien terveyshaittojen rakennuksesta tai vain tietystä tilasta, pitää löytyä useita eri haittaominaisuuksia, ja että ne osuvat jonkin diagnostiikka-parametrin ”yläpäähän”. Jatkohypoteesi on, että kun tällaisia diagnostisia parametrejä löydetään, niin näitä kannattaa mitata myös tiloissa, joissa on lievää tai ei lainkaan terveyshaittaoireilua. Näin löydetäisiin ”viiteparametri” ja sille jatkossa ”viitearvo”.

Tällaiset mittaushavainnot voisivat toimia diagnostisena indikaattorina, ja perusteluna varhaiselle korjausrakentamistoimenpiteelle. Toimintamalli olisi analoginen terveyshaittaoireista valittavan potilaan lääkärin toimintamallille: hän ”kruksaa” laboratoriolähetteen listan mitattavia parametrejä verinäytteistä, virtsa- tai ulostenäytteistä, tai määrää mitattavaksi jonkin elintoiminnan riittävyyden, esim. verenpaineen tai keuhkojen hapenottokyvyn. Kun potilaan tutkimustuloksista löytyy poikkeavuuksia, tiedetään, että jokin elintoiminta ei hänellä toimi niin kuin se useimmilla terveillä ihmisillä toimii, ja sillä perusteella oireilulle voidaan antaa nimi (diagnoosinumero). Kyse siis ei ole siitä, että sillä voitaisiin (tai edes pitäisi yrittää) selvittää syy-seurausyhteyttä: mikä sen poikkeaman on aiheuttanut? Samalla tavalla rakennuksesta mitatun jonkin parametrin poikkeavuuden ei mitenkään tarvitse tarkoittaa, että se *aiheuttaisi* rakennuksen käyttäjän terveyshaitta-oireen, mutta sitä voitaisiin käyttää perusteena selvitykseen rakennuksen tai tilan soveltuvuudesta ihmisen työ-, asuin-, opiskelutilaksi – sensijaan, että odotellaan rakennusta/tilaa käyttävien ihmisten terveyshaitta oireilua indikaattoriksi rakennuksen kelpoisuudesta.

Jos terveyshaittatyöpaikoilla kyse on pelkästään kosteusvauriosta, niin se on mittarein mitattavissa ja korjattavissa tiloja saneeraamalla. Monissa tapauksissa saneeraus epäonnistuu siinä mielessä, että terveyshaitta ei helpotu, vaikka kaiken pitäisi olla ”kunnossa”. Erityisesti koulurakennuksia on raportoitu saneeratun useita kertoja peräjälkeen syystä, että henkilöstön sisäilmaoireilu jatkuu.

Tämä raportin tekijän käsitys on, että nyt käytössä olevat sisäilmahaittaisuuden mikrobeihin, haitta-aineisiin tai rakennusfysikaalisiin parametreihin käytetyt tutkimusmenetelmät ovat riittämättömät, epärelevantit tai niitä ei osata käyttää. Rakennuksen ja sen sisätilojen olosuhteiden tutkimiseen on kehitettävä parempia menetelmiä. Siinä on tämän tutkimusraportin tavoite. Osa tämän raportin diagnostisista menetelmistä ja niillä saaduista tuloksista on jo julkaistu tie-

teellisissä artikkeleina, Mikkola ym., 2012, Andersson ym., 2012, Andersson ym 2010; Salkin-oja-Salonen ym 2010, 2011; Bencsik ym, 2014; Ajao ym., 2015; Salo ym., 2015; Salin ym., 2016; Rasimus-Sahari ym., 2016, Andersson ym., 2016. Uutta mittausdiagnostiikkaa esitellään seuraaville osa-alueille: 1. Toksisuus, mitä se on ja miten sitä voi mitata rakennuksista; 2. Näytteenotto rakennuksista, uusia menetelmiä; 3. Toksiineja tuottavien sisätila- tai rakennenäyte mikrobien tunnistaminen ja kvantitointi; 4. Haitallisten sulfidien vuotokohteiden tunnistaminen; 5. Mikrobidiversiteetin tutkiminen ja sen merkitys rakennusterveydelle; 6. menetelmien kehittäminen; 7. Biosidisten kemikaalien merkitys rakennusmateriaaleissa ja kiinteistöjen saneerauksessa; 8. Kiinteistön ylläpidossa käytettyjen kemikaalien merkitys rakennusterveydelle; 9. Mikrobitoksiinien toksisuusmekanismit ja aktiivisuuden mittaus; 10. Sisäilmaan liittyvä sairastaminen.

Ote Tupakkalaista, 9, 765/1994, 5 luku

Väestön suojaaminen ympäristön tupakansavun aiheuttamilta terveyshaitoilta

12 §

Tupakointi on kielletty:

- 1) päiväkotien lapsille ja oppilaitosten oppilaille tarkoitetuissa sisätiloissa sekä niiden pääasiassa kahdeksaatoista vuotta nuoremmille tarkoitetuilla ulkoalueilla;
- 2) virastojen ja viranomaisten sekä niihin verrattavien julkisten laitosten yleisölle ja asiakkaille varatuissa sisätiloissa;
- 3) sisätiloissa järjestettävissä yleisissä tilaisuuksissa, joihin yleisöllä on esteetön pääsy;
- 4) yleisen kulkuneuvon sisätiloissa; sekä
- 5) työyhteisöjen yhteisissä ja yleisissä sekä asiakkaille tarkoitetuissa sisätiloissa.

13 §1

Edellä 12 §:ssä tarkoitetun sisätilan ja yleisen kulkuneuvon haltija sekä yleisen tilaisuuden järjestäjä voi kuitenkin sallia tupakoinnin tähän tarkoitukseen varatussa huoneessa tai asianomaisen huoneiston tai tilan osassa siten, ettei tupakansavu pääse kulkemaan niihin sisätiloihin, joissa tupakointi on kielletty. Tupakointia varten ei voida kuitenkaan järjestää erillistä huonetta tai muuta tilaa sellaisen sisätilan yhteyteen, joka on pääasiassa kahdeksaatoista vuotta nuorempien henkilöiden käytössä.

Mitä 12 §:n 2 tai 5 kohdassa säädetään tupakoinnin kieltämisestä julkisissa tiloissa tai työyhteisössä, ei sovelleta ravintoloiden ja muiden ravitsemusliikkeiden asiakastiloihin eikä hotellien ja muiden majoitusliikkeiden asiakkaiden ravintola- ja ruokailutiloihin tai majoitushuoneisiin. Tällaisen liikkeen omistaja tai tämän edustaja voi päättää tupakoinnin kieltämisestä tai muusta rajoittamisesta näissä tiloissa sekä savuttomien asiakastilojen ja huoneiden järjestämisestä.

Työnantaja on velvollinen neuvotteluaan asiasta työntekijöiden tai näiden edustajan kanssa kieltämään tupakoinnin tai rajoittamaan sitä siten, etteivät työntekijät tahattomasti altistu tupakansavulle niissä työyhteisön työtiloissa, joissa tupakointi ei ole 12 §:n 5 kohdan mukaan kielletty.

Mitä 12 §:n 5 kohdassa ja tämän pykälän 3 momentissa säädetään tupakoinnin kieltämisestä ja rajoittamisesta työyhteisöjen yhteisissä ja työtiloissa, ei sovelleta sellaiseen työtilaan, joka on työntekijän tai elinkeinon- ja muun ammatinharjoittajan kodissa, eikä muuhun työtilaan, joka on yksinomaan saman perheen jäsenten ja muiden samassa taloudessa asuvien käytössä.

Edellä 12 §:ssä tarkoitetun sisätilan haltijan ja yleisen tilaisuuden järjestäjän tai tämän pykälän 1 momentissa tarkoitetun tupakointiin varatun tilan haltijan tulee asettaa näkyville tupakointikiellon ja tupakointiin tarkoitetun tilan osoittavat opasteet. Tarkempia säännöksiä opasteesta ja sen asettamisesta voidaan antaa asetuksella.

Kuva 3. Tupakkalaki. (Lähde: Finlex, Oikeusministeriö)

2. TERVEYSHAITTA, MIKROBIT JA TOKSISUUS

Mikrobien kyky aiheuttaa ihmisessä (eläimissä, kasveissa) tartunta- eli infektioita, tunnetaan 1800-luvulta lähtien. Nyt tiedetään, että vaikka mikrobeja tunnetaan jo kymmeniä tuhatta lajia, vain kaikkiaan alle 200 lajia niistä on sellaisia, jotka voivat aiheuttaa infektioaudin. Infektio tauti tarkoittaa mikrobin aiheuttamaa sairautta, joka käynnistyy siitä, että aiheuttajamikrobi on päässyt ihmisen elimistöön ja alkanut siellä lisääntyä niin, että siitä syntyy terveyshaitta. Sisäilmamikrobit yleensä eivät infektoi ihmistä (s.o. lisäännä ihmisen elimistössä), eli *aiheuttajamikrobeja ei löydy sairastuneesta potilaasta*. Tämä hämmentää lääkäreitä: miten voisi tehdä diagnoosin?

Tähän tarvitaan käsitettä ”toksisuus”.

2.1. Mitä voidaan ottaa opiksi elintarvikkeiden homemyrkyysaamisesta?

Otetaan mallia elintarvikkeiden ja rehujen tutkimuksesta: 1960-luvulta alkaen on pantu merkille, että rehuissa ja elintarvikkeissa voi olla mikrobien tuottamia myrkkyaaineita eli *toksiineja*, vaikka niiden tuottajamikrobia ei (ainakaan elävänä) elintarvikkeesta löydykään. Tälle ilmiölle herättiin v. 1962 Englannissa kun ilmeni kalkkunoiden massatuho (100 000 eläintä). Sen aiheuttajaksi osoitettiin maapähkinöistä valmistetun rehun sisältämä homemyrky eli mykotoksiini, nimeltä aflatoksiini (Pohjanvirta 2007). Sitä tuotti *Aspergillus* suvun homeet, etenkin *A. flavus*. Aflatoksiineja esiintyy usein pähkinöissä, joskus myös viljoissa ja rehuissa ja mausteissa. Itse mikrobit oli mahdollista tuhota erilaisin keinoin, kuten kuumentamalla, säteilyttämällä, desinfioimalla, mutta myrkyllisyys ei näissä käsittelyissä välttämättä vähene. Ongelmien ratkaisuun tarvittiin toksiineille ja toksisuudelle määrittämis menetelmiä joiden avulla myrkyjen päästölähteet paikannettiin ja poistettiin. Näin on tehtävä myös ”hometalojen” kohdalla.

2.1.1. Toksisuus – mitä se on?

Toksisuus = myrkyllisyys ei ole sama asia kuin ”tappavuus”. Ennen vanhaan toksisuus eli myrkyllisyys yhdistettiin tappaviin aineisiin: käärmeenmyrky, valkoinen karpässieni. Mittarina oli tappava annos (engl. lethal dose), tai – nesteen ollessa kyseessä, myrkyllinen tappava pitoisuus (LC, lethal concentration). Nykytoksikologiassa tärkein on elimistöä vahingoittava annos tai pitoisuus (effective dose, concentration). Vahingoittavuus ilmaistaan altisteen (= ruoka, juoma, hengitysilma tai ympäristön ominaisuus) toksiinipitoisuutena tai annoksena, jolle altistumisesta seuraa sairaus, vamma tai elinvaurio osassa altistuneista (10%, 50% tai 100%). Ihmisellä (ja eläimillä) on kyky korjata elimistöön kohdistuneita vaurioita. Vaurioille herkimpiä ovat sikiöt, lapset ja ikääntyvä väestönosa. Kyky korjata vaurioita heikkenee iän myötä. Vaurion vaarallisuus riippuu paitsi annoksesta, myös altistumis-ajasta. Vaara lisääntyy jos läsnä on yhtä aikaa tai perättäin samoja tai eri altisteita, vaikka kunkin vaikutus yksinään olisi ollut vähäinen. Myrkyllinen (toksiininen) vaarallisuus riippuu erityisen paljon *altistusreitistä*: hengityselimiin saatuna sama myrkyllinen voi olla 100 kertaa vaarallisempi kuin suun kautta saatuna.

2.1.2. Ympäristö-toksisuuden mittaamenetelmät

Miten toksisuus tunnistetaan ja mitataan? *Aineen toksisuus on sen eliötä vahingoittava ominaisuus.* Eliövaikutuksia on monenlaisia. Euroopan Unionin REACH-CLP lainsäädäntö (Euroopan Parlamentin ja neuvoston asetus 1272/2008 aineiden ja seosten luokituksesta ja pakkaamisesta sekä direktiivien 67/548/ETY ja 1999/45/EY muuttamisesta ja kumoamisesta ja asetuksen (EY) N:o 1907/2006 muuttamisesta) on määritellyt, mitkä haittaominaisuudet (kemialliset, biologiset tai fysikaaliset haittavaikutukset) on tutkittava kaupassa myytävistä kemikaaleista ja niitä sisältävistä tuotteista.

Tässä tutkimuksessa käytettiin mikrobien tuottamien ekstrolyyttien (mm. toksiinit) ominaistoksisuuden kvantitointiin REACH-CLP ohjeistoa (Taulukko 1). REACH-CLP ohjeisto suunniteltiin Euroopan Unionissa välineeksi teknokemian tuotteiden ja luonnosta saatavien aineiden **ominaishaitallisuuden** dokumentointiin EU asetus 528/2012. Asetuksen oleellinen sisältö on altistumisreitien huomioon ottaminen altistuksen terveyshaittavaikutusten luokituksessa (kategoriat). Hengitettynä saatu altistus (höyryt, pölyt, sumut) on luokiteltu 1000 × haitallisemmaksi kuin samalle pitoisuudelle tai annokselle altistuminen ihon kautta ja 100 × haitallisempi kuin nieltynä (Taulukko 1, on EU-Asetuksen 528/2012 taulukko 3.1.1). Sisäilma-altistuksessa on kyse sekä hengitetyistä höyryistä, pölyistä tai sumuista, että ihon kautta saadusta altistuksesta.

Käytännön mittausta suoritetaan solutoksikologisin menetelmin, eli mittaamalla haitta, eli ”end-point”, jonka tutkittavana oleva näyte voi aiheuttaa ihmisen tai lämmiminverisen eläimen soluihin. Käytämme soluja / kudoksia /soluelimiä, jotka soveltuvat toksisuuden arviointiin ihmiselle ja tuotantoeläimille. Lääketeollisuus käyttää paljon solutoksisuuteen perustuvia menetelmiä uusien aineiden ja yhdistelmien esitestaukseen. Solutoksisuuden perusteella (mm. mitokondriotoksisuus) osa tutkittavista aineista karsiutuu pois jo ennen koe-eläinaltistuksia.

Kehitimme uuden laboratoriomenetelmän, jota ensikerran käytettiin todellisiin kenttäkohteisiin Helsingin Yliopiston tutkijoiden toimesta STM- ja YM- ministeriöiden hankkeessa TOX-TEST (2010-2012). Hankkeen loppuraportti löytyy STM:n verkkosivuilta, TOXTEST raportti ja sen Liite nr 11 (Helsingin Yliopisto): http://www.stm.fi/c/document_library/get_file?folderId=655696944&name=DLFE-25910.pdf .

Uusi toksisuuden mittaamenetelmä on nopeakäyttöinen, kuoppalevyllä koneluettava protokolla, joka tehdään näin (esimerkkitulo näytetty Kuvassa 4):

1. Tunnetusta määrästä mikrobimassaa, pölyä tai pintapyyhintänäytettä tai sitä sisältävää ainesta valmistetaan uute sopivaan liuottimeen (metanoli, etanoli, dimetyylisulfoksidi tai vesi). Uutteesta tehdään sarjalaimennos.
2. Testisolut annostellaan kuoppalevyn kaivoihin (yleensä sama määrä soluja kuhunkin).
3. Kuhunkin kaivoon annostellaan yhtä uutelaimeinnosta (2...10 rinnakkaista, Kuva 4). Lisäksi mukana on jokaisella mittauskerralla *nolla-altistus*, eli pelkkä käytetty liuotin, ilman tutkittavaa näytettä, eli solut, joita altistetaan ainoastaan näytteen prosessointiin ja liuottamiseen käytetyille liuotteille (vesi- , etanoli- , metanoli ja DMSO).
4. Tietyn ajan (= altistusaika) kuluttua tarkastetaan solujen kunto sen toimintaparametrin suhteen, joka oli valittu toksisuuden ilmaisijaksi, ”end-point”. End-point voi olla solujen kuolema (sytotoksisuus), tai jonkin solutoiminnon, kuten energiasubstraatin (sokerin käytön) hidastuminen, sairaaloinen nopeutuminen tai lakkaaminen (Kuva 4).
5. Kuoppien / putkien joukosta etsitään suurin laimennos (= laimein näyte), jonka havaittiin aiheuttavan myrkkyyvaikutuksen tietyssä osuudessa soluja, esim. 10%, 50%, 100%, tai muut-

tavan k.o. toimintoa (kiihdytys, hidastuminen) altistuneissa soluissa. Vastaus ilmoitetaan EC (=effective concentration), esim. EC₂₀, EC₅₀, EC₁₀₀, µg/ml (= ppm).

Ympäristötoksikologiassa yleisimmin käytetty vaikuttavuusmittari on EC₅₀, eli tutkitun aineen pienin pitoisuus (= suurin laimennos), joka käytetyn altistusajan puitteissa tappoi vähintään puolet (> 50 %) altistetuista soluista, tai muutti niiden toimintaa (hidasti / kiihdytti) 50 % : lla.

Taulukko 1. Toksisuuden vaarakategoriat eri altistumisreiteillä EU-asetuksen mukaan. Suomen lainsäädäntöön on liitetty tässä alla oleva taulukko (REACH-CLP asetus, Euroopan Unioni, 528/2012) jossa määritellään ominaistoksisuuden käsite. Määrittely koskee tunnettuja ja tuntemattomia aineita ja ainesosia. Toksisuuden aiheuttama vaara riippu altistumisreitistä. Tulos ilmaistaan kuvakkeena ja vaaralausekkeena myyntipäällyksessä. Asetuksen mom.57, edellyttää että ympäristönäytteiden toksisten vaikutusten tutkimuksessa (jota myös rakennettu ympäristö on) vältetään elävien koe-eläinten käyttöä.

Välittömästi myrkyllisten aineiden luokituskriteerit

Aine voidaan luokitella yhteen neljästä myrkyllisyyskategoriasta suun, ihon tai hengitysteiden kautta tapahtuvan altistuksen tuloksena todettavan välittömän myrkyllisyyden perusteella taulukossa 3.1.1 esitettyjen numeeristen lukuarvojen mukaisesti. Välittömän myrkyllisyyden arvot ilmaistaan (likimääräisinä) LD₅₀-arvoina (suun tai ihon kautta) tai LC₅₀-arvoina (hengitysteitse) tai välittömän myrkyllisyyden estimaatteina (ATE). Tätä koskevat selittävät huomautukset on esitetty taulukon 3.1.1 yhteydessä.

Toksisuus-käsite on määritelty EU-direktiivin EU528/2012 luvun 3 Taulukossa 3.1.1 (tässä alla). Siitä näkee että haitallisuuden aste määritetään altistumisannoksena tai -pitoisuutena, jonka viitearvo riippuu altistumisreitistä. Hengityselinten kautta pölyinä tai sumuina on lähtökohtaisesti 100 – 1000 kertaa haitallisempaa kuin ihon tai suun kautta saatu altistus.

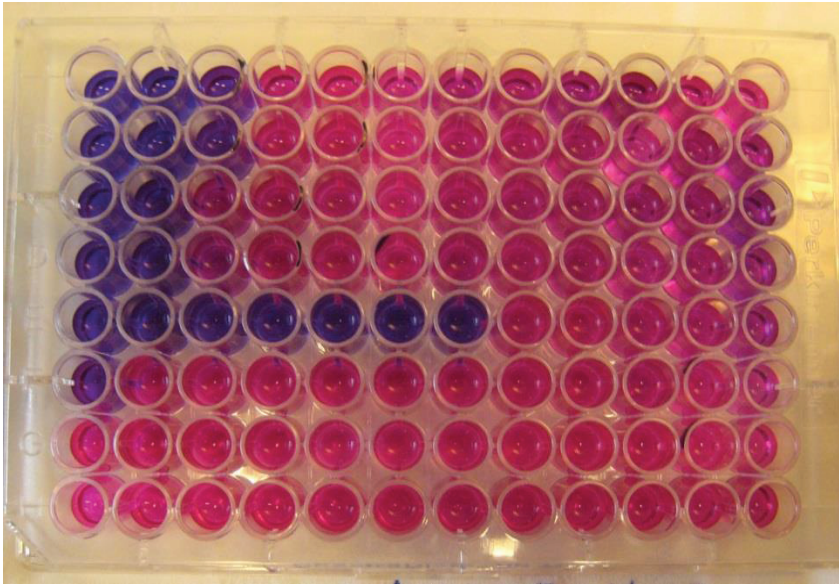
Välittömän myrkyllisyyden vaarakategoriat ja niiden määrittämisessä käytettävät välittömän myrkyllisyyden estimaatit (ATE)

Altistumisreitti	Kategoria 1	Kategoria 2	Kategoria 3	Kategoria 4
Suun kautta (mg/kg ruumiinpainoa) Ks. huom. (a)	ATE ≤ 5	5 < ATE ≤ 50	50 < ATE ≤ 300	300 < ATE ≤ 2 000
Ihon kautta (mg/kg ruumiinpainoa) Ks. huom. (a)	ATE ≤ 50	50 < ATE ≤ 200	200 < ATE ≤ 1 000	1 000 < ATE ≤ 2 000
Kaasut (ppmV ⁽¹⁾) Ks. huom. (a) huom. (b)	ATE ≤ 100	100 < ATE ≤ 500	500 < ATE ≤ 2 500	2 500 < ATE ≤ 20 000
Höyryt (mg/l) Ks. huom. (a) huom. (b) huom. (c)	ATE ≤ 0,5	0,5 < ATE ≤ 2,0	2,0 < ATE ≤ 10,0	10,0 < ATE ≤ 20,0
Pölyt tai sumut (mg/l) Ks. huom. (a) huom. (b)	ATE ≤ 0,05	0,05 < ATE ≤ 0,5	0,5 < ATE ≤ 1,0	1,0 < ATE ≤ 5,0

⁽¹⁾ Kaasujen pitoisuus ilmaistaan tilavuuden miljoonasosina (ppmV).

2.1.3 Toksisuuden mittaminen

Toksisuusmittauksiin tarvittavat solut saadaan elävistä eläimistä tai ihmisestä (esim. verisolut, siittiöt) tai ne ovat laboratorioissa kasvatettuja solulinjoja. Koe-eläimiä ei käytetä. Solut altistetaan tutkimusnäytteille laboratorion soluviljelytiloissa, joihin säädetään olosuhteet vastaamaan ihmisen elimistön sisäistä ympäristöä vastaaviksi: 5 tilavuus % hiilidioksidia, 19% happea, loput typpeä, lämpötila 37°C, suhteellinen kosteus eli RH >95%. Solujen asemesta voi käyttää myös eristettyjä kudoksia (esim. haiman beta-solu saarekkeita tai soluelimiä kuten mitokondrioita).



Kuva 4. Sytotoksisuuden määrittäminen suoraan sisäilmaongelman toimistohuoneen rakennusmateriaali näytteestä tai maljaviljelmästä. Tässä kuvassa on testitulos luettavissa 96-kuoppalevyllä värireaktion avulla. Kuoppalevyn kaikkiin kuoppiin on annosteltu sama määrä testisoluja (250 µl solu viljelmää tai elävän donorin soluja, tässä terveen ihmisen PBMC (verestä eristettyjä yksitumaisia soluja, monosyyttejä). Kunkin kuopparivin 1. kuoppaan (vasemmalla) annosteltiin tutkimusnäytettä 1 tilavuus %, ja seuraaviin saman rivin kuoppiin saman tutkimusnäytteen sarjalaimennettua näytettä : 2×, 4×, 8×, 16×, 32×, 64×, 128×, 256, jne. Yhdellä 8-rivisellä kuoppalevyllä siis tutkittiin 7 näytettä (laimennoksineen) ja vähintään yksi verrokkitoxikantti samalla tavalla sarjalaimennettuna (tässä: triklosaani, rivi #5, pitoisuus ensimmäisessä kuopassa 0,1 mg/ml). Levy suljetaan kannella ja inkuboidaan soluviljelykaapissa altistuksen ajan. *Maria Andersson, Raimo Mikkola, Mirja Salkinoja-Salonen (tsr 112134).*

Materiaalinäyte punnitaan ja etanoli lisätään. Sisätilanäytteet viljeltiin kolme viikkoa tai pidempään huoneenlämmössä, umpeen teipattuna. Kasvatetuista maljaviljelmistä valmistettiin etanoliuutteet seuraavasti: Valittiin tutkittavat pesäkkeet (Kuva 6) (usein tutkittiin kaikki). Yhdelle levyille mahtuu 7 tutkittavaa. Kustakin noukittiin pesäkekohtainen näyte 10 µl siirrostussilmukalla ampulleihin (# 1-7), joissa oli valmiina 0,2 ml etanolia (Etax A). Yhteen putkeen (putki #8) lisättiin kalibrintimyrkky (triklosaani), yhteen ei mitään. Kaikki ampullit (teflon tiivisteisellä kierretulpalla suljettuina) kuumennettiin 10 min vesihauteessa, jonka vesi oli esikuumennettu

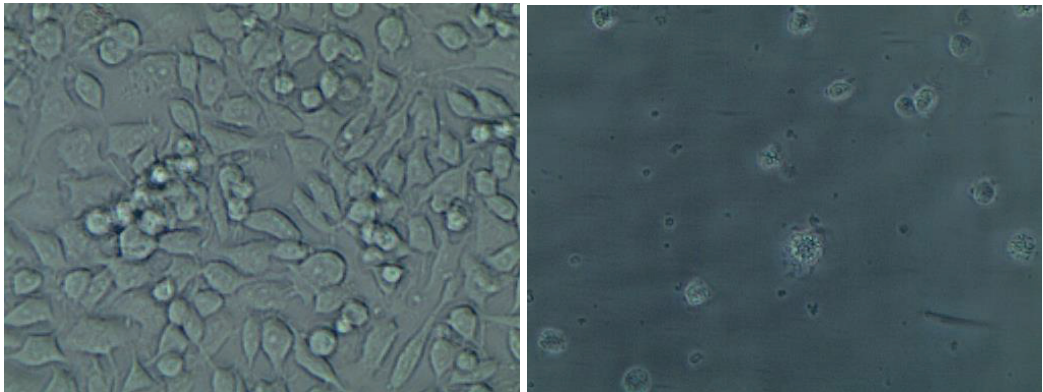
kiehumispisteeseen. Tällä välin pipetoitiin monikanavapipetillä 96-kuoppalevyn kaikkiin kuoppiin 0,2 ml testisolujen suspensiota ravintoliuoksessaan.

Testisoluna kussakin mittauksessa oli yksi tai useampi seuraavista: siittiöt, munuaisepiteeli solut PK-15, keuhkojen epiteelisolut FL, hermosolut MNA, tuoreverestä eristetyt ihmisen monosyytit PBMC, soluviljelminä kasvatetut ihmisen keratinosyytit (HaCaT), haiman beta solut (hiiren haima). Solulinjojen solut kasvatettiin laboratoriossa. Siittiöt (sian siemenneste), ostettiin keinosiemennysasemalta, monosyytit eristettiin ”buffy coat” ista. Buffy coat on jae, johon jäävät ne verensiirtoveren valkosolut, jotka eivät sovellu potilaitten hoitoon.

Sitten kunkin numeroidun (1 – 7) vaakarivin kuoppiin pipetoitiin yhden, tutkittavaksi valitun mikrobipesäkkeen uutoksesta tehtyä 10 perättäistä laimennosta (20×, 40×, 80×, 160×, 320×, 640×, 1280× 2560×, 5120×, 10240×). Kuoppariville 8 (alin) pipetoitiin kalibrintimyrkyn laimennossarja, lukuun ottamatta kahta viimeistä kuoppaa (äärimmäisenä oikealla) joihin ei pipetoitu lainkaan soluja eikä mitään mikrobiuutetta tai kemikaalia vaan pelkkä solujen kasvatusliemi (steriili) tai indikaattoria (esim. pH). 1 tai 3 vrk kuluttua kaikkiin kuoppiin lisättiin sama määrä elävyyssindikaattoria (resatsuriini). Punaiseksi muuttunut kuoppa tarkoittaa että testisolut ovat kasvaneet, ja tuottaneet NADHta, joka pelkistää sinisen elävyyssindikaattorin punaiseksi. Sininen ilmaisee, ettei kuopassa (enää) ole eläviä soluja.

Kuten Kuvassa 4 näytetty esimerkkitulo jo osoittaa, eri pesäkkeestä tehdyt uutokset saattavat olla myrkyllisyyden suhteen hyvin erilaisia: # 5 olivat hyvin myrkyllisiä, koska ne tappoivat testisolut kaikissa laimennoksissa (jopa 1280-kertaisesti laimennettuna!), pesäke # 4 oli vähiten myrkyllinen (tappoi vain 20 × laimennettuna). Tulokset kvantitoitiin fluoresenssi-lukijalla (herätevalo 544 nm, emissio 590 nm).

Toksisiksi osoittautuneet pesäkeuutteet tappoivat testisoluviljelmää myös suoraan soluviljelmässä. Tämä oli helppo havaita mikroskopoimalla viljelypulloa. Tulos (Kuva 5) oli yhtäpitävä elävyyssvärjäysmenetelmän kanssa (Kuva 4). Elävyyssvärjäys menetelmä oli siinä mielessä käytännöllisempi, että sen dokumentointi on nopea (fluoresenssilukija lukee yhden 96-kuoppalevyn minuutissa), objektiivinen ja luotettavasti kvantitoitava, ja ominaistoksisuusarvot (EC_{50} tai EC_{20}) saa laskettua helposti ja toistettavasti fluorometrisen luennan tuloksesta, tai laskentakaava on valmiiksi ohjelmoituna fluoresenssi-lukijaan.



Kuva 5. Sian munuaistubuluksen epiteeli solut PK-15 kasvoivat ravintoliemessä solumattomana viljelypullon pohjalla (vasen), mutta eivät kasvaneet (oikea) kun ravintoliemeen oli lisätty sisäilmaongelmaisen rakennuksen pesäkeuutetta. *Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen. (tsr112134)*

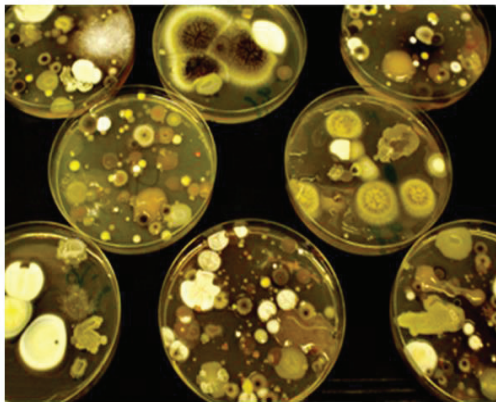
3. SISÄTILOISSA HAITALLISTA ALTISTUMISTA AIHEUTTAVA MIKROBIT

3.1. Suomalaisen terveyshaittaisten sisätilojen homeet

Tavoitteena oli tunnistaa ne homeet jotka Suomessa yleisimmin liittyivät vakaviin sisätilaterveyshaittoihin. Tätä varten tutkimme toksisuudet yhteensä 264 erillispesäkkeestä, jotka kerättiin vakavasti sisätilaongelmaisten tilojen pöly- ja materiaalinäytteiden maljaviljelmistä (Kuva 6). ”Vakava” tarkoittaa tässä sitä, että tilan käyttäjä ei voinut toimia k.o. tilassa ilman kohtuuttomia terveyshaittaoireita. Materiaali oli koottu ja tallennettu vuosina 1995 – 2015 yhteensä 18 erillisestä rakennuksesta, joista puolet pääkaupunkiseudun ulkopuolelta. Tutkituista 264 pesäkkeestä yht. 135 (51%) osoittautui toksisiksi (Taulukko 2).



Kuva 6. Mikrobinäytteiden toksisuuden tutkiminen. Materiaali- ja pölynäytteet, jotka oli kerätty vakavasti sisäilmahaittaisista rakennuksista (n = 18), viljeltiin maljas- ja tryptoni-soija agar maljoilla (vas). Numeroiduista erillispesäkkeistä kustakin otettiin 10 µl siirrostussilmukalla näyte, joka suspensoitiin 0,2 ml:aan etanolia lasiampullissa (vas). Ampulli suljettiin teflontiivisteisellä kierrekorkilla ja kuumennettiin 10 min kiehumispisteeseen lämmitetyssä vesihautteessa. Näin saadun uutoksen haitallisuus nisäkässoluille (ml. ihmisen) tutkittiin. *Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134)*



Kuva 7. Vakavasti sisäilmahaittaisista työtiloista kerättyistä näytteistä löydettyjen homeiden metabolitit olivat kauniita (360 nm valolla tarkasteltuna) mutta myrkyllisiä. Tässä rivistössä on Taulukossa 2 esitellyjen toksisten homeiden uutteen. *Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134)*

Taulukko 2. Kolmetoista myrkyllisiä ekstroliitteja tuottavaa hometta vakavasti sisäilmaongelmaisista rakennuksista.

Taulukon kannat edustavat 135 toksiinintuottajahomeen puhdasviljelmää. Kooste v. 1998-2014 kerätyistä näytteistä sisätiloista, joiden käyttäjät(t) kärsivät vakavaa, rakennukseen liittyvää terveyshaittaa. Vakavuuden kriteerinä käytettiin sitä, että käyttäjä oli tilaan liittyneiden, vakavien sairausoireiden vuoksi joutunut luopumaan tilan käytöstä. Toksisuudet määritettiin maljaviljelmien pesäkeuutteista käyttäen testisoluina sian siittiötä (30 min altistus) ja sianmunuaissoluja (PK-15, 1 vrk altistus). Mal- las-agarilla tai TSA:lla kasvatetut viljelmät ja viljelmistä saadut uutteen valokuvattiin päivänvalossa ja mustavalolampun valossa ja havaittu fluoresenssi kirjattiin (Kuvat 7, 8). *tsr 112134. Maria A Andersson, Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto*

morfotyyppi	pesäke fluoresenssi	tutkittuja viljelmiä lkm	pesäkeuutteiden ominaisuudet + toksinen; - ei toksinen		
			munuaissolu	siittiö	fluoresenssi
<i>Trichoderma atroviride</i>	nolla	40	+	+	vihreä
<i>Aspergillus versicolor</i>	oranssi	33	+	-	punaoranssi
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	nolla	10	+	+	sininen
<i>Aspergillus calidoustus*</i>	sininen	6	+	+	sininen
<i>Penicillium expansum</i>	nolla	20	+	(+)*	vihreä
<i>Penicillium chrysogenum</i>	keltainen	2	+	-	tummaoranssi
<i>Paecilomyces variotii*</i>	sinivihreä	3	-	+	kellanuskea
<i>Paecilomyces variotii morf. ST32*</i>	nolla	1	+	+	nolla
<i>Chaetomium globosum</i>	sinivihreä	6	+	+	vihreä
<i>Chaetomium spp</i>	nolla	2	+	+	nolla
<i>Acrostalagmus luteoalbus*</i>	nolla	4	+	-	sininen
<i>Epicoccum spp</i>	nolla	4	+	+	sininen
<i>Stachybotrys sp</i>	nolla	4	+	-	sinervä

*Siittiön liikkuvuus lakkasi 24 h, mutta ei 30 min altistuksessa

Taulukossa 2 on yhteenveto nisäkässoluille myrkyllisiä ekstroliitteja tuottaneista 135 homekanasta tiloissa, joissa koettiin vakavia terveyshaittoja. Mielenkiintoinen havainto oli, että lähes kaikki toksisiksi osoittautuneet pesäkeuutteet fluoresoivat kun niitä sisältäviä koeputkia valaistiin 360 nm lampun valolla (Kuva 8). Poikkeuksia olivat kaksi *Paecilomyces variotii* lajiksi identifioitua morfotyyppiä ja kaksi *Chaetomium* morfo-tyyppiä. Näytteiden keruuta jatkettiin v. 2014 jälkeen ja todettiin samojen morfotyyppien yleisyys - nimenomaan vakavaan terveyshaittaan liittyvissä tiloissa. Tutkijaryhmän käsitys on, että Taulukossa 2 luetellut ovat ne, joiden esiintymiseen liittyy suuri osa suomalaisten, vakavasti sisäilmahaittaisten tilojen ongelmista. ”Home- talojen” lisäksi on joukko rakennuksia, joissa terveyshaittoja on paljon, mutta homeita ”epänor- maalin” vähän.

Taulukossa luetellut 13 toksista morfotyyppiä on mikroskooppitarkastuksessa ja/tai musta- valon avulla tunnistettavissa suoraan viljelymaljoilta: *Acrostalagmus luteoalbus*, *Aspergillus wes- terdijkiae*, *Aspergillus calidoustus*, *Chaetomium sp*, *Chaetomium globosum*, *Epicoccum*, *Paecilo- myces variotii* (2 eri toksisuudeltaan erilaista morfotyyppiä, geneettisesti sama laji), *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *Trichoderma atroviridae*, *Stachybotrys sp*.



Kuva 8. Viljelmämaljojen kuvaus mustavalo-lampulla on yksinkertainen mutta tehokas menetelmä toksiineja tuottavien sisätila-homekantojen morfotyyppin tunnistamiseksi. Näissä tutkimuksissa käytettiin 360nm valoa tuottavaa, akkukäyttöistä lampua (UVA Finland). *Maria Andersson & Mirja Salakinoja-Salonen (tsr112134)*

3.2. Näytteenotto- ja viljelyolosuhteet ratkaisevat, paljonko ja mitä mikrobeja löydetään

Suomalaisissa sisäilmatutkimuksissa kohteen mikrobeja tutkitaan usein keräämällä *ilmanäyte*. Viraomaisohjeen mukaan se kerätään suoraan viljelymaljoille impaktorikeräimellä (1-vaihe tai 6-vaihe, joka lajittelee hiukkaset koon mukaan). Näytteenottoaika voi olla enintään 10 min, jota vastaa ilmatilavuus 0,28 m³. Ohjeen mukaisen kasvatusajan jälkeen (Taulukko 3) pesäkkeet lasketaan. Tulos ilmoitetaan pmy (pesäkkeitä muodostava) yksikköinä per m³, olettaen että kukin pesäke vastaa yhtä maljalle joutunutta kasvukykyistä mikrobisolua. Jos kerättäisiin pidempi aika (tai suurempi ilmatilavuus) niin useimmista paikoista tulisi niin paljon pesäkkeitä, että malja tukkeutuu eikä pesäkkeitä pysty laskemaan. Se, mitä maljoille kasvaa, riippuu olosuhteista:

1. siitä, mitä juuri siinä kohtaa huonetta juuri sillä hetkellä leijui ilmassa, sekä
2. siitä *mitä viljelyalustaa ja olosuhteita* maljoilla käytetään.

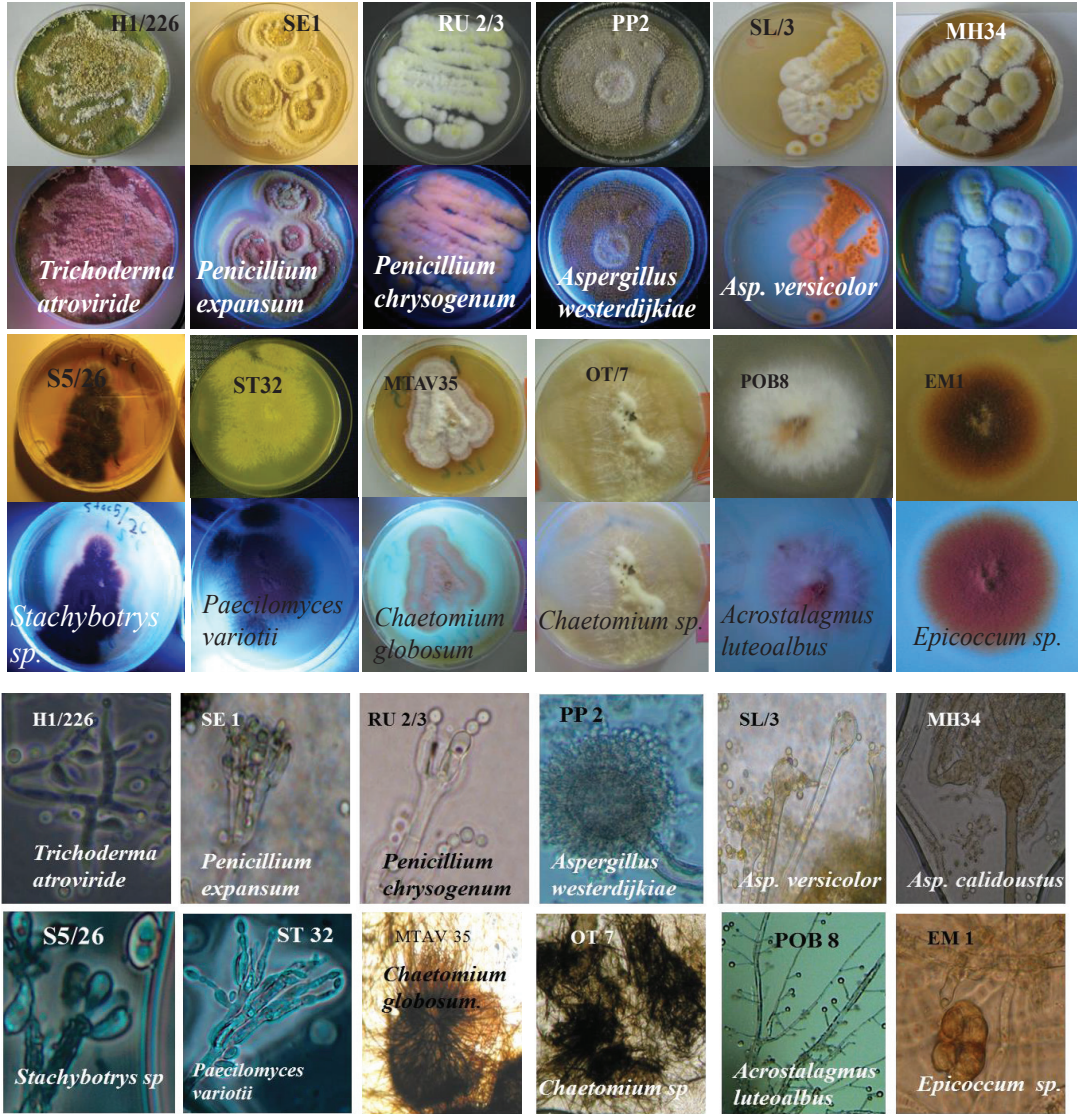
Impaktorimenetelmä on huonosti toistettava, kahta samanlaista tulosta ei juuri koskaan saa, vaikka mittaisi samana päivänä. Tällä menetelmällä löytyy siis niitä mikrobeja

1. jotka ovat *yleisiä, pieni-itiöisiä* (= leijuvat hyvin)
2. jotka sattuvat *kasvamaan sillä viljelyalustalla jota maljoille on laitettu*.

Käytetyn viljelyalustan laatu siis ratkaisee. Rakennuksen tilaa paremmin kuvaavia tuloksia saa tutkimalla pöly- ja materiaalinäytteitä, mutta ne ovat työläämpiä.

Aspergillus versicolor, *Asp. westerdijkiae*, *Paecilomyces variotii* ja *Penicillium expansum* ja *Aspergillus calidoustus* (Kuva 9) ovat toksiinituottajia, ja esiintyvät kuivissakin suomalaisissa toimistoissa. Ne kykenevät hyödyntämään tilapäisiä kosteuksia, lyhytaikaisiakin (*"TOW, time-of-wetness, φ*, Huinink & Adan, 2011). *Trichoderma* lajien itiöt ovat pieniä, runsaita ja hyviä lentämään turbulenssin mukana (koneellinen ilmanvaihto). Useat *Trichoderma* ovat mykoparasiittisia, eli loisivat sienillä, käyttävät mieluiten ravinnoksi muita homeita. *Trichoderma*-suvun sisätalalajien (*T. atroviridae*, *T. longibrachiatum*, *T. harzianum*), itiöt ovat pieniä, 1,5 µm – 3 µm ja lentävät hyvin, mutta itävät hitaasti eivätkä välttämättä ehdi itiöidä 7 vrk kasvatuksen aikana. Ne tarvitsevat paljon kosteutta ja ilmestyvät maljaviljelyssä muiden homeiden seuralaiseksi myö-

hään, 2-3 viikon kuluttua, kun toiset homeet ovat jo kasvaneet pesäkkeiksi: ne ”syövät” maljalta pois muut pesäkkeitä tuottaneet homeet.



Kuva 9. Vakavasti sisäilmaongelmaisten rakennusten homeiden morfotyyppit. Yläkuva: Viljelymaljojen (Ø90 mm) kuvat ongelmarakennuksista eristettyjen homeiden puhdas-viljelmistä. Ylempi rivi: kuvattu päivänvalossa, alempi rivi: kuvattu mustavalossa (Kuva 8). Alakuva: mikroskooppikuvat samoista puhdasviljelmistä. Mukaan otettiin kaikki toksisia ekstroliitteja (ominaistoksisuus sian siit-tiölle tai munuaissolulle $\leq 10 \mu\text{g/ml}$) tuottavat morfotyyppit, joita löytyi useina isolaatteina, yhdestä tai useammasta rakennuksesta ($n = 18$). Ominaismyrkyllisyyden tunnusluvut määritettiin REACH-CLP (Taulukko 1) asetuksia vastaavalla tavalla. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134) (ks. myös sivu 105).

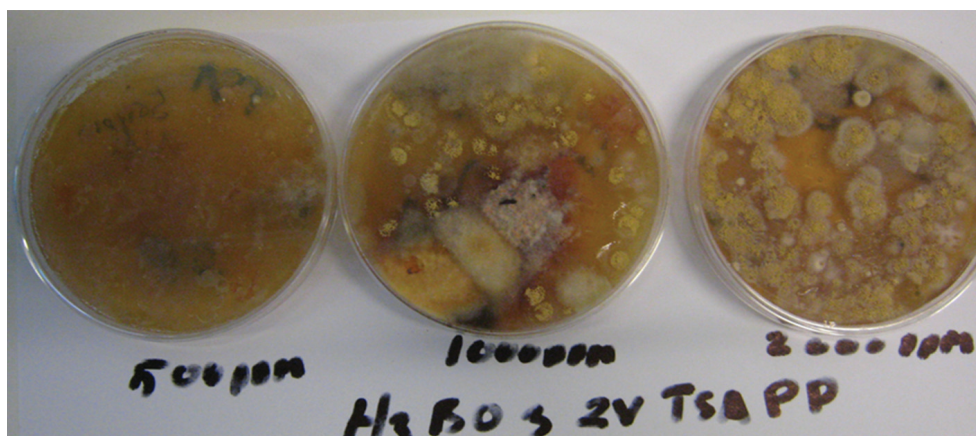
Taulukko 3. Sosiaali- ja terveysministeriön Asumisterveysohjeen (STM 1.5.2003) ilmoittamat viitearvot sisäilmalle kaupunkialueen asunnoille ja Työterveyslaitoksen (TTL 18.3.2014) toimistorakennuksille (impaktorinäyte) ja pinta- ja materiaalinäytteille. Cfu = pmy. Viranomaisohjeen mukaan sienet lasketaan pesäkkeinä mallasagarilta, johon lisätty kloramfenikolia 100 mg/l tai 35 mg aureomysiiniä (klooritetrasykliiniä) tai 40 mg streptomysiinisulfaattia. Bakteeripesäkkeet lasketaan tryptoni-hiiva-uute-glukoosi agar maljoilta, joihin lisätty 200 mg/l natamysiiniä. *Lähteet: STM 1.5.2003; Työterveyslaitos(TTL), verkkosivut 18.3.2014.*

	Ilmanäyte	Materiaalinäyte	Pintanäyte	Ilmanäyte	Materiaalinäyte
Mikrobiryhmä	STM, pmy/m ³	STM pmy/g	STM pmy/cm ²	TTL cfu/m ³	TTL cfu/g
Sienet	>500	*>10 000	**>1000		>10 000
Homeet				>50	
Aktinomykeetit	>10	>500	***10×	5	>500
Bakteerit	>4500	>100 000		>600	>100 000

*tai 100 kertaa suurempi kuin vertailumateriaalissa

**tai yli 100 kertaa suurempi kuin vertailupinnalla

*** tai yli 10 kertaa suurempi kuin vertailupinnalla



Kuva 10. Vakavasti sisäilmaongelmaisen rivitalohuoneiston keskuspölynimurin pölyn viljely. Pölypussin pölyä laimennettiin steriiliin veteen. Sama näytemäärä viljeltiin sama määrä kolmelle eri TSA maljalle, joihin oli lisätty boori happoa 500, 1000 tai 2000 mg /l. Kuva on otettu 2 viikon kasvatuksen jälkeen. TSA= tryptoni-soija-agar). Maria Andersson, Raimo Mikkola & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134).

Taulukko 4. Boorihapon vaikutus huonepölyjen bakteeri- ja home- pesäkelukuihin TSA maljoilla. Huonepöly (10 mg / malja) oli sisäilmaongelman rakennuksen keskuspölynimurista. Andersson, Mikkola & Salkinoja-Salonen, 2013

[H ₃ BO ₃] maljalla, mg/litra (=µg ml ⁻¹)	Bakteeripesäkkeitä 10 ³ / g pölyä	Homepesäkkeitä 10 ³ / g
0	>10	1,4
2	3,5	1,6
10	2,7	2,7
200	<0,1	4,7

Taulukko 5. Boorihapon vaikutus homeongelman asuinrakennuksen huonepölyn lajikirjoon ja toksisuuteen. Keskuspölynimurin hienopölyä (kertymä: 3 kk) suspensoitiin steriiliin veteen (300 mg/ml) ja viljeltiin TSA maljoille (0,1 ml = 30 mg/malja). Pesäkkeet laskettiin 14 d kuluttua, kunkin maljan biomassat kerättiin ja maljakohtainen toksisuus mitattiin sian siittiöiden liikkuvuustestillä (Andersson ym., 2010). EC₅₀ tarkoittaa maljalta kerätyn mikrobibiomassan etanoliuutteen pienintä pitoisuutta, joka siittiösuspensioon lisätynä esti liikkuvuuden yli 50%:lla siittiöistä. (EC₅₀ pieneni = toksisuus kasvoi).

[H ₃ BO ₃] maljalla, mg/litra (= µg ml ⁻¹)	Bakteerit: valtalaji <i>Bacillus sp</i> % pesäkkeistä	Homeet: <i>Aspergillus westerdijkiae</i> % pesäkkeistä	Koko maljan biomassan EC ₅₀ µg ml ⁻¹
0	100	< 1	6
200	80	30	10
1000	50	50	4
2000	1	99	2.5

Viljelymaljoilta (joista esimerkki on Kuvassa 10) laskettiin bakteeri- ja homepesäkkeiden määrät, tulokset koottu Taulukkoon 4. Tulokset osoittivat että TSA-maljalle (ilman booria) kasvaneet pesäkkeet olivat bakteereja, *Aspergillukseksi* tunnistuvia pesäkkeitä tai muitakaan homeita ei maljoilla näkynyt. Maljoilta joihin oli lisätty boorihappoa (500 tai 1000 mg/litra) kolmasosa pesäkkeistä tunnistui *Aspergillus westerdijkiae* lajiksi ja kun booria oli lisätty 2000 mg/l, maljalla kasvoi lähes pelkästään *Aspergillusta*. Tämä koe osoittaa, että viljelymaljan laatu oli ratkaisevaa sille, mitä sinne kasvaa - kaikille maljoille oli tässä tapauksessa levitetty täsmälleen sama määrä samaa pölylaimennosta. Tulos osoittaa myös, että boorihapon läsnäolo esti huonepölyn bakteereja kasvamasta, mutta *Aspergillus westerdijkiae* sen sijaan kasvoi sitä rempseämmin, mitä enemmän booria maljalla oli. Se kasvoi hyvin myös maljalla joka sisälsi 10 000 mg (=10 g) boorihappoa/l (ei kuvassa). Jos olisi tutkittu vain booriton malja (niin kuin yleensä tehdään), olisi tässä tapauksessa tulokseksi kirjattu 0 pmy homeita. (Andersson ym., 2013; Mikkola ym., 2016).

Tulokset (Taulukko 5) osoittavat että *boorikäsittely lisäsi toksisten homeiden kasvua* sisäilmaongelmaisessa tilassa: homepesäkkeiden osuus kasvatusmaljojen pesäkeluvusta osuus ”kasvoi” maljan booripitoisuuden myötä. ”Tulos” on tässä tapauksessa harhaa, koska kaikille maljoille levitettiin samanaikaisesti sama määrä samaa, kuivan hienopölyn vesisuspensiota, siis saman verran pölyn sisältämiä kasvukykyisiä mikrobejakin, mikä näkyi siinä, että rinnakkaisista maljoista saatiin sama laskentatulokset (taulukossa näytetyllä tarkkuudella). Maljan booripitoisuuden nostaminen 0 mg/litrasta pitoisuuteen 200 mg/litra vähensi bakteeripesäkkeiden lukua 99%,

kun taas homepesäkkeiden luku 3,5-kertaistui. Tämän huonepölyn homeet siis sietivät boori-happoa paremmin kuin bakteerit: kun nitistettiin bakteerit, homeet saivat lisää elintilaa. **Boori-toleranssi** on osoittautunut olevan kaikkien tähän mennessä testattujen, suomalaisista ongelma-tiloista eristettyjen, toksiinituottaja-homeiden ominaisuus.

Rakennuksissa toksiineja tuottavat *Aspergillukset*, *Penicillium expansum* ja *Chaetomium* homeet saa hyvin esille käyttämällä viljelyyn maljaa johon on lisätty boorikemikaaleja (booraksi tai boorihappo) vähentämään bakteerikasvua ja booriherkkiä homeita (Mikkola ym, 2015). Kun viljeltiin vakavasti sisäilmaongelmaisen rivitaloasunnon keskuspölynimurin hienopölypussin pölyä booripitoisille maljoille (Kuva 10), paljastui *Aspergillus westerdijkiae* homeen (toksiinin-tuottaja) massiivinen esiintyvyys talon sisätilapölyssä. Suomalaisissa rakennuksissa on käytetty ja käytetään nykyisinkin massiivisia määriä boorikemikaaleja homeen-estoaineena lämmöneris-teissä ja puutavarassa. Boorikemikaaleja, kuten Boracol, käytetään myös kosteusvauriorakennus-ten saneeraukseen (Louhelainen ym., 2016), vaikka käyttö on EU:ssa kielletty jo 1.2.2013 alkaen.

Luonnonlait määräävät, että sinne, missä käytetään antimikrobisia kemikaaleja, pesiytyy ennemmin tai myöhemmin kyseisiä kemikaaleja sietäviä mikrobeja, jotka saattavat olla ihmiselle paljon haitallisempia kuin alun perin tiloista kemikaalien avulla poishäädetyt mikrobit. Saman-kaltaisesta syystä esimerkiksi sairaaloihin helposti pesiytyy antibiootteja ja desinfiointi aineita kestäviä taudinaiheuttajia.

Taulukko 5 näyttää laboratoriossa saatuja mittaustuloksia boorin vaikutuksesta hometa-losta noudettujen pölymikrobien toksisuuteen. Siinä tutkittu pöly oli rakennuksesta, josta asuk-kaat olivat joutuneet muuttamaan pois sisäilmaan liittyneiden vakavien terveyshaittojen vuoksi. *Aspergillus westerdijkiae* – lajiksi tunnistettu home kasvoi pölynäytteistä vallitsevana, miltei puh-dasviljelmänä, maljoilla joihin oli lisätty boorihappoa, ≥ 1000 mg /litra. Samalla toksisuus lisään-tyi (=EC₅₀ arvo pieneni).

Tutkiessamme sisäilmaongelmaisten rakennusten tiloja, joissa käyttäjillä oli tilaan liittyviä, vakavia terveyshaittaoireita (yht. 26 toimistoa ja 15 koululuokkaa), havaitsimme että TSA las-keuma-maljat, joilla monien tavallisten ympäristöbakteerien pitäisi kasvaa, jäivät joko tyhjiksi, tai niilläkin kasvoi homeita, vaikka samanaikaisesti ulkoilmasta TSA maljalle otettu laskeuma-näyte kasvoi runsaasti bakteereja. Sisäilmaongelmaisten toimistojen ja koululuokkien TSA-mal-jalle kasvaneista homeista pääosa (>70% kaikista homepesäkkeistä) oli toksiinintuottajia. Tämän voi havainnon voi tulkita johtuvaksi siitä, että k.o. tiloihin olisi levitetty bakteerien kasvua estä-viä kemikaaleja (antibakteerisia biosideja), joille toksiineja tuottavat homeet, kuten *Aspergillus*-, *Penicillium expansum* ja *Paecilomyces variotii* ovat tolerantteja.

Asiaa jatkoselvitettiin ottamalla samoista sisäilmaongelmaisista tiloista laskeumanäyt-teitä yhtä aikaa rinnakkaisille mallas-agarmaljoille, joista osa oli terästetty yleisesti käytettyjen homesaneeraustuotteiden tehoaineilla: boorikemikaaleilla (boorihappo, booraksi), tai kationi-silla desinfiointibiosideilla, dimetyyli-didekyyliammonium kloridi (DDAC) , PHMG (polyhek-sametyleeniguanidiini kloridi) tai PHMB (polyheksametyleenibiguanidi). Tulokset, Taulukko 6, osoittivat että useimpien sisäilmaongelmaisten tilojen laskeumista (toimistot, koululuokat, 1 tunti, malja avoinna) kasvoi biosideilla terästetyille maljoille saman verran saman näköisiä homepesäkkeitä riippumatta siitä, sisälsikö malja PHMB, PHMB, boorikemikaaleja, vai ei. Mal-joissa käytetyt pitoisuudet olivat samoja kuin ne, jotka kauppatuotteiden pakkaus-päällyksessä neuvotaan käytettäväksi homesaneerauksessa. Samaa taktiikkaa kokeiltiin myös verrokkitiloissa, tulosten osoittaessa että käytetyt biosidipitoisuudet estivät sekä bakteerien että (pääosin) myös homeiden kasvun.

Taulukko 6. Sisäilmahaittaisten toimistojen ja koululuokkien mikrobien propaguulit ovat biosidiresistenttejä.

Resistentiksi katsottiin yhden tunnin aikana maljalle laskeutunut mikrobisto jonka sisältämät propaguulit (lisääntymissolut) tuottivat mallas-agar (MA) ja /tai tryptoni-soijauute maljalla (TSA) suunnilleen yhtä monta (50 – 150%) pesäkettä / malja) siitä riippumatta, oliko malja terästetty taulukossa mainitulla tehoaineella, joita olivat boorikemikaalit boorihappo ja booraksi, PHMG = polyheksametyyleeni guanidinium kloridi, PHMB = polyheksametyyleeni biguanidi; DDAC =didekyyli-dimetyyli ammonium kloridi. Nämä aineet ovat Suomessa 1990-luvulta vuoteen 2015 eniten käytettyjen home-saneeraustuotteiden tehoaineet. Laskeumat mitattiin pitämällä kaikkia viljelymaljoja yhtä aikaa auki työaikana työpöydällä tai (jos pöydälle ei mahtunut), ikkunalaudalla yksi tunti, jonka jälkeen ne teipattiin umpeen ja vietiin laboratorioon kasvatettaviksi. Kasvatusaika 3 – 4 viikkoa. R = resistentti ; S = herkkä (ei kasvanut, tai terästetyiltä maljoilta laskettu pesäkeluku oli alle 10% vastaavan mallas- tai tryptoni-soija-agarin pesäkeluvusta). Lähde: *Castagnoli, Mikkola, Salo, Andersson, Salkinoja-Salonen ym., 2015.*

Toimiston koodi				
mg/l	boorihappo tai booraksi, 2000	diarseeni pentoksidi, 250 – 500	PHMG tai PHMB, 500	DDAC 250 - 1000
H7	R	R	R	S
H21	R	R	R	R
H14	S	R	S	S
H15	S	S	S	S
H16	S	R	S	S
F35, H38, H56	S	R	S	S
H44, H45	R	R	R	S
H49	R	R	R	R

PHMG:n sisätiläkäyttö (ilman kostuttimissa) aiheutti maailman suurimman siviilikohteessa (kodit, toimistot) sattuneen kemikaali-onnettomuuden, vv. 2006 - 2011. Se tapahtui Eteläkoreassa. Suomessa PHMG:tä, ja sen jouduttua v. 2013 käyttökieltoon EU:ssa, sisaraine PHMBtä, käytettiin ainakin vuoteen 2015 myös ”käsidesinä” sairaaloissa ja hoitolaitoksissa, sekä kuluttajille myytävissä tekstiilien raikastussuihkeissa ja hajunpoistoon. Jotkut suomalaiset asuntorakentajat käsittelyttävät myyntiin valmistuneet asunnot ennen myyntiä PHMG:llä tai PHMB:llä. Nämä kemikaalit ovat haihtumattomia mutta aerosolisoituvat vesihöyryn mukana. Tietoja terveyshaittaoireista: ks. luku 8.9 ja lähdekirjallisuutta aakkosten kohdassa: PHMG/PHMB.

3.3. Miten tunnistetaan myrkyä tuottavat sisätilamikrobit?

Mikrobin, pölyn ja kemikaalin solutoksisuudet voidaan mitata (Kuva 4). Kaikilla soluilla voi mitata tappavuutta (solukuoleman aiheuttavaa pitoisuutta), mutta toimintahäiriö-vaikutuksia voi mitata vain sellaisilla soluilla joilla on kyseinen toiminto: esimerkiksi siittiöillä voi mitata liikuntakyvyn häiriöitä, immuuni-järjestelmän soluilla (syöjäsolut eli makrofagit ja veren monosyytit), voi mitata elimistön puolustuskyvyn kannalta tärkeitä toimintoja kuten sytokiinien ja kemokiinien tuottoa, haiman beta-soluilla voi mitata insuliinintuoton häiriöitä.

Taulukkoon 7 on koottu julkaisuista kerättyä tietoa Suomessa käytetyistä testisoluista rakennusten ja muiden ympäristönnäytteiden toksisuuden tutkimuksessa.

Tämän kirjoittajan johdolla tehdyissä tutkimuksissa käytettiin toksiinintuoton jäljittämi- seen kahta tai useampaa solua, siittiö ja sen parina somaattinen, kuten munuaistubuluksen epi- teeli (PK-15), keuhkoepiteelisolu (FL), haimasolu (Min6) tai hermosolu (MNA) (Ajao ym, 2015; Rasimus ym. 2012, Hoornstra ym., 2013, Hoornstra 2014, Rasimus-Sahari 2016). Siittiöiden käyttöä (BSMI assay, Hoornstra 2013) puoltaa kolme tärkeää seikkaa: 1. Siittiöt ovat primäärisolu (elävästä koe-eläimestä, eikä laboratoriossa kasvatettu), 2. siittiöt osoitettiin jo aiemmin julkais- tuissa töissä (Hoornstra ym., 2003, Mikkola ym 1999, Mikkola 2006) luotettaviksi mitokondrio- toksisuuden ilmaisijoiksi; 3. Siittiöt ovat paras tunnettu vaihtoehto sikiötoksisuuden ennakkointiin silloin kun, esim. eettisistä syistä tai sikiösolujen saatavuuden vaikeuden takia, ei haluta käyttää sikiön soluja (Claassens ym., 2000; Lierman ym. 2007). Lapsettomuusklinit käyttävät ihmisen siittiöitä indikaattorina, kun valitaan laboratoriovälineitä ja reagensseja keinohedelmöitykseen, ja keinosiemennysasemat samoin tuotantoeläimillä. Tutkimusryhmämme käytti sian siittiöitä, koska niitä on kaupallisesti saatavilla, ne ovat paras tunnettu korvike ihmisen vastaaville soluille.

Taulukko 7. Suomessa käytettyjä testisoluja sisätilänäytteiden toksisuuden tutkimuksessa.

Solu	Saatavuus	Mitattuja mikrobitorksiineja	Lähdeviite
Ihmisen solut			
veren yksitumaiset valkosolut PBMC, monosyytti, granulosyytti, NK solu	Eristetään tuoreen luovutusveren valkosolujäännöksestä "buffy coat" (SPR)	kereulidi, paenilidi valinomysiini	Hoornstra ym 2013, Rasimus ym. 2012, Paananen ym. 2000, Paananen ym., 2005; Paananen 2004.
makrofagi	Eristetään tuoreen luovutusveren valkosolujäännöksestä "buffy coat" (SPR)	amylosiini	Salkinoja-Salonen ym, 2011 Rasimus-Sahari ym. 2015
keratinosyytti HaCaT, ihon solu	HY Patologia	kereulidi, paenilidi	Hoornstra ym 2013, Rasimus 2012, Boukamp ym1988
Keuhkon epiteelisolu A549	ATCC CCL185	hartsianiinit	Peltola ym 2004
makrofagi THP-1	ATCC (käytössä: Työterveyslaitos, Helsinki)	5 sisätilahomeen torksiinit	Huttunen ym. 2013, Hirvonen ym 2013 (Liite 6)
Sian solut			
siittiö	Keinosiemennys- asema, kaupallinen	amylosiini, kereulidi, valinomysiini, stefasidiini B;viriditorksiini, sitriniini, triloniini, ofioboliini, ja 20 muuta bakteeri- ja hometorksiinia	Mikkola ym., 2012; Andersson ym 1997, 1998a,b, 2010; 2012; Andersson 1999, Hoornstra ym 2003, 2004, Bencsik ym., 2014
munuaistubuluksen epiteelisolu PK-15	ATCC (käytössä: EVIRA, virologia)	amylosiini, sterigmatokystiini, viriditorksiini, trikortsianiini, akrebolit A,B, ketoglobosiini, kommunesiini A,B	Andersson ym.,2009, 2012; Rasimus ym., 2012; Salo 2014

Solu	Saatavuus	Mitattuja mikrobitekijöitä	Lähteet
Hiiren solut			
neuroblastooma, MNA	EVIRA	akrebolit A,B; ketoglobosiini, kereulidi, paenilidi, kummunesiini A,B sisätilabiosidit	Andersson ym 1999, 2009, 2013; Rasimus ym., 2012; Salo 2014
fibroblasti –L929	Solupankki	kereulidi	Hoornstra ym 2013, Hoornstra 2014
haiman beta-saareke MIN-6	prof. Miyazaki (Japani), käytössä THL:n virologian yksikössä (Helsinki)	akrebolit A,B, alametisiini, kereulidi, paenilidi, enniatiini, bafilomycin A, myxotiatoli, antimysiini A, valinomysiini	Kruglov ym 2009, Hoornstra ym., 2013, Rasimus ym, 2012; Tonshin ym., 2010
makrofagi solulinja RAW264.7	ATCC, käytössä THL/Kuopio	5 sisätilahomeen tekijät	Huttunen ym. 2013; Hirvonen ym Liite 6 TOXTEST raportissa (stm-linkki)
Muut			
koiran keuhkon epiteelisolu A72	EVIRA	sterigmatokystiini, sisätilabiosidit ja tekijät	Andersson ym 2013
kissan keuhkon epiteelisolu, FFL	EVIRA	sterigmatokystiini, ketoglobosiini, kummunesiini A,B; akrebolit A,B; sisätilabiosidit	Andersson ym 2009, 2013
Bioluminoiva bakteri Muuntogeeninen kolibakteri <i>E. coli</i> K12-Lux	Turun Yliopisto, Biokemian Iis	5 sisätilahomeen tekijät	Atosuo ym, 2013, 2015; Huttunen ym. 2013, Hirvonen ym 2013 (Toxtest hankkeen Liite 6)

Metaboliamittareita (toxic end-point) keskeisten aineenvaihduntareittien toimivuuteen ovat solun hapenotto-kyky, kalvojen sähkövaraukset, glukoosin kulutus, mitokondrioiden kyky tuottaa kemiallista (ATP) tai sähköistä energiaa, solun jakautumis- eli uusiutumiskyky. Näiden toimintojen vaurioituminen ilmenee mm. seuraavina aineenvaihdunnan häiriöinä:

- solujen hapenkulutuksen kiihtyminen (ja lämmöntuoton kasvu)
- maitohapon liikatuotto soluissa, pH lasku kudoksissa tai veressä (aerobinen glykolyysi),
- glukoosin kulutuksen nousu
- pelkistyskiväntien kertyminen soluun
- reaktiivisten happiradikaalien tuotto (vetyperoksidi, hydroksyyli- radikaalit, superoksidianioni)
- myrkyllisten solun sisäisten aineenvaihduntatuotteiden tuotto (mm. karbonyylit kuten metyyli- glyksaali)
- reaktiivisten dikarbonyylien tuotto
- solujen tai kudosten nekroosi
- solukuoleman kiihtyminen: *apoptoottinen* (järjestynyt tapahtuma, jossa tuma pysyy koossa kunnes proteiinit pilkotaan ja kuljetetaan kierrätykseen), tai *nekroottinen* (solukalvot vaurioituvat, solut ja niiden tumat hajoavat hallitsemattomasti, sytolyysi).
- kaliumjonien vuoto soluista

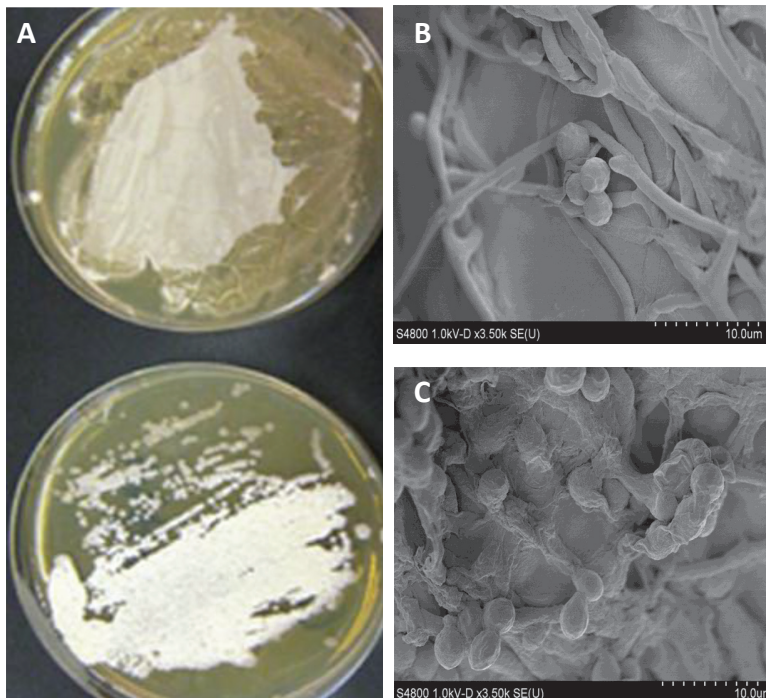
4. SISÄYMPÄRISTÖLLE HAITALLISIA MYKOTOKSIINEJA JA NIIDEN TUOTTAJIKSI OSOITETTUJA HOMEITA

Näitä on alla esitelty aakkosjärjestyksessä (ei tärkeys-).

4.1. *Acremonium*

Acremonium –sieni (*A. exuviarum*, ei muita lajeja) on sykloheksimidi-resistentti myrkyllinen home (Andersson ym 2009) (Kuva 11). Sykloheksimidiä (500 mg/L) on perinteisesti käytetty viljelymaljoilla estämään homeiden kasvua kun näytteestä halutaan tutkia vain bakteereja. *Acremonium* homeita on löydetty kosteusvaurioita kärsineistä puurakenteista ja myös vesijohdoista (Concalves ym. 2006). Rutiinitutkimuksessa, jossa tarkastellaan pesäkemorfologiaa, *Acremonium* homeet saattavat tulla kirjatuiksi ”aktinobakteereiksi” koska ne kasvavat maljalla samannäköisinä (Kuva 11) ja ovat resistenttejä sykloheksimidille.

Acremonium exuviarum BM4 kanta on ensimmäinen tämän lajin kanta, joka osoitettiin myrkyllisten ekstroliittien tuottajaksi, ja jonka toksiinien rakenne ja toksisuuden mekanismi (moa = mode of action) on selvitetty. *A. exuviarum* purkaa ympäristöönsä rasvaliukoisia mitokondriomyrkyllisiä peptaiboleja, akreboleja (Andersson ym. 2009; Kruglov ym., 2009).



Kuva 11. *Acremonium exuviarum* BMB4. Tämä kanta eristettiin vesivahinkoisesta kerrostalohuoneistosta, jossa koko perhe sairastui. A. Sen maljakasvuston ulkonäön, ja sykloheksimidi resistenssin vuoksi sitä voi luulla *Streptomyces*-aktinobakteeriksi. Näin saattaa käydä sisäilmatutkimuksissa, joissa ei aina mikroskooppisia tai DNA-tutkimuksia tehdä. Ylempi malja = kanta BMB4, alempi malja ”oikea” streptomyces. B ja C. Pyyhkäisyelektronimikroskooppilla (SEM) otettuja kuvia kannan BMB4 rihmastosta ja itiöistä. Mittajana = 0.01 mm (10 μm). Maria Andersson, Mari Raulio, Mirja Salkinola-Salonen. (tsr 112134)

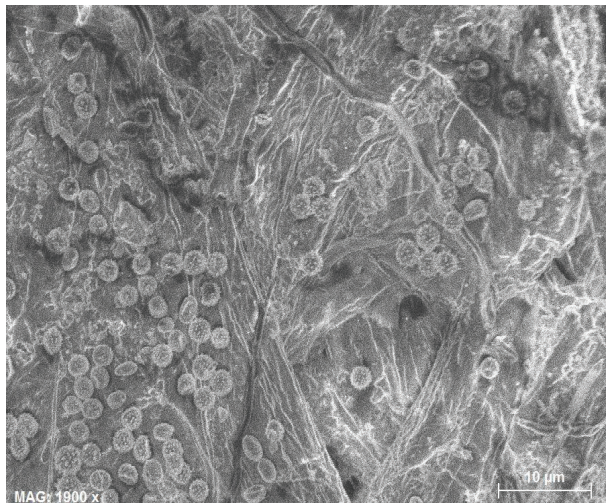
4.2. *Acrostalagmus*

Suomalaisista hometaloista tunnetaan toistaiseksi yksi toksinen *Acrostalagmus* laji, *A. luteoalbus*. Se voi tuottaa monia erilaisia terpenoiditoksiineja ja piperatsiineja (Sato ym., 1976, Wang ym., 2012) joiden merkitys sisätiloissa, ja seuraukset altistumisesta, ovat selvittämättä. *Acrostalagmuksien* esiintymiseen ei yleensä näytä kiinnitetyn huomiota sisäilmatutkimuksissa. Syynä voi olla se, että jos menetelmänä on lyhytkestoinen maljaviljely, viranomaisen ohjeistaman mukaan 7 vrk (Taulukko 3), akrostalagmukset näkyvät mallas-agarmaljalla vain vaaleana, itiöttöminä rihmastohaittuvina, jotka viljelytuloksia lukeva henkilö saattaa nimetä valelajiksi ”*mycelia sterilia*”. Kaikki sisäilmahaittaisista rakennuksista eristetyt *Acrostalagmus* kannat havaittiin solutesteissa toksisiin tuottajiksi (Kuva 12) (Maria Andersson ym., 2016) (tsr112134).

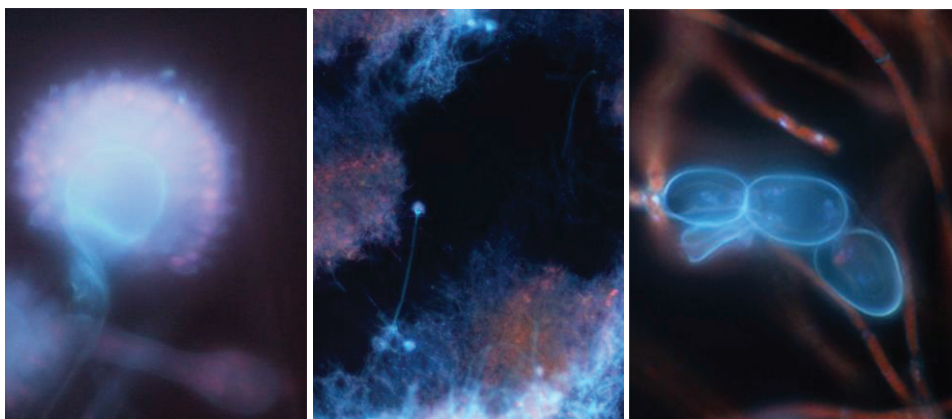
4.3. *Aspergillus* eli nuijahome

Aspergillus lajit ovat tehokkaita itiöiden levittäjiä sisäilmaan. *Aspergillukset* hyödyntävät vähäisenkin kosteuden. Niitä löytyy usein sisäilmahaittaisista rakennuksista, joista ei löydy kosteusvauriota ($a_w < 0.8$). *Aspergillukset* kasvavat sekä ”bakteerien” (pH 7.2) että homeiden (pH 5.4) viljelyyn tarkoitetuilla maljoilla. Jos läsnä on paljon bakteereja (Kuva 10), niin mahdolliset *Aspergillus* pesäkkeet jäävät niin mikroskooppisen pieniksi, ettei niitä pysty tunnistamaan ja ne jäävät laskematta. Nämä tulokset osoittavat, että toksisten *Aspergillusten* ”todellisemman” määrän selvittämiseksi viljelymaljaan kannattaa lisätä boorikemikaaleja (≥ 2000 mg/l) (Taulukko 4). Tämä boorilisäys vaimentaa bakteerikasvun ja myös useimmat ”kiltit kotihomeet”, jolloin *Aspergillus* pesäkkeet saavat tilaa kasvaa niin, että ne on helppo tunnistaa (Andersson ym., 2013; Mikkola ym. 2015) (Kuva 10, taulukko 5).

Lajit *A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. candidus*, ja *A. terreus* ovat ihmispatogeenia ja voivat infektoida monia elimistön osia, etenkin hengitysteitä ja korvaa (otomykoosi) (Garcia-Agudo ym., 2011), aspergilloosi, aspergillooma (Anttila ym., 2003). Aspergilloosi keuhkoissa on hengenvaarallinen sairaus jonka aiheuttajana tunnetaan *A. fumigatus*, mutta myös *A. flavus* ja *A. calidoustus* (Anttila ym. 2003, Hubka ym., 2012; Khan ym. 2014 (Kuvat 12A ja B). Tanskalainen tutkijaryhmä on todennut, että kaupasta ostetut, uudet, kuivat kipsilevyt (12 eri tuotemerkkiä tutkittiin) sisältävät valtalajina *Neosartorya hiratsukae*- homeetta, joka on *Aspergilluksen* suvullinen muoto (teleomorfi) (Andersen ym., 2016). Sen anamorfi on geneettisesti läheistä sukua tai identtinen ihmiselle patogeenisen *A. fumigatus* lajin kanssa (de Hoog ym., 2000). Tilanne näyttää Suomessa samankaltaiselta (kuva 12 A). Kipsimateriaalien runsas käyttö sisätilojen rakenteissa saattaa selittää toksisten *Aspergillusten* dominanssin suomalaisissa, vakavasti sisäilmaongelmaisissa rakennuksissa/tiloissa. Kun niiden varanto on kipsilevyissä, ne pääsevät siellä nopeasti toimimaan jos kipsilevy diffusiivisesti kuljettaa niille tarvittavan kosteuden ja kipsilevyn peittona oleva muovitettu laineri avustaa hiilidioksidi-pitoisuuden pidättämisessä *Aspergilluksille* suotuisalla pitoisuusalueella (5000 – 10 000 ppm)(Andersson, Salo, Lipponen ym., 2014).



Kuva 12.A. Kipsilevyn laineri on suosittu kasvupaikka nuijahomeille (*Aspergillus*) suomalaisissa rakennuksissa. Kipsilevy tarjoaa hivenaineita, laineri (kiertokuitua) ja sisältää ravinnoksi kelvollisia liima-aineita (tärkkelys, CMC) ja kostutinkemikaaleja (poly-etoksi-rasva-alkoholeja). Home tuottaa kosteutta (hengitys), muovitettu päällinen estää kuivumista. Kuvan kipsilevypalanen ei ole hometalosta, vaan sahattiin rautakaupasta ostetusta, uudesta, kuivasta kipsilevystä. Kuva on pyyhkäisyelektroni-mikroskoopilla (SEM) kuvattu kipsilevystä ilman esikäsittelyä. Simo Lehtinen, Johanna Salo, Mirja Salkin-oja-Salonen (tsr112134).



Kuva 12.B. *Aspergillus calidoustus* löytyi saman rakennuksen useasta toimistosta, joissa koettiin vakavia sisäilmaan liittyneitä terveyshaittoja. Fluoresenssimikroskoopilla otetut kuvat vasemmalta oikealle: konidiofoori nousee rihmastosta; lähikuva konidiofoorista joka on kiertynyt kannattimensa ympäri, keskellä kasvullista rihmaa (paksuus n. 8 μm) ja oikealla pulleita Hullen soluja. Fluoresenssimikroskooppikuvia. Maria Andersson. (tsr112134)

Ihmisen aspergilloosi-infektio liittyy usein homeisen kasvimateriaalin tai kompostin käsittelyyn ulko- tai sisätiloissa, eikä liity hometaloihin. Kynsisilsa (onykomykoosi) on joskus aspergillusten aiheuttama, lajeina *Aspergillus sydowii*, *A. versicolor*, *A. westerdijiae*, *A. niger* tai *A. fumigatus*. *A. fumigatus*, *A. flavus*. *A. niger* tunnetaan myös sisäilmaongelmaisista toimistoista, joissa ilma on kuivaa. *Aspergillus niger* laji on bioteknisen teollisuuden työhevonen, jolla tuotetaan mm. sitruunahappoa. Bioteknisesti tuotettua sitruunahappoa sisältyy lisäaineena (E330) hyvin moniin elintarvikkeisiin. On mahdollista, että bioteknisesti tuotettuun sitruunahappoon jää jääminä tuotajakannan solukomponentteja, jotka käynnistävät yliherkkyyks-reaktion henkilöissä, jotka ovat altistuneet toksisille *Aspergillus niger*'ille työ- tai asuntotiloissaan.

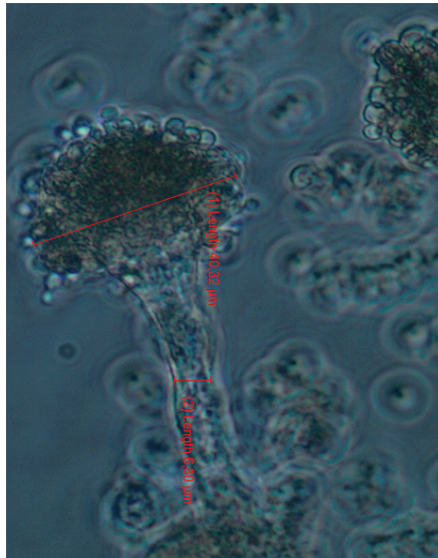
Aspergillus calidoustus hometta löydetään sisäilmaongelmaisista tiloista jos sitä osataan etsiä. Julkaistuja tutkimuksia sisäilmaterveyshaittaisista rakennuksista on ”kuivan ilmaston” maista, Kanadasta ja Arabian –Punaisen meren alueilta. Se viihtyy niukkaravinteisissa, koneellisesti ilmastoiduissa tiloissa, kasteluvesi- ja muissa vedenjakelujärjestelmissä (Khan ym., 2014; Hageskal ym 2011) ja sietää pitkiä kuivia jaksoja.

Suomalaisista rakennuksista v. 2011 – 2013 talteen otetut *A. calidoustus* kannat tuottivat ofioboliiniksi tunnistettua toksiniä (Bencsik ym, 2014). Sitä on muuallakin löytynyt *A. calidoustuksesta* (Fog-Nielsen & Frisvad, 2011). Toisin kuin *A. ustus*, joksi sisätilojen *Aspergilluksia* (virheellisesti) nimitään, *A. calidoustus* kasvaa 37°C ja siten voi myös infektoida ihmistä (Hubka ym. 2012; Varga ym., 2008).

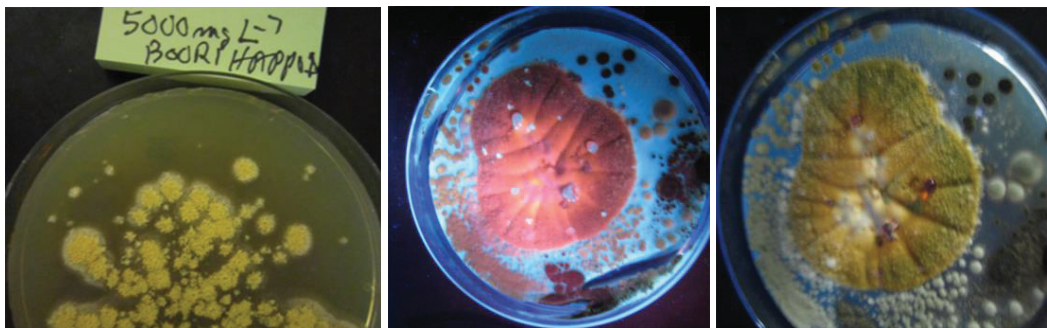
Aspergillukset, etenkin *Ustus*-ryhmän lajit, tuottavat semiokemikaaleiksi kutsuttuja bioreaktiivisia VOC- aineita, 1-okteeni-3-oli, 3-oktanoli, 2-oktanoni (Polizzi ym., 2012). 1-okteeni-3-oli on neurotoksinen ja immuunitoksinen (Inamdar ym 2013). ”Hometaloissa” esiintyy muitakin 3-okteeni-3-olia tuottavia sieniä kuin *Ustus*-ryhmä. Banaanikärpäsellä tehdyissä kokeissa todettiin että 1-okteeni-3-oli 0,5 mg m⁻³ pitoisena häiriköi dopamiinin metaboliaa (Inamdar ym. 2012, 2013, 2014). Dopamiini on autonomisen hermoston dopaminergisten hermopäätteiden välittäjäaine. Prof. Bennett ’in ryhmä (Rutgers University USA, USA:n Tiedeakatemia jäsen) on esittänyt että 1-okteeni-3-oli on yksi parkinsonin taudin syntyyn myötävaikuttavista aineista (Inamdar & Bennett 2013). 1-okteeni-3-oli käynnistää luontaisen immuunijärjestelmän soluissa tulehduksellisen (inflammatorisen) vasteen, typpioksidin (NO) tuoton (Inamdar ym., 2012; 2013a,b; 2014).

Aspergillus fumigatus sientä esiintyy ulkoilmassa, koska se kasvaa kosteilla kasvimateriaaleilla. Tämänvuoksi se on yleinen mm. kompostilaitosten ja maataloustilojen työilmassa (10⁷ itiötä /m³, Buenger ym., 2004). *A. fumigatus* tunnetaan homepölykeuhkon (aspergilloosi) aiheuttajana, silsasienenä ja korva- ja haavatulehdusten aiheuttajana (Hubka ym 2012; Buenger ym., 2004;). Jotkut sen kannat tuottavat gliotoksiineja (2-S, 3-S tai 4-S) joissa on 2, 3 tai 4 disulfidirikkiä (Nieminen ym., 2002). Aspergilloosi-potilaskantojen on osoitettu tuottavan gliotoksiineja, jotka lamauttavat keuhkoputkien pintoja puhdistavien värekarvojen (kilioiden) toiminnan. Kun kiliat eivät toimi, tästä seuraa, että sisäänhengitetyt itiöt ja muut pienhiukkaset jäävät pitkäksi aikaa keuhkoihin (Amitani ym., 1995). Suomessa *A. fumigatus* homeen esiintyminen näyttää olevan sisätiloissa suunnilleen yhtä yleinen kuin ulkoilmassa, mutta ei ole tutkittu tuottaako tämä sieni molemmissa ympäristöissä yhtäläisesti toksineja. Se yleistyy sisätiloissa tilanteissa, joissa koko rakennus on ollut veden vallassa, kastuen pitkään ja perusteellisesti.

Aspergillus westerdijkiae on Suomessa yleinen sisätilojen toksineja tuottava home. Tämä *A. westerdijkiae* laji on ehkä *Aspergillus* ryhmän pahis Suomen oloissa. Se kasvaa kylmässäkin (+5°C), säilyttää elinkykyisyytensä kuivuudessakin, sietää korkeitakin lämpötiloja, mutta ei kasva 37°C. Se infektoi ihmisen uloimpia, viileitä osia: kynnet (silhasieni), ulkokorva (Hubka ym., 2012). Suomalaisista terveyshaittaisista tiloista eristettyjen kantojen tuottamiksi toksineiksi on osoitettu okratoksiini A, stefasidiini B ja avrainvillamidi (Mikkola ym. 2015). Korkea booripitoisuus (> 5000 mg/L tai >3000 mg/kg) estää bakteerien ja kilpailevien homeiden kasvun ja siten antaa valintaedun aspergilluksille.



Kuva 13. Terveyshaittaisesta toimestosta eristetty *Aspergillus flavus*. *A. flavus* tunnetaan rehujen ja elintarvikkeiden, etenkin maapähkinöiden, mutta myös viljan myrkyttäjänä, mutta sitä löytyy siis myös vakavasti sisäilmaongelmaisista rakennuksista. *A. flavus* tuottaa pelättyä homeyrkkyä nimeltä aflatoksiini, joka tunnetaan syöpää aiheuttavana aineena. Valomikroskooppikuva itiöistä ja konidiofoorista. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134)



Kuva 14. Vasen: *A. westerdijkiae* kasvaa boorimaljalla (5000 mg boorihappoa/litra) jo 6 vrk kasvatuksen jälkeen helposti tunnistettavina erillispesäkkeinä. Keskellä ja oikealla: laskeumamalja (mallas agar, terveyshaittaisesta työtilasta) kuvattuna päivänvalossa (oikealla) ja mustavalossa, 360 nm, (keskellä). Malja oli ollut työtilan pöydällä ilman kantta tunnin, suljettiin, teipattiin umpeen, kasvatettu 2 vk. Iso pesäke maljan keskellä on *A. westerdijkiae*.

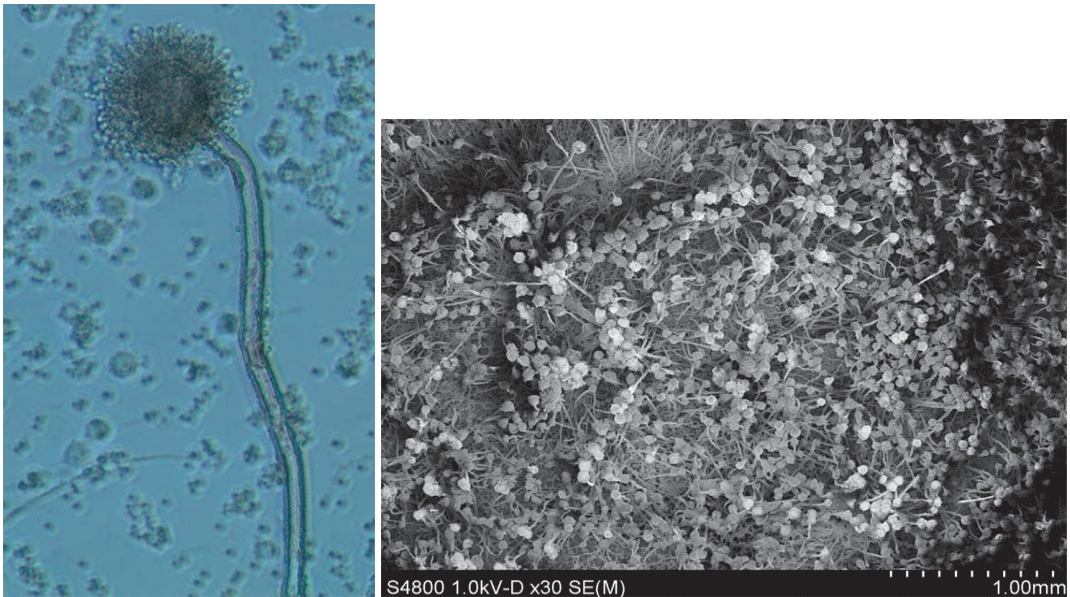
Kuvassa 14 (keskellä) näkyy sinisenä fluoreoivia pisaroita pesäkkeen pinnassa. Sininen fluoresenssi viittaa siihen että pisara sisältää okratoksiini A:ta (Taulukko 2). Kirjallisuuden mukaan kaikki tämän *Aspergillus* lajin kannat tuottavat okratoksiini A: ta (Visagie ym., 2014a).

Suomessa käytetään rakennusmateriaaleja, etenkin lämpö- ja äänieristeitä, jotka on valmistuksen yhteydessä imeytetty väkevällä pitoisuudella booria. Eristeet ovat boorinkestävien home-lajien, kuten aspergillusten, suosiossa. *A. westerdijkiae* on resistentti kaikille Suomessa myydyille ”homesaneeraus” kemikaaleille (Andersson ym. 2013, 2014). Mikkola ym. osoitti, että vakavasti

sisäilmahaittaisesta asunnosta eristetty *A. westerdijkiae* kanta kasvoi rehevästi mallasagarilla, johon oli lisätty gramma/litra PHMG:tä tai PHMB:tä (taulukko 3 julkaisussa Mikkola ym 2015).

Sekä *Aspergillus versicolor* että *A. westerdijkiae* suosivat boorikemikaaleja (boorihappo, booraksi) sisältäviä kasvualustoja (Kuva 10). Korkea booripitoisuus (> 5000 mg/L tai >3000 mg/kg) estää bakteerien ja kilpailevien homeiden kasvun ja siten antaa valintaedun aspergilluksille. Suomalaisista rakennuksista tutkituista eristevillanäytteistä (lämpö- ja äänieristeet) booria löytyi yli 30 000 mg/kg, eli useita paino% (Andersson ym., 2014). Tämä saattaisi selittää sen, miksi eristevillat ovat boorinkestävien homelajien, kuten aspergillusten, suosiossa.

Kaikki tutkitut *A. westerdijkiae* kannat tuottavat okratoksiini A:tä (Visagie ym, 2014a). EU:n säättämä TDI yläraja (total daily intake) ihmisen elimistön okratoksiini A kuormitukselle on 0,005 µg/kg/vrk, eli 60 kg painoiselle aikuiselle 0,3 µg vuorokaudessa. Puoliintumisaika elimistössä on arvioitu alle kahdeksi kuukaudeksi (Creppy ym., 1983, Hagelberg ym, 1989). Nykyinen saanti elintarvikkeista on 1/3 TDI:stä, joten turvamarginaali on kapea (Pohjanvirta, 2007). Jos *A. westerdijkiae* PP2 tuottaisi rakennuksessa kasvaessaan edes 1% siitä okratoksiinimäärästä minkä se laboratorioissa tuottaa, niin hengittäen tai ihon kautta saatu vuorokausiannos yhdestäkin milligrammasta (=vähemmän kuin yksi pesäke) *A. westerdijkiae* hometta jo ylittäisi EU:n asettaman TDI arvon kolminkertaisesti.



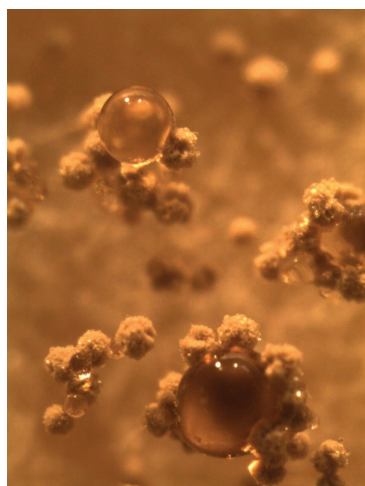
Kuva 15. Mikroskooppikuvia *Asp. westerdijkiae* PP2 (ihmisten sairastumiseen liittynyt sisätilakanta) konidiofooreista. Valomikroskooppikuva (vas) yksittäisestä konidio-foorista, josta irtoilee satamäärin yksittäisiä itiöitä (konidioita, vas) ja pyyhkäisy-elektronimikroskooppikuva yhdestä pesäkkeestä (oik), josta näkee kuinka suunnattoman määrän konidiofooreja tämä sisätilakanta PP2 tuottaa. Maria Andersson, Mari Raulio, Mirja Salkinoja-Salonen (tsr112134).

Okratoksiini A:n haitallisimmat *in vivo* (elävässä koe-eläimessä) ja *in vitro* (=solutestit laboratorioissa) tunnistetut, vaurioittavat ominaisuudet ovat kyky aiheuttaa oksidatiivinen stressi ja sitä seuraava neurotoksisuus (Paradells ym 2014, Sava ym 2006, 2007), munuaistoksisuus ja karsino-

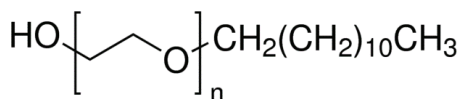
geenisyy (syöpä elävässä koe-eläimessä, Pohjanvirta, 2007; Pfohl-Leszkowicz & Manderville, 2007; Boesch-Saadatmandi ym., 2008). Altistuminen 0.01 – 1 µg /ml okratoksiini A:ta vähensi eläinkokeissa annosriippuvalla tavalla aivojen hermotukisolujen (astrozyytit, gliasolut) uusiutumiskykyä ja vähensi toimintakykyisten nuorten neuronien määrää (Paradells ym, 2014). Herkimpiä olivat nuoret yksilöt.

A. westerdijkiae laji on suomalaisista hometaloista kuvattu ensimmäisen kerran tämän kirjoittajan johtamassa tutkimusryhmässä (Mikkola ym, 2015). Se ei (vielä) esiinny viranomaisen listalla toksisista sisätilamikrobeista, kuten ei myöskään *A. calidoustus* (STM, Asumisterveysohje, 2003). Helsingin Yliopiston ja Aaltoyliopiston tutkijoiden havainnot viittaavat siihen, että toksiset *Aspergillukset* ovat tolerantteja viime vuosikymmenten aikana käytetyille puunsuojakemikaaleille, niin arseenipentoksidille kuin boorille. Nämä nuijahomeet sietävät myös muita viime vuosikymmenen kuluessa laajamittaiseen käyttöön otettuja homeen-estoon markkinoituja biosideja (polyguanidiyhdisteet PHMG, PHMB) ja kvaternääriset ammonium yhdisteet, didekyyli-dimetyyli ammonium kloridi (DDAC) niissä pitoisuuksissa, joissa rautakaupassa ostettavia tuotteita levitetään sisätiloihin homesaneeraukseen. (Andersson ym, 2013, Salo ym. 2015, Mikkola ym., 2015).

Sekä *Aspergillus westerdijkiae* (Kuvat 14 ja 16), että *Aspergillus versicolor* (Kuva 18) tuottavat myrkyllisiä ekstroliitti pisaroita, jotka voivat levitä rakenteista alipaineiseen sisätilaan kosteuden kuljettamana. Julkisten tilojen leave-on siivouksessa käytetyt tuotteet sisältävät kostutinkemikaaleja jotka on kehitetty muuttamaan vesi sellaiseksi että se aerosolisoiutuu hienojakoisina (nano-) pisaroina. Tämä lisää maalien, siivousnesteiden ja kasvinsuojeluaineiden käytön taloudellisuutta (pienellä tilavuudella kostuu isompi pinta), mutta juuri samasta syystä se edistää kuivissa tiloissa homeiden hyötymistä ilmastokosteudesta, ja itiöiden itämistä. *Aspergillus versicolor* kasvaa sekä kylmässä (+ 4°C) että kehon lämpötilassa (37°C) joten se voi myös olla ihmiselle virulentti. Se sietää hyvin ja pitkiä aikoja kuivuutta.



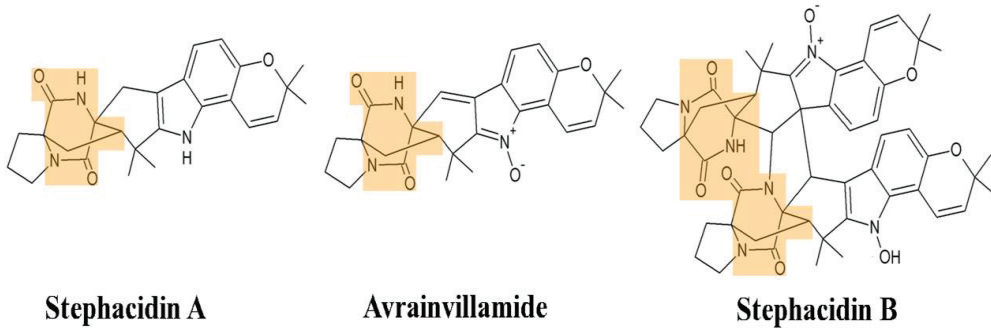
Kuva 16A. Vakavasti sisäilmahaittaisen toimiston ulkoseinän (tiiliseinä) eristevillassa kasvoi tämä *Aspergillus westerdijkiae*. Se tuotti toksisia ekstroliitti vesikkeleitä. Kuvassa näkyy konidiofooreja itiöineen ja niiden kuorruttamia ekstroliittivesikkeleitä. Ekstroliittivesikkelit voivat toksinien ohella sisältää ravinteita tai aineita *Aspergillus* itiöiden itämistä tai pintaan tarttumista varten. Pisarat sisältävät vettä hylkiviä, rasvahakuisia, toksisia aineita. Sisätilojen leave-on siivousaineiden sisältämien, niukasti vesiliukoisten kostutin-kemikaalien (Kuva 16B) tiedetään pirstovan hydrofobisia aineita nanopisaroiiksi. Todennäköisesti homeiden hydrofobiset ekstroliitit leviävät tällä tavoin nanoaerosolina sisäilmaan. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (tsr 112134)



Kuva 16B. polyeteleeniglykoli dodekyyli eetteri (kostutinaaine = wetting agent)

Uusi sisäilmahomeiden mykotoksiini ryhmä: indoli-alkaloidit

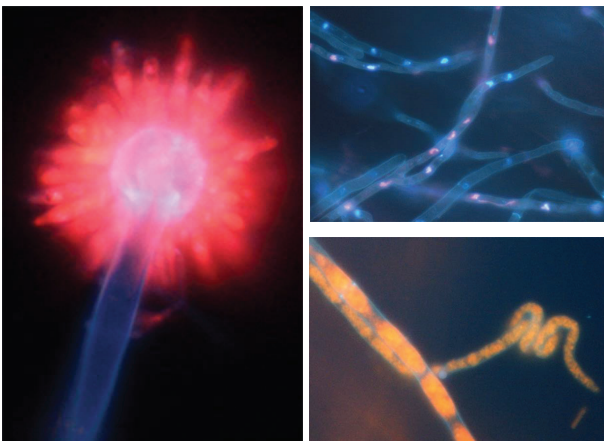
Dimeerisen stefasidiini B:n ominaistoksisuus sian munuaissoluille PK15 0,3 µg/ml, oli n. 200 kertaa myrkyllisempi kuin monomeeri stefasidiini A (kuva 17). Indolialkaloidien lisäksi *A. westerdijkiae* kannat tuottavat suuria määriä, jopa 30% kuivapainosta, okratoksiini A:ta. *A. westerdijkiae* ja senkaltaiset, boorikemikaaleille ja PHMB/G:lle resistentit sisätilahomeet todennäköisesti saavat valintaedun siitä että näitä biosideja käytetään sekä rakennusmateriaaleissa että rakennuksen käytön aikaisissa sisätilojen ja/tai irtaimistojen homesaneeraustoimissa. Lähde: *tsr112134 Raimo Mikkola, Maria Andersson ym., (2012).*



Kuva 17. Biosideille tolerantin *Aspergillus westerdijkiae* sisätilahomeen tuottamat indoli alkaloidi-ryhmän toksiset ekstrolitit.

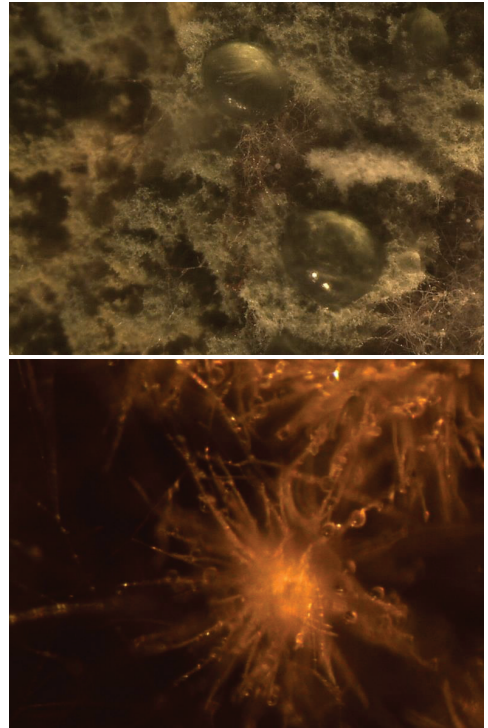
4.4. *Chaetomium globosum* ja spp

Chaetomium globosum (kuvat 19, 20) löytyy etenkin silloin kun kohteessa on, tai on ollut, runsaasti kosteutta ($a_w > 0.9$). Työryhmämme on löytänyt *Chaetomium* homeen toksiineja tuottavia kantoja (Taulukko 2) työtiloista, joissa on sairastuttu poikkeuksellisen rajusti, eikä oireista toipuminen sujunut toivotusti tiloista luopumisen jälkeenkään. Suomalaisista terveyshaittaisista rakennuksista eristetyt *Chaetomium globosum* morfotyyppin kannat tuottivat vihreänä fluoresoivia metaboliitteja (Taulukko 2). Toisen *Chaetomium* sp, morfotyyppin kantojen metaboliitit olivat myrkyllisiä, mutta eivät fluoresoivia (Taulukko 2).



Kuva 18. Suomalaisesta hometalosta eristetty, toksiineja tuottava *Aspergillus versicolor* kanta fluoresenssimikroskoopissa tarkasteltuna. A. Yksinäinen konidiofoori, fluoresoi voimakkaan punaisena. B. Nuori haaroittuva sienirihma. C. Oranssina fluoresoivaa *Asp. versicolor* rihmastoa. *A.versicolor*'in sisäilmaterveyshaittaisista tiloista löydettyjen kantojen uutteen olivat toksisia ja fluoresoivat oranssina (Taulukko 2, kuva 7). *Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto. tsr112134*

Kuva 19. Sisäilmaongelmaisen rakennuksen tutkiminen on ”sisäilmapoliisin työtä”. Mikroskooppia tarvitaan jopa paikan päällä. Tässä mikroskooppikuvassa lämmöneriste (yläkuva) näyttäisi kasvavan nuijahomeita (*Aspergillus*), jotka erittävät sinne aineenvaihdunta-vesikkeleitä. IV-koneen tuloilmasuodattimesta tehty viljely (alakuva) näyttää, että siellä kasvaisi ekstroliittipisaroita tihkuvia *Chaetomium* rihmastoja. Vesikkelit voivat paine-eron vaihdella aerosolisoi-tua, pirstautua pienemmiksi ja kulkeutua sisätiloissa toimivan työntekijän hengityselimiin. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen tsr112134



Kuva 20. Mikroskooppikuvia *Chaetomium* kannoista jotka eristettiin poikkeuksellisen surullisista sisäilman myrkyttymistapauksista. Yläriivi: Myrkyllinen *C. globosum* kanta Tav37b kolonisoi yhdessä kahden muun myrkyntuottajamikrobin kanssa yliopistollisen laitoksen toimistotilaa, jossa nuori tutkija kohtalokkaasti yritti tehdä väitöskirjaansa. Alarivi: Lapsiperheen uutena ostamasta rivitalosta, jossa koko perhe sairastui, näyte otettu pikkulapsen sängystä. Epifluoresenssikuvan homerihmoissa näkyy nestepisaroita, ja SEM kuvien rihmoissa (paksuus n. 4 µm) näkyy alle 0,5 µm läpimittaisia aukkoja, joita sopisi arvailla ekstroliittinesteiden purkuaukoiksi. Valomikroskooppikuvat, Maria Andersson, pyyhkäiselektronimikroskooppikuvat (SEM) Mari Raulio. Tsr 112134

Chaetomium globosum on antanut nimensä sytokalasiiniryhmän ketoglobosiineille A, B, C. *Chaetomium globosum* homeen tuottamien sytokalasiinien raju myrkkövaikutus perustuu niiden kykyyn reagoida aktiinin kanssa ja tuhota aktiinin toimivuus. Aktiini on solunsisäinen proteiini, jonka muodostamat solujänteet määräävät solun ryhdin, muodon ja ulokkeiden ja tarttumae-linten muodostuksen ja kyvyn liikkua. Ketoglobosiinit ovat poikkeuksellisen myrkyllisiä myko-toksiineja: alle 10 mg / kg elopainoa kohden tappoi koe-eläimet (hiiri, rotta) kahdessa tunnissa (Fogle ym, 2007, ja sen lähdeviitteet). Toisin kuin useimmat homemyrkyt, ketoglobosiinit ovat kuumennusherkkiä, inaktivoituvat 1 -2 tunnin kuumennuksessa +75°C:ssä (Fogle ym 2008).

Chaetomium spp tuottamat toksiinit ovat kiliostaattisia eli ne lamauttavat henkitorvea ja keuhkoputkia puhtaanapitävien värekarvojen (kilioiden) toiminnan (Pieckova 2003). Kun kiliat eivät toimi, tästä seuraa, että sisäänhengitetyt itiöt (muutkin kuin *Chaetomiumin* itiöt) ja muut pienhiukkaset jäävät pitkäksi aikaa keuhkoihin (Amitani ym., 1995). Siittiöiden hännän (flagel-lin) pyörintäliike toimii samalla molekyylimekaniikalla kuin muiden elinten kilioiden. Kilioiden toiminta on tärkeää monissa elimissä, erityisesti immuunijärjestelmässä, verisoluissa, hermoso-luissa ja sisäerityselimissä (haiman betasolut, kilpirauhanen, lisämunuainen). Keuhkoputkissa kilioiden tehtävä on sutia limankalvoon tarttuneita hiukkasia (hengitysilman mukana tulleita) ylöspäin, kohti ruokatorvea, jonne päästyä nielaisurefleksi toimittaa hiukkaslian ruuansulatuskanaavaan. (Smith ym, 2008; Fliegauf ym. 2007). Siittiöiden ja elimistön kilioitujen solujen liikunta-kyky on mitokondriaalisesti säädelty: toksiinien aiheuttamat kalium-jonien vuodot ja/tai mito-kondrioiden kalvopotentiaalilin lasku pysäyttävät siittiön flagellin ja kilioiden toiminnan (ks luku 8.7 ja 8.8).

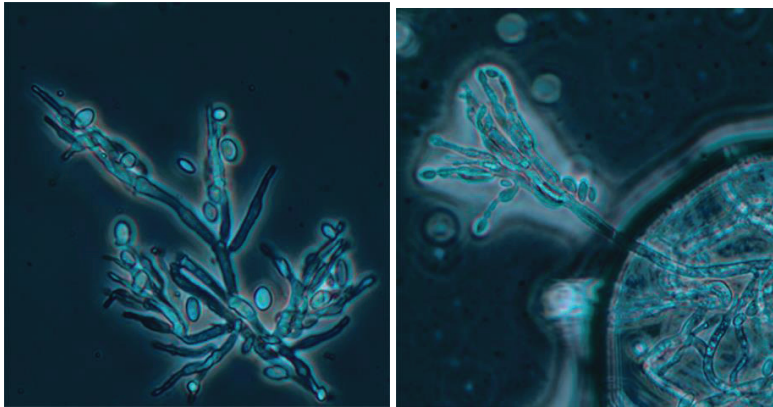
Jotkut *Chaetomium* kannat tuottavat sterigmatokystiiniä. *C. globosum* home kasvaa usein yhdessä bakteerien kanssa, jotka nekin vaativat paljon kosteutta. Tämän lajin esiintyminen on Helsingin Yliopiston EYT laitoksen tutkimusryhmälle tullut tutuksi tutkittaessa dramaattisia sisäilmasairastumistapauksia, joissa ihmiset ovat suin päin paenneet tiloista jättäen kaiken, tai jatkaneet sinnittelyä kohtalokkain seurauksin. Tanskalaisista rautakaupoista ostettujen kipsilevyjen vakio-home oli *Chaetomium globosum*: 13 tutkitusta tuotteesta 11 sisälsi kasvukykyisiä *Chaetomium globosum* itiöitä (Andersen ym, 2016).

4.5. *Paecilomyces*

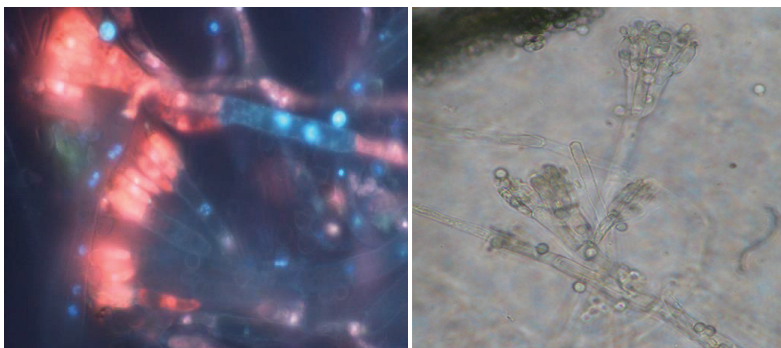
Paecilomyces variotii on katkolahosieni (Timonen & Valkonen, 2013) mutta se kasvaa myös hiivan muotoisena (kuva 21). Se suosii lämpimiä oloja, sietää jopa kuumuutta. Se tuottaa home-myrkkyä nimeltä viriditoksiini (Andersson ym., 2012). *Paecilomyces* on kilpailukykyinen niuk-karavinteisissa, kosteissa oloissa, kuten piilolinseissä, sairaalaympäristön ilmassa ja - välineissä (Houbraken ym, 2010; Caggiano ym, 2014). *Paecilomyces variotii* (synonyymi teleomorfille: *Bys-sochlamys spectabilis*) lajin on qPCR (kvantitatiivinen PCR) mittauksissa raportoitu esiintyvän runsaana suomalaisissa kosteusvaurioisissa asunnoissa, sen DNAta on raportoitu sekä pölyni-muripussin pölystä että mattopölystä (Lignell ym 2008; Kaarakainen ym 2009). *Paecilomyces variotii* on poikkeuksellisen resistentti formaldehydille, joten se saattaa suosia formaldehydi-hartseilla liimattuja levytuotteita. Se kasvaa tolueeni- tai fenolipitoisissa nesteissä (Garcia-Pena ym. 2005; Wang ym., 2010). Näitä liuoksia on Suomessa käytetty menneinä vuosikymmeninä sisätilojen desinfiointiin tartuntatauteja vastaan (mm. ”Tolu” -tuote Helsingin Kaupungin päivä-kodeissa). Desinfiointi tolueeni- ja fenolipitoisilla nesteillä on todennäköisesti suosinut *P. variotii* homeen kolonisoitumista rakennuksiin.

P. variotii kasvaa 37°C lämpötilassa. Se on opportunistinen ihmispatogeeni, aiheuttaen korvatulehduksia, leikkauskomplikaatioita silmäleikkauksissa, ja vakavia sairauksia potilaissa joilla on immuunipuutos sairaus tai sytostaattilääkitys (Houbraken ym., 2010; Barker ym., 2014; Oka ym., 2014; Kovac ym., 1998, Cohen-Abbo & Edwards, 1995, Tarkkanen ym. 2004). Se on myös elintarvikkeiden pilaaja (Reichart & Mohacsi-Farkas, 1994). *Paecilomyces variotii* lajista on kaksi erilaista toksinintuottaja- ja morfotyyppiä (ks. Taulukko 2).

Paecilomyces variotii hiivalla on kyky tuottaa hyvin monia erilaisia hiilihydraattien, hemiselluloosan ja lignoselluloosan hajottamiseen tarvittavia entsyymejä. Toisin sanoen, se on kaikkiruokainen ja lisäksi vielä resistentti monille biosideille. Mm. tästä syystä se on kiinnostanut biotekniikkateollisuutta. *Paecilomyces variotii* hiivaa käytettiin Suomessakin 1980-luvulla teolliseen rehuhiivan tuotantoon selluloosateollisuuden jäteliemistä. Tuotanto toimi, mutta on päätynyt, luultavasti tämän hiivan mykotoksiinin tuoton ja potentiaalisen ihmispatogeenisyyden takia.



Kuva 21. *Paecilomyces* hiiva mikroskoopissa nähtynä: rihmastoja (A) ja konidiofori (B). Fluoresenssimikroskooppikuvia, *Tsr112134* Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto.



Kuva 22. Toksiineja tuottava *Penicillium expansum* isolaatti vakavasti sisäilmaongelmaisesta toimitilasta. mikroskoopissa nähtynä. Vasen, epifluoresenssik kuva DNA väriaineella värjätystä rihmastosta (tummat näkyvät punaisina), oikea, vaihesiirtomikroskooppikuva. *tsr112134*, Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen

4.6. *Penicillium* eli pensselihomeet

Penicillium suku kattaa 355 validisti kuvattua lajia, joiden erottelu toisistaan ei ole helppoa, onnistuu ison asiantuntijakaartin tuottaman, hyvillä kuvilla varustetun dokumentin avulla (Visagie ym., 2014b) (Kuva 22). *Penicillium* sukua esiintyy runsaasti erilaisissa ympäristöissä, myös rakennusten sisäilmassa.

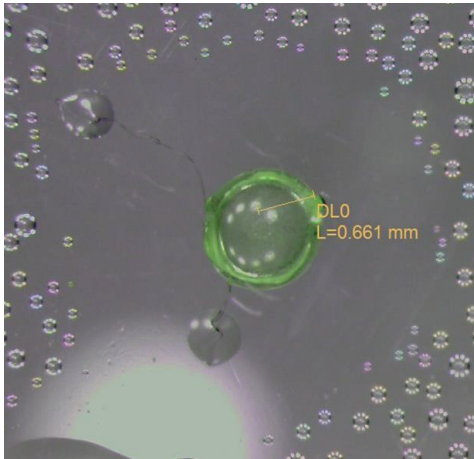
Penicillium-suku, kuten *Aspergillus*, tulee toimeen hyvin vähällä kosteudella, ja senvuoksi on yleinen suomalaisissa rakennuksissa joissa talviaikaan suhteellinen kosteus saattaa olla alle RH 20%. Sisätiloista eristetty *Penicillium expansum* tuottaa hypermyrkyllistä ketoglobosiiniC:tä (kuva 23, Andersson, Aattela, Mikkola ym., 2016), toisin kuin omenan patogeenina tunnetut kannat jotka tuottavat huomattavasti vähemmän myrkyllistä patuliinia (Andersen ym., 2004). Tämän kirjoittajan tutkijaryhmä on tutkinut kahta oppilaitosrakennusta, joiden kaikki tilat olivat *P. expansum*in kolonisoimia, lähes puhdasviljelmänä: muuta näissä rakennuksissa ei ollutkaan (Salo ym., 2015). *P. expansum*in kolonisoimia olivat myös kyseisen koulun opetustiloihin sijoitettujen ilmanpuhdistimien aktiivihiiligranulat ja suodattimet, mutta myös saman tuotemerkin aktiivihiiligranuloista, jotka tulivat suoraan tehtaalta (Kuva 24). Tässä voi olla samankaltainen tilanne kuin kipsilevyillä: biosidiresistentit sisätilapatogeenit homeet ostetaan rakennukseen suoraan tehtaalta, ja niiden kilpailukykyä ulkoilman mukana sisään tulvivia homeita vastaan pidetään yllä desinfiointikäsitteillä, jonka *P. expansum* sietää.

*P. expansum*iin tai muihin rakennusvirulentteihin *Penicillium*eihin (*P. glaucum*) ei suomalaisessa viranomaisohjeissa kiinnitetä lainkaan huomiota, ei edes supermyrkyllistä ketoglobosiini C:tä tuottaviin, sisätiloja kolonisoiviin *Penicillium expansum* kasvustoihin (kuva 25).

Penicillium expansum laji on kilpailukykyinen ympäristöissä, joissa ravinteiden saatavuus on vähäinen, ja jossa on läsnä hapettavia desinfiointiaineita (klooraus) kuten vesijohtoverkko. Se kestää hyvin veden ja saniteettitilojen desinfiointiin käytettyjä hapettimia. *Penicillium expansum* tuottaa useita erilaisia vahvoja myrkkyaaineita, ketoglobosiineja ja useita kommunesiineja, joiden vaikutuskohteena on mitokondriot ja makrofagit (Kuva 22). Sen on havaittu suosivan rakennuksia ja ilmanpuhdistimia, joihin on rakentamisen jälkeen asennettu koneellinen ilmanvaihto, ja käsitelty biosideilla. *P. expansum* näyttää kykenevän syöttämään sisäilmaan toksiinipisaroita kuin ohjuksia (Kuvat 23-25). Yhden rakennuksesta eristetyyn kannan nestemuodossa emittoima toksiinikirjo on tutkittu: kommunesiineja ja ketoglobosiineja (Salo ym., 2015, Andersson ym., 2016). Ketoglobosiinit tunnetaan myös *Chaetomium globosum* endofyyttihomeilta (= elävän kasvin solukossa kasvavan homeen), joiden toksiinien uskotaan suojelevan kasvia tuhohyönteisiltä (Li, Xiao, Gao ym., 2014).

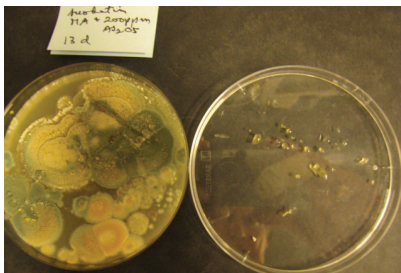
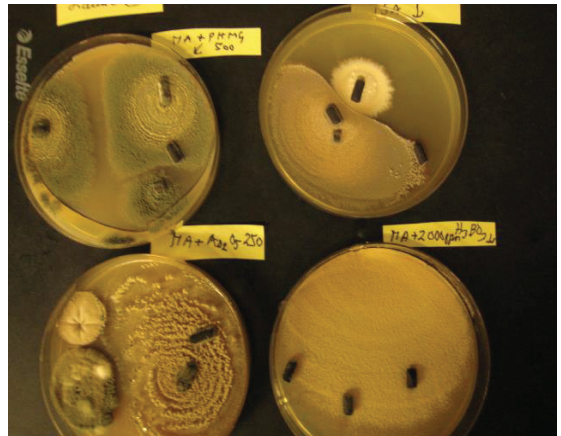
P. expansum homeen sisäilmakannasta osoitettiin samoja kommunesiini C, D, E, -toksiineja, jotka tunnetaan hyönteisille myrkyllisinä (Hayashi ym., 2004). Kirjallisuudesta *P. expansum* tunnetaan yleisimmin omenan (ja muut hedelmät) varastopatogeenina ja patuliini-toksiinin tuottajana. Se siis pilaa hedelmät sadonkorjuun jälkeen ja on tästä syystä taloudellisesti tärkeä home ja siitä sekä sen tuottamasta patuliinista on paljon julkaistua tutkimustietoa. Hedelmäsaatoja infektoivat *P. expansum* kannat tuottavat lähes aina patuliinia (Andersen ym. 2004).

Sisäilmatutkimuksissa *P. expansum* näyttää jääneen ”roskalaatikkoon” joka ilmoitetaan nimellä ”*Penicillium* sp.” Koska lajintunnistus koetaan hankalaksi, sisäilmatutkijat merkitsevät raportteihinsa ”*Penicillium* sp”. Tämä ei ole mikään laji, vaan tarkoittaa että lajia ei ole tunnistettu (sp = species, latinaa, = laji). Voimassa olevat viranomaisohjeet (STM Asumisterveysohje, 2003; TTL verkkosivusto, 2014) eivät velvoita noteeraamaan *Penicillium* sp havaintoa indikaattoriksi homevauriosta.



läpi kanteen siirtynyt ekstroliittivesikkeli sisälsi ketoglobosiini C:tä. *tsr112134*, Maria Andersson, Elisa Aattela, Raimo Mikkola ym., 2016.

Kuva 24. *Penicillium expansum* löytyy usein vakavasti sisäilmaongelmaisista työtiloista. Joskus näyttää vallanneen koko rakennuksen, kuten erään sisäilmaongelmaisen koulun, jossa jokaisen tutkitun opetustilan laskeumamaljalta löytyi *Penicillium expansum*. Sitä löytyi myös luokkatiloissa olleiden ilmanpuhdistimien kalvo- ja aktiivihiilisuodattimista, ja, kuten tässä kuvassa nähdään, *P. expansum* kasvoi myös aktiivihiilestä, avaamattomasta pussista, jota ei vielä ollut käytetty mihinkään. *P. expansum* saattaa olla ongelma myös granuloiden tuotantoprosessissa. Yllä olevista maljoista näkyy, että aktiivihiiligranuloista kasvoi *P. expansum* yhtä hyvin riippumatta siitä, oliko mallasuutemalja terästetty suurella pitoisuudella PHMG:tä, booria tai arseenipentoksidia. Kuvassa näkyy *P. expansum*ille tyypillinen korkokuvioinen kasvutapa. Mirja SalkinojaSalonen & Maria Andersson, *Tsr 112134*



Kuva 25. Sisäilmaongelmaisen luokkatilan ilmanpuhdistimen suodattimen kasvustoa mallasuute agarilla, johon oli lisätty 200 mg/l diarseenipentoksidia. Malja teipattiin umpeen näytteenottoaikalla ja avattiin 13 d myöhemmin valokuvausta ja kasvuston tutkimista varten. Maljasta näkyy mm. *P. expansum* lajin sisätalakannoille tyypillinen pesäkkeen korkokuvareunus ja kasvustojen päällä kelluvat pienet kellanruskeat pisarat. Kuvassa kansi on avattuna, ja samoja värillisiä pisaroita näkyy maljan sisäpinnalla (oikealla). Pisarat olivat nousseet viljelymaljan kannen sisäpintaan jo ennen kuin kansi avattiin. Pisaroita kerättiin talteen kapillaareilla ja havaittiin toksisiksi jopa 400 × laimennoksena. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen (*tsr112134*)

4.7. *Stachybotrys chartarum*:

4.7.1. *Historiaa*

Stachybotrys chartarum (ent. *S. atra*) tunnetaan kosteusvauriorakennuksista, joissa käyttäjät oireilevat rankasti (Samson, 2011). *S. chartarum* vaatii paljon kosteutta ja tuottaa isokokoisia, limahuntuisia itiöitä, jotka aerosolisoituvat niukasti ja laskeutuvat nopeasti. Näinollen ilmanäytteet eivät sovi stakytobrysten läsnäolon tutkimiseen.

S. chartarum aiheuttaa myrkytyksen, stakytobrytoksikoosin. Se opittiin tuntemaan 2. maailmansodan aikana Neuvostoliitossa tuhansien hevosten myrkytyksistä, jotka liittyivät homeisen oljen syöntiin. Ensimmäinen, tieteellisesti tutkittu *Stachybotrys chartarum*-homeen aiheuttama ihmisten stakytobrysmyrkytys, stakytobrytoksikoosi, oli vuosina 1993 - 4 USAn Clevelandissa. Clevelandin stakytobrysmyrkytykseen liitetyt oireet olivat dramaattiset: elimistön hemosideriinin kertyminen keuhkojen kudos- ja keuhko-rakkuloiden syöjäsoluihin (makrofageihin), verihiutaleiden tuhoutuminen, seurauksina hyytymishäiriöt, verta nenästä ja suusta, nekroosia suun alueella. Vuodelta 1994 raportoitii 37 lasta, joista 12 menehtyi, diagnoosina idiopaattinen hemosideroosi, myöhempiä tapauksia raportoitii 101, joista osa alle 1-vuotiaita lapsia (Etzel & Dearborn, 1999). Stakytobrytoksikoosiin liittyi toisinaan myös neurologisia oireita, refleksiön katoamista, kuumetta ja sydänoireita.

Clevelandin epidemian aiheutti homeiset asunnot. Kuitenkin niistä asunnoista, joissa oli vakavasti sairastuttu, *S. chartarum* pesäkkeitä löytyi sisäilmasta vain 5 tapauksessa tutkituista 9:stä, keskimäärin 44 pmy/m³). Koska *S. chartarum* – itiöiden pitoisuudet asunnoissa eivät selkeästi korreloineet sairastapauksien määriin, USAn CDC (Center for Disease Control and Prevention) esitti v. 2000 julkaistussa johtopäätöksessään, että Clevelandin ja v. 1997 Chicagon epidemian selvitysten syy-seuraus johtopäätökset eivät olisi yksiselitteisiä, vaan vaikuttaneita tekijöitä olisi ollut muitakin kuin *S. chartarum*in mykotoksiinit (CDC, 2000). Jälkiviisaudella tiedämme, että pesäkkeiden harvalukuisuus johtui siitä, *S. chartarum* itiöt ovat huonoja itämään, alle 1% itää (Miller ym., 1999), sekä siitä, että *S. chartarum*in tuottamat toksiinit eivät leviä kasvustoista sisäilmaan itiöinä, vaan nestemäisinä mikropisaroina. Toksiinipisaroiden myrkkypitoisuus on todettu monituhattkertaiseksi ilmassa liikkuvien itiöiden pitoisuuksiin (0,1 – 0,4 ng/m³) verrattuna (Gottschalk ym 2008; Gareis & Gottschalk, 2014).

USAn 1990-luvun juupas-eipästely toistuu nyky-Suomen hometalo-oikeudenkäynneissä: kun pesäkeluku on matala yritetään kiistää altistuminen, vaikka kotimainenkin auktoriteetti, Terveyden ja Hyvinvoinnin laitos (THL), on osoittanut että positiivinen viljelytulos saatiin vain 10% niistä suomalaisista rakennusnäytteistä, jotka DNA näytteiden perusteella olivat *S. chartarum* positiivisia (Pietarinen ym., 2008). THL käytti tutkimuksissa USAn Ympäristöviraston, EPAn, julkaisemia monistusaluekkeita. Viljelyt sen sijaan tehtiin virallisen suomalaisohjeen mukaan (MEA, DG18, 7 vrk pimeässä, 25°C, (Taulukko 3), joka aliarvioi rajusti todellista stakytobrys-toksiineille altistumista.

THL:n tutkimus (Pietarinen ym., 2008) siten vahvisti J. David Miller'in työryhmän tulokset eri sisätilahomeiden itiöiden itämisestä Kanadassa. Kanadalais tutkijat vertailivat *S. chartarum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Wallemia sebi* ja *Trichoderma harzianum* homeiden itiöiden kasvua eri maljoilla (MEA, maissijauho- CMA ja DG18 agar) ja totesivat, että *S. chartarum*'in itiöitä piti levittää maljalle 100 - 1000 kpl, jotta maljalle kasvaisi edes yksi pesäke (pmy). *P. aurantiogriseum*, *W. sebi* ja *T. harzianum* näkyivät viljelyssä huomattavasti paremmin: 20 - 40 maljalle levitettyä itiötä riitti tuottamaan 1 - 25 pmy:tä. Tulokset olivat samat riippumatta siitä, maljattiinko yksi homekanta kerrallaan vai kaikki neljä seoksena (Miller ym., 1999).

J. David Miller esitti (2011) julkaistussa katsauksessa, että viljelyllä saatavat numerolliset *Stachybotrys*-pesäkeluvut ovat Kanadassa käyttökeltvottomia ihmisen altistumisen tason arvioin-

tiin, mutta että viljely kannattaa silti tehdä, koska positiivinen viljelytulos paljastaa mikä ja millainen homelaji (toksiinin tuotto?) ja -kanta on kysymyksessä. Turun Yliopiston tutkijat havaitsivat suomalaisia hometalonäytteitä tutkiessaan, että kipsijauhon lisääminen (5 g /l) elatusalustaan tehosti *Stachybotrys* itiöiden itämistä ja nopeutti betoni- ja kipsinäytteillä kasvua niin, että jo 7 vrk kasvatus saattoi mahdollistaa tunnistuksen (Pessi & Rantio-Lehtimäki 2005).

*Stachybotrys chartarum*ista on löydetty useita kymmeniä trikotekeeni ja non-trikotekeeni aineenvaihduntatuotteita (Fog Nielsen, 2002). Vain osan myrkyllisyys on tutkittu. Ihmiselle myrkyllisiksi tiedetään *S. chartarum*in tuottamat ja monirenkaiset trikotekeenit, joille altistutaan hengitysteiden kautta. Lisäksi on havaittu epäsuoria toksisia vaikutuksia: eläinkokeissa on havaittu että *Stachybotrys* trikotekeeni tehosti *Salmonella typhimurium* bakteeri-infektion tappavuutta 10 000 kertaisesti (Pestka & Bondy, 1990).

4.7.2. *Stachybotrys* Suomessa

Stachybotrys chartarum esiintyy yleisenä suomalaisissa asunnoissa, joissa koetaan terveyshaittaa (Peltola 2001; Peltola ym, 2002; Pietarinen ym., 2008; Mussalo-Rauhamaa ym 2010), ja niitä on löydetty jopa sairastuneista potilaista (Mussalo-Rauhamaa ym 2010). *Stachybotryksen* draamattisen myrkyllisyyden ja huonon viljelytehokkuuden takia tämän homesienen suhteen on noudatettava nolla-toleranssia: yksikin *Stachybotrys* pesäke sisäympäristönäytteiden viljelymaljoilla on vakavasti otettava näyttö, ja edellyttää, että etsitään sen päästölähde. *Stachybotrys* on sellulolyyttinen home, ja sitä löytyy senvuoksi yleisesti kipsilevyjen lainerista (keräyskuitupaperia tai -kartonkia), joka on Suomessa yleisin *Stachybotrys*-homeen esiintymiskohde (Andersson ym, 1997; Peltola ym., 2001).

Stachybotrys chartarum kasvuston sisätilassa esiintyminen osoittaa pitkäkestoista märkyyttä. Se suosii selluloosapitoisia materiaaleja ja kiviainesta (kipsilevyt, betoni, mineraalivilla). Sen itiöt ovat suuria (~7 µm) ja limahunnun peittämiä (Kuva 26), eivät lennä, niiden kasvu ja itiöinti suomalaisen viranomaisohjeiden mukaisilla viljelymaljoilla (MEA, DG18; STM 2003) on tehotonta ja siksi niitä harvoin löydetään ilmanäytteistä. Rakennusmateriaali- ja pölynäytteistä *Stachybotrykselle* tyypilliset, suuret itiöt saattavat löytyä jo suoraan mikroskoipoimalla, ilman viljelyä.



Kuva 26. *Stachybotrys chartarum* kasvustoja suomalaisissa, vakavasti sisäilmaongelmaisessa tiloissa. Vasemmalla: Fluoresenssimikroskoopilla otettu kuva pienen lapsen sängyn päädyistä saadusta viljelytuloksesta, lapsiperheen uudessa rivitaloasunnossa. Perhe kärsi rankasta tähän asuntoon liittyneestä sairastumisesta. Keskellä ja oikealla: pyyhkäisyelektronimikroskoopilla otettuja kuvia päiväkodin sisäseinän kipsilevyn lainerin *S. chartarum* kasvustosta. Keskellä: Limahunnun peittämä *S. chartarum* konidiofoori (keskellä kuvaa). Oikealla: Kypsä, suuri konidiofoori jonka huntu on jo revennyt pois. Kuvasta näkee, että itiöt ovat suuria, 7 – 10 µm ja hyvin suojattuja.

Työkaluja *S. chartarum* homeen päästölähteen etsintään on kehitetty: 1. sekä yksirenkaisten että monirenkaisten trikotekeeni-toksiinien biosynteesireitit alkavat trikodieeni syntaasi-reaktiolla. Sitä katalysoivan entsyymin geeni, Tri5, tunnetaan, ja sille on kehitetty spesifiset alukkeet (Peltola ym., 2002). Tämän geenin läsnäoloa voi tutkia sisäympäristönäytteiden DNasta PCR-menetelmällä; 2. Tri5 geenin koodittaman entsyymin tuote, trikodieeni (Wilkins, 2000; Jelen ym 1997), on haihtuva aine, jonka läsnäoloa voi tutkia sisäilman VOC näytteestä massaspektrometrisesti. Joanna Peltola tutki väitöskirjatyössään (Peltola, 2001) 16 suomalaisen sisäilmaongelmaisen asunnon näytteistä eristettyjä *S. chartarum* kantoja ja löysi tri5-geenin 12:sta (=75%). *Stachybotrys*-positiiviset näytteet olivat kuitulevyä, kipsilevyä, kipsilevyn päällyspaperia (laineri) ja eristemateriaaleja.

SEM kuvat: Joanna Peltola & Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto. Fluoresenssikuva: tsr112134 Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen

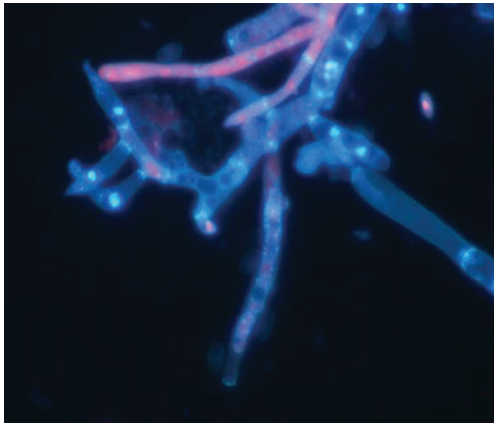
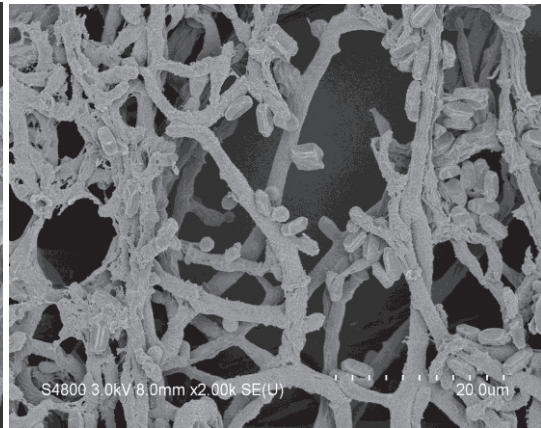
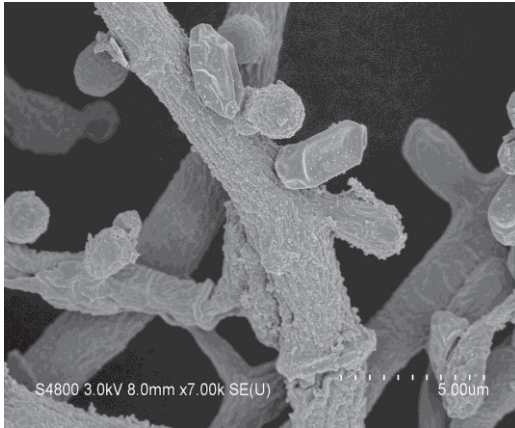
4.8. *Trichoderma* suku

Trichoderma suvun sienet *T. atroviride* ja *T. longibrachiatum* ovat yleisiä toksiinien tuottajia rakennuksissa, joissa koetaan sisäilmaan liittyviä terveyshaittoja. Trichodermat tarvitsevat melko paljon kosteutta, joten niiden runsaus ilmaisee merkittävää kosteusvauriota rakennuksessa. Useat eurooppalaiset tutkijat pitävät *T. longibrachiatum*-lajia yleisimpänä vakavien rakennuksiin liittyvien terveyshaittojen aiheuttajana (Kredics ym, 2011; Thrane ym 2001; Luebeck ym 2000) mutta Suomessa *T. atroviridae* näyttää olevan yleisempi (Taulukko 2). Trikodermat ovat tehokkaita itiöiden päästäjiä (mm. ilmastointi-kanavissa), mutta niiden itiöt itävät liian hitaasti ehtiäkseen itiöidä suomalaisten viranomais-menetelmien (STM, TTL) määrittämässä lyhyessä (1 viikko) kasvatusajassa. *Trichoderma* havaitsemiseksi kannattaa pidentää kasvuaikaa 2 -3 viikkoon.

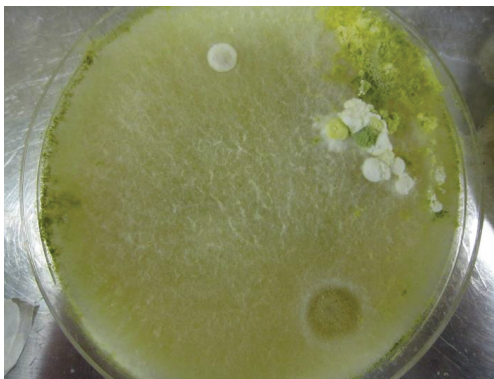
Terveiden ja Hyvinvoinnin laitos (THL) on tutkinut sekä rakennusmateriaalinäytteitä ja sisätilapölyjä rinnakkain sekä suomalaisella viranomaismenetelmällä (viljely MEA maljalla, 7 vrk) että USAn Ympäristöviraston (EPA, 2007) DNAhan perustuvalla menetelmällä (Pietarinen ym, THL, 2008). Työssä verrattiin 184 rakennusmateriaalinäytteen tulosta samojen näytteiden viljelytuloksiin. Trikodermojen suhteen tilanne oli se, että useimmista matriiseista (puu, mineraalieriste, paperi, kipsi ja yhdistelmäateriaalit) DNA menetelmällä löytyi 10 – 100 kertaa suurempi trikoderman esiintyvyys (prevalenssi) kuin viljelymenetelmällä. Toisessa THL:n julkaisemassa tutkimuksessa aineistona oli 71 kpl pölyjä eri asteisesti kosteusvaurioituksi arvioituista asunnoista. Asteikkona oli havaittujen vaurioiden lukumäärä: 0, 1, 2 tai ≥ 3 per asunto (Lignell ym 2008). Sen tulokset osoittivat, että pölyjen *Trichoderma* ryhmän DNA:n pitoisuus, kpl *T. viride*, *T. atroviride*, *T. koningii* genomeja/g pölyä, oli noin 100-kertainen kohteissa joissa löytyi ≥ 3 kosteusvauriota, verrattuna 0-vaurior ryhmän kohteisiin ja määrä nousi suhteessa vaurioituneisuuteen. Viljelyssä (viranomaismenetelmä, Taulukko 5) samojen pölyjen *Trichoderma* löydösten mediaani oli = 0 pmy /g (Lignell ym, 2008). THL:n toteuttamat laajat tutkimukset osoittivat, että nykyisellä viranomaismenetelmällä (Taulukko 3) saatu mittaus-tulos ei sovellu johtopäätösten tekemiseen trikodermojen osuudesta suomalaisista kosteusvaurio- tai homevaurioituneista rakennuksista.

DNA tekniikalla saadaan todettua trikodermojen (elävät + kuolleet) läsnäolo ja paljous. Jotta saataisiin tietoa sisätiloissa esiintyvän *Trichoderma* kasvuston mahdollisesta toksisuudesta,

tarvitaan kasvukykyisiä soluja ja/tai toksiinin määrittäminen. Toksiineja tuottamattomia *Trichoderma*-kantojakin on löydetty (Mikkola ym. 2012, Andersson ym., 2013).



Kuva 27. Ylä: Pyyhkäisy-elektroni-mikroskooppilla (SEM) otettuja kuvia kannasta *T. longibrachiatum* Thb. Kuvassa näkyy rihmasto, joka mittajanaan päätellen on 2 μm (=0,002 mm) paksuista. Alakuva: fluoresenssimikroskooppilla kuvattu elävä rihmasto on jonkin verran paksumpi, sillä elektronimikroskooppikuvausten (yläkuvat) vaatima tyhjiö kutistaa soluja. Elävän rihman sisällä olevat tumat värjäytyvät punaisiksi tässä käytetyllä DNA värillä. Mari Raulio & Maria Andersson, Mirja Salkinoja-Salonen. Tsr112134.



Kuva 28. Mykoparasiittinen *Trichoderma* sisäilmähaittaisesta rakennuksesta. Kun tutkija kerää hometalo-näytteen viljelymaljalle, teippaa maljan umpeen ja antaa avaamattomana kasvaa muutamia viikkoja, tulos näyttää usein tältä: *Trichoderma* käytti tilaisuutta ja söi samalle maljalle kasvaneet muut homeet. Keväänvihreä trikoderma itse on vetäytynyt pienelle alalle (oikeassa yläkulmassa). Valkoiset pesäkkeet (aktinobakteeri) eivät ole kelpanneet. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen tsr112134

4.8.1. Mikä trikodermoissa sairastuttaa?

T. longibrachiatumilla on ollut useita nimiä historiansa aikana, koska sienten taksonomia perustui lähes yksinomaan mikroskopiointiin. Geenisekvensoinnin vakiinnuttua sienten taksonomiassa, *T. longibrachiatum*-nimi on validi kliinisille kannoille, joita aiemmin oli julkaistu muilla nimillä, mm. *T. reesei*, *T. pseudokoningii*, *T. viride*, *T. harzianum*.

T. longibrachiatum on trikodermoista pahamaineisin, koska se kasvaa 37°C ja aiheuttaa ihmisessä fataaleja infektioita. Sen taudinaiheuttamiskyvyn selitystä eli virulenssi-tekijää on etsitty vuosikymmeniä. Tämä sama laji, jota esiintyy vakavaan terveyshaittaan liittyvissä rakennuksissa (kuvat 27, 28), myös tappoi potilaita sairaaloissa ja aiheutti elinvaurioita, eikä tiedetty miksi. Vasta-ainetutkimukset vetivät vesiperän. V. 2012 tämän kirjoittajan tutkimusryhmä selvitti ja julkaisi kahdeksan *T. longibrachiatum*-kannan toksiinien rakenteet (8 kantaa, yht. 11 kpl eri toksiineja) (Mikkola ym., 2012). Kannoista kolme oli suomalaisista hometaloista eristettyjä, kaksi oli klinisiä isolaatteja, yksi oli kaupallisen biologisen torjunta-aineen (kasvinviljelyyn) tehoaine, yksi eristetty herkkusieni tuotannosta, yksi kompostista. Kaikkien toksinit olivat hyvin samankaltaisia ja niillä oli samoja solutoksisia vaikutuksia. Rakenteeltaan ne osoittautuivat peptaiboleiksi, rasvaliukoisia peptidejä, jotka toimivat 4 – 8 peptaibolin koostena peptaibolia erilaisina kokoonpanoina kustakin homekannasta.

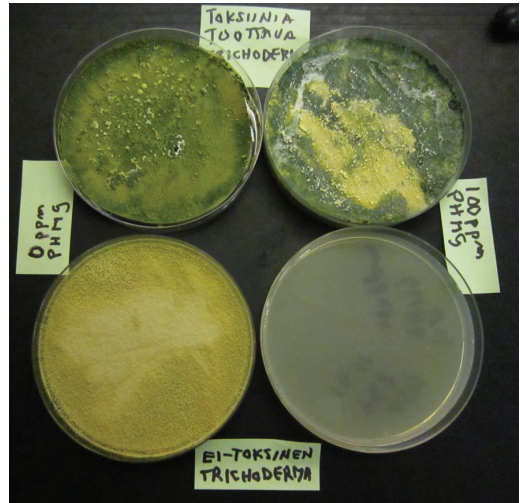
Kuvien 27, 29, 30 *Trichoderma longibrachiatum* kannat Thb ja Thd eristettiin pohjois-Suomesta, puurakenteisesta omakotitalosta, joka oli sairastuttanut vakavasti kokonaisen monilapsisen perheen. Kanta Thb on tyypillinen syöjähome eli mykoparasiitti. Monet toksiineja tuottavat *Trichoderma* kannat ovat biosidiresistenttejä. Kuvassa 29 verrataan kannan Thb itiöitä, jotka levitettiin ylärivin maljoille, saman lajin, toksinia tuottamattomaan laboratoriokantaan *Trichoderma longibrachiatum* DSM768.

Suomalaisen käytännön mukaan sisäilmaan liittyvät tutkimukset tehdään viranomaista ja kiinteistönomistajaa varten viljelytekniikalla, ja viljelyaika on lyhyt, 7 vrk. Tässä ajassa trikoderma-itiöt harvoin ehtivät itää ja kasvaa tunnistettaviksi pesäkkeiksi (=itiöidä). Lisävaikeuden trikodermojen jäljittämiseksi rakennuksesta aiheuttaa niiden mykoparasiittisyys: ne syövät muita homeita, eli hakeutuvat materiaalirakenteisiin, joissa jo on kasvanut muita homeita. Hankkeen tsr112134 tekijäryhmä on havainnut trikodermojen esiintyvän mm. ilmanvaihdon poistoilmakoneen suodattimissa, jonne niitä ilmeisesti tulee rakennuksen IV kanavistosta. IV-laitteistossa on siis trikodermoille ravinnoksi kelpaavaa homekasvustoa – mutta missä –, kanavistossa tai jossain matkan varrella olevissa rakenteissa.

4.8.2. Trikoderman toksinit muodostavat jonikanavia

T. longibrachiatum'in toksiinien rakenne ja myrkyllisyysmekanismi saatiin ensi kerran selvitettyä v. 2012 julkaistussa Helsingin Yliopiston tutkijoiden työssä (Mikkola ym. 2012). USAn terveysvirasto (NIH) ja ympäristöterveysvirasto (NIEHS) pitivät tätä niin merkittävänä läpimurtona, että omistivat sille tiedesarjansa (Environmental Health Perspectives) pääkirjoituksen helmikuun 2013 ensimmäisessä numerossa (Weinhold, 2013). Tämä sienilaji tuottaa samoja toksisia molekyylejä sienikannan alkulähteestä riippumatta: hometaloista, potilaista, maaperästä ja kompostista. Sitä on löydetty ympäri maapalloa, jopa etelämantereelta. Toksiini koostuu kahdesta eri perheestä lähisukuisia molekyylejä, triloniineja. Sian siittiötestin herkkyys jonikanavatoksiineille oli oleellinen työkalu joka mahdollisti näiden toksiinien puhdas-aineeksi eristämisen (Mikkola ym., 2012).

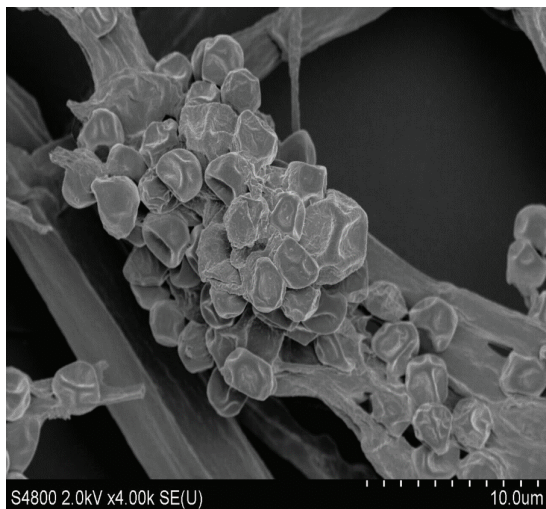
Kuva 29. Toksiinia tuottava kanta *Trichoderma longibrachiatum* Thd siirrostettiin yläriivin maljoille, ja saman lajin toksiineja tuottamaton kanta DSM768 alarivin maljoille. Oikeanpuoliset maljat oli terästetty homeen-estoina PHMG, 100 mg/l. Maljat teipattiin umpeen, avattiin ja valokuvattiin 2 viikkoa myöhemmin. Kuvasta nähdään, että PHMG:n läsnäolo ei häirinnyt yläriivin kasvustoja (=toksiinia tuottavia), vaan päinvastoin: trikodermat ovat heränneet itiöimään (näkyvää vaaleana maljan keskellä, yläriivi, oikealla). Itiöinti oli PHMG:n läsnä ollessa nopeammin kuin ilman sitä. Sensijaan toksiinia tuottamattoman kannan (DSM768, alarivi) kasvun sama pitoisuus PHMG:tä esti kokonaan. PHMG (polyheksametyleni guanidi kloridi) oli v. 2014 saakka Suomessa yleisesti käytetty homeenestobiosidi, sitä levitettiin myös IV-kanaviin. Tsr112134 Mirja Salkinoja-Salonen & Maria Andersson



135 toksista hometalo isolaattia tutkittuamme *Trichoderma atroviride* näyttäisi olevan Suomessa yleisin toksinen trikoderma rakennuksissa, joissa koetaan vakavaa, sisätilaan liittyvää terveyshaittaa (Taulukko 2). *T. atroviridae* ei luultavasti infektoi ihmistä, koska se kasvaa huonosti 37° lämmössä. Sekä *T. atroviride* että *T. longibrachiatum* (kuvat 30, 31 ja 32) tuottavat peptaiboli toksiineja, jotka muodostavat lämminveristen soluihin kalium- ja natrium joneja läpäiseviä kanavia. Peptaibolit ovat rasvaliukoisia, iso-aminovoihappoa (Aib) sisältäviä peptidejä (kuva 32). Niiden molekyyliarakenteen perusteella on odotettavissa, että ne voivat imeytyä elimistöön suoraan hengitysilma- tai hajuhermoon ja sieltä edelleen aivoihin hajukäämiin, tai keuhkojen kautta verenkiertoon tai ihon läpi. *T. atroviride* homeen kanavatoksiini trikortsianiini AIIIC:n aminohapposekvenssi on kuvassa 32.



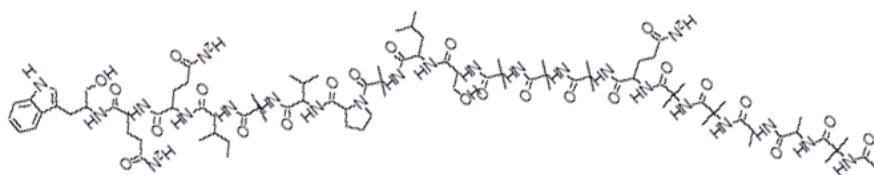
Kuva 30. ”Nuoruuden kuva” kannasta *T. longibrachiatum* Thb. 3 vrk ikäinen kasvusto on levittäytynyt mallas-agar-maljalle. Kuvasta näkyy miten sen rihmastot työntyvät siirrostuspaikasta (nuoli) yli maljan – saalista hakien? Mirja Salkinoja-Salonen & Maria Andersson. tsr112134



Kuva 31. *Trichoderma* osaavat ryömiä pinoilla (kuvat 26, 28) mutta pääasiallinen leviämisreitti lieene lentoitiöt. Kuvassa on rykelmä *T. longibrachiatum* kannan itiöitä, 2 – 3 µm, eli hyvin pieniä, ja niinollen leviävät helposti ilmavirtojen muknana .. *Mari Raulio & Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen* *tsr112134*

Aibtä esiintyy peptaibolin ketjumolekyylissä säännöllisin välimatkoin, niin peptidi ottaa spontaanisti ruuvikierteen muodon. Peptaibolit ovat hydrofobisia (rasvahakuisia), niissä ei ole terminaalista karboksyyliä kuten ”normaaleissa” peptideissä on. Tarvitaan 4 -8 peptaiboli-molekyylä muodostamaan kaliumia ja natriumia läpäisevä kanava lipidikalvoon (solukalvoon). *Trichoderma longibrachiatum* Thb tuotti yht. 11 aminohapon (3 kpl AiB) ja 20 (8 kpl AiB) aminohapon pituisia peptaiboleja. Niiden N-terminaaliset päät on ”lukittu” asetyyliryhmällä ja C-terminaalisessa päässä ei ole aminohappoa, vaan aminoalkoholi (Mikkola ym., 2012).

T. atroviridae ja myös harvinaisempi *T. harzianum* tuottavat kalvojännitteestä riippuvien, kaliumjoneja (tai natrium-kalium) läpäiseviä jonikanavia muodostavia peptaiboli-toksiineja, trikortsianiineja ja hartsianiineja (Molle ym., 1987; Peltola ym., 2001, 2004), mutta vain *Trichoderma longibrachiatum* laji kasvaa 37°C lämmössä ja kykenee myrkyttämisen lisäksi infektoimaan ihmistä. Yleensä kyse on huonokuntoisesta tai immuunipuutteisesta potilaasta. *T. longibrachiatum* tuottaa samoja toksisia molekyylejä kannan alkulähteestä riippumatta: hometaloista, potilaista, maaperästä ja kompostista. Sitä on löydetty ympäri maapalloa, jopa etelämantereelta. Sisäilmahaittojen lisäksi se kasvaa ihmisen elimistössä aiheuttaen vakavia (harvinaisia) systeemisiä infektioita.



AceAib-Ala-Ala-Aib-Aib-Gln-Aib-Aib-Aib-Ser-Leu-Aib-Pro-Val-Aib-Ile-Gln-Gln-TrpOH

Trichorhizin A IIc

Trichoderma atroviride

Kuva 32. *Trichoderma atroviride* sisätiloista eristetyn kannan tuottaman peptaibolitoksiinin, trikortsianiinin, rakenne. *tsr112134 Raimo Mikkola, Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen*

4.9 *Mycelia sterilia* – mikä ihmeen homelaji?

Kun homeitiö itää, se tuottaa aluksi valkoista tai harmaata rihmastoa, jota ei voi tunnistaa edes sukutasolle. Sisäilman mikrobimittausraporteissa sellaisia keskenkasvuisia rihmastoja kutsutaan nimellä ”*Mycelia sterilia*”, tai ”steriilit”. Se voi siis olla mitä tahansa lajia tai sukua. Homeen tunnistaminen edellyttää mikroskopointia itiöitä tuottavasta kasvustosta. Lajituntomerkkeinä on konidiofoorien ja itiöiden muodot ja kasvutavat. Mikroskooppisesti tärkeitä tuntomerkkejä ovat väri sekä kuroman kannattimien (konidiofoorien) ja itiöiden muotorikkaus.

Jos sisäilmaraportissa merkittävä osuus on ”steriilejä”, se tarkoittaa, joko, että 1. rihmastossa ei (vielä) näkynyt itiöitä tai konidiofooreja; tai, 2. sitä ei ole tunnistettu homeeksi; tai 3. sitä ei ole mikroskopoitu. Se, että homepesäkkeessä ei näy itiöitymisen tunnusmerkkejä, voi johtua monesta eri syystä: 1) liian lyhyt kasvatusaika; monet sienet, esim. *Trichoderma* lajit, tarvitsevat 3 - 4 viikkoa vrk itiöityäkseen jos viljelyalustana on TSA (kasvavat nopeammin, jos maljalla on muita homeita joita ne voivat käyttää ravinnoksi), 2) viljelyalustan laatu on sellainen että se ei suosi k.o. sienien itiöintiä; 3) viljelymalja on kuivahtanut ennen käyttöä. Jos agar malja on valettu ohueksi (< 30 ml Ø 90 mm), niin se kuivuu liikaa jo 1 -2 vrk aikana huoneenlämmössä silloin kun sisäilman kosteus (RH %) on matala (RH <30%), niin kuin se Suomessa on, suuren osan vuotta. Kuivaneella agarilla itiöiden kostuminen sujuu hitaasti. Nämä tai jotkin muut seikat selittävät sen, että monissa sisäilman mikrobimittaus-raporteissa ”*Mycelia sterilia*” tai ”steriilit” on jopa yleisin ”laji”, 70 - 100% kaikista pesäkkeistä. Sellaisilla tuloksilla ei ole käyttöarvoa.

4.10 Suomalaisista sisäilmaongelmaisista rakennuksista löydettyjä mykotoksisia homeita ja niiden toksiinit

Suomalaisista, käyttäjän/jien vakavaan terveyshaittaan liittyneistä rakennuksista toistuvasti eristettyjen homeiden (Taulukko 2) tunnistetut toksiinit on koottu Taulukkoon 8. Aineisto on kooste kirjoittajan tutkimusryhmän eristämistä, tunnistamista ja vaikutusmekanismien selvittämistyöstä pitkällä aikavälillä. Osa, mutta ei kaikkia, tuloksista on jo julkaistu kansainvälisillä foorumeilla (julkaisut mainittu viimeisessä sarakkeessa oikealla).

Toksisuuden mittaaminen oli oleellinen työkalu homeiden tunnistamisessa mykotoksiksiksi, ja ekstroliittisten metaboliittien puhdistus- ja karakterointityössä. Taulukossa on mainittu, mikä nisäkässolutyyppi toimi kunkin toksiinin indikaattorina (= solu vammautui mitattavissa olevalla tavalla) siten että toksisuutta pystyi käyttämään indikaattorina mykotoksiinien eristämisen ja puhdistamisvaiheissa.

Suomalaisista, vakavasti terveyshaittaisista rakennuksista eristettyjen mykotoksiineja tuottavien homeiden kirjo, tässä aineistossa (18 rakennusta eri puolilta Suomea, 132 isolaattia), fylogeneettisesti kapea ryhmä: *Acremonium exuviarum*, *Acrostalagmus luteoalbus*, *Aspergillus calidoustus*, *A. versicolor*, *A. westerdijkiae*, *Chaetomium globosum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium expansum*, *Stachybotrys chartarum*, *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, , yht. 12 lajia, lisäksi usein esiintyi *Penicillium chrysogenum*, mutta sen tuottama (meleagrini) ei ollut erityisen myrkyllistä ainakaan käyttämässämme solupanelissa (4 solutyyppiä, n. 20 erilaista end-pointtia). Toksiinityyppejä oli yhtä paljon kuin solutyyppiä. Mielenkiintoisimpia olivat peptaibolitoksiinit – niitä ei muissa tutkimusryhmissä ole – sisäilmaan liittyen - tutkittu eikä selvitetty niiden toksisuusmekanismeja. Ne ovat melko suuria molekyylejä (1000 – 2000 g/mol) ja niiden toksinen vaikutus perustuu siihen, että useita molekyylejä koordinoitusti ”kairautuu” lämmiminverisen solun solukalvoon siten, että syntyy uusi, patologinen jonkanava. Niiden liik-

Taulukko 8. Suomalaisista sisätiloista eristetyistä mikrobeista eristettyjen toksinien toksisuusmekanismit.

Sisätilamikrobi ja siitä eristetty toksini		Kemiallinen rakenne, moolipaino g/mol	Todettu toksinen vaikutus	Solut /soluelimet joilla toksisuus todettu	Altistuspotisuus EC ₅₀ tai IC ₅₀	Lähdeviite
Home ja sen toksiniit						
<i>Acremonium exuviarum</i>	akreboli A	peptaiboli, 1726	mitokondrion soluhengitys ketjun (kompleksi III) estäjä	sian siittiöt, rotan maksan mitokondriot, kissan keuhkosolut FFL, hiiren neuroblastoma MINA, hiiren haiman beta-solut, MIN-6	IC ₅₀ 0.08 (50 nM)	Andersson ym, 2009; Kruglov ym, 2009
<i>Acremonium exuviarum</i>	akreboli B	peptaiboli, 1740	kuten yllä	kuten yllä	kuten yllä	Andersson ym., 2009; Kruglov ym., 2009
<i>Acrostagmus luteolibus</i>	melinasidiiniit II, III, IV	C ₃₀ H ₂₈ N ₆ O ₈ S ₄₋₅ m/z 729.09076 (4S) m/z 761.06274 (5S) [M+H] ⁺	Estää NADH:n rakennosan, nikotiinihapon, biosynteesin; antibioottinen multiresistenteille bakteereille (MRSA, <i>Enterococcus faecium</i>)	(hyvin toksinen hiirelle: 2 – 3 mg/kg)	8 (PK15)	Mikkola & Salo, 2014; Reusser 1968;Ebead ym, 2012
<i>Aspergillus calidoustus</i>	ofioboliiniit A, K, H	sesterterpeeni	inhiboi glutaminergistä neurotransmissiota, häiriköi kalsium kanavia solukalvossa; kalmoduliini-antagonisti, tappaa <i>Mucor</i> homeen (myrkytön)	sian siittiöt, PK-15	15 (PK-15)	Ando ym 2013, Krizsan ym, 2010, Salo, 2014; Bencsik O., 2014
<i>Aspergillus versicolor</i>	sterigmato-kystiini	ksantoni-bifuraani, 324	estää DNA synteesin, solujen jakautumisen, tuhoaa keuhkoputkien epiteelisoluja, liittyy astmaan	sian siittiöt, sian munuaisten epiteelisolut (PK-15)	25 (siittiöt) <0.1 (PK-15)	Andersson ym., 2012
<i>Aspergillus westerdijkiae</i>	stefasiidiini B, okratoksiini A	indoli alkaloidi, 890	immobilisoi siittiöt mitokondrioita depolarisoimatta, käynnistää apoptoosin	sian siittiöt, sian munuaisten epiteelisolut PK-15	0,3 (siittiöt) 0,3 (PK-15)	Andersson ym., 2013; Mikkola ym., 2015
<i>Chaetomium globosum</i>	ketoglobosiiniit	alkaloideja	sytotoksiset ketoglobosiiniit vaikuttavat kuten sytokalasiini solurankaan estäen mm verisuonten kasvua	sian siittiöt, sian munuaisten epiteelisolut PK-15	35 (siittiöt) 40 (PK-15)	Salo ym., 2014; McMullin ym., 2013, Zheng ym 2014
<i>Paecilomyces variotii</i>	viridi-toksiini	6,6-binafto-pyraani-2-oni, 662	mitokondriotoksiini (estää ATP synteesin)	sian siittiöt, sian munuaisten epiteelisolut PK-15	<0,2 (siittiöt) >200 (PK-15)	Andersson ym., 2012
<i>Penicillium expansum</i>	sitriniini, komunesiini A, B chaetoglobosiini	dihydrohydroksitri-metyyliokso-karboksibentso-pyraani, 250	mahd. mitokondriotoksiini, kompleksi I:n estäjä	sian siittiöt, sian munuaisten epiteelisolut PK-15	≥40 (siittiöt) 16 (PK-15)	Andersson ym., 2012
<i>Stachybotrys chartarum</i>	satratoksiiniit G,H	trikotekeeni	puhdasaine	sian siittiöt, kissan keuhkosolut FFL	5 (siittiöt); 0.0009 (FFL)	Andersson ym., 2001; Andersson ym., 1997
<i>Stachybotrys chartarum</i>	roridiini A	trikotekeeni	puhdasaine, immuunireaktiivinen	sian siittiöt, kissan keuhkosolut FFL, ihmisen makrofagit	>1 (siittiöt), 0.0007 (FFL)	Andersson ym., 1997; Peltola ym., 20028,45

Sisätalämikrobi ja siitä eristetty toksini		Kemiallinen rakenne, moolipaino g/mol	Todettu toksinen vaikutus	Solut /soluelimet joilla toksisuus todettu	Altistuspitoisuus EC ₅₀ tai IC ₅₀ µg/ml tai nM	Lähdeviite
Home ja sen toksiniit						
<i>Stachybotrys chartarum</i>	tuntematon	tuntematon	kipsilevy uute vaurioituneesta sisätalasta, mikroskooppilla tunnistettu <i>S. chartarum</i>	sian siittiöt, kissan keuhkosolut FFL	0.29 (siittiö) 1.5 (FFL)	Andersson ym., 1977; Peltola ym, 2002
<i>Stachybotrys sp</i>	tuntematon	<i>tri5</i> -geeni puuttuu	2/9 kantaa esti siittiöiden liikettä	sian siittiöt, mitokondrioiden ha-joaminen (elektronimikros-kopia)	<40 (raakauute)	Andersson ym., 1998
<i>Trichoderma atroviride</i>	trikortsianiini	peptaiboli 1948 (AIIc)	tekee jonikanavia solukalvoihin	sian siittiöt, sian munuaissolut PK15	0,5 (siittiö); 5 (PK-15)	Andersson ym., 2012; Molle ym 1987
<i>Trichoderma harzianum</i>	peptaibolit ES 39	1719 – 1776	mitokondriotoksisia	sian siittiöt, ihmisen keuhkon epiteelisolulinja A549	< 10	Peltola ym., 2004
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	trilongiinit 2 perhettä	trilongiinit 1195 ja 1936 – 1965	muodostaa soluihin natriumia ja kaliumia läpäiseviä nanokanavia, mitokondriotoksinen	sian siittiöt	0,2 (yhdistelmä-peptaiboli) 0,6 tai 1,5 (yhdeliä)	Mikkola ym., 2012
Bakteeri ja sen toksiniit						
<i>Streptomyces griseus</i>	valinomysiini	syklinen peptidi 1111	mitokondriotoksinen, kalium jonofoori, estää NK-solujen toimintaa, käynnistää NK-solujen apoptoosin	pysäyttää siittiöiden liikkeen (sian siittiöt), lamauttaa sytokiiniuuton ihmisen NK (natural killer) soluissa	0,002 (siittiöt), 0,03 (NK solut)	Paananen ym., 2005; Teplova ym, 2006; Paananen ym, 2000; ym.17,19,y m., 2003
<i>Bacillus amylo-liquefaciens B. subtilis</i>	amylosiini	lineaarinen peptidi, 1197	muodostaa jonikanavia	sian siittiöt, rotan maksan mitokondriot, kissan keuhkosolut, ihmisen makrofagit	27 nM	Mikkola ym., 2004; Mikkola ym., 2007; Salkinoja-Salonen ym., 2011, Rasimus-Sahari ym., 2015.
<i>Bacillus cereus</i>	kereulidi homo-kereulidi	syklinen peptidi 1153	mitokondriotoksinen, kalium jonofoori, kuljettaa kalium joneja soluun sisään ja/ tai solusta ulos	Sian siittiöt, haiman saarekkeet. Rotan maksan mitokondriot. Kissan keuhkosolut. Hiiren: neuroblastoma, haiman betasolut. Ihmisen: keratinosyytit, veren PBMC, hermosolut (Paju); Caco2	EC ₅₀ 0.001 –0.01 (1 – 10 nM) mitokondriot, >1 sytolyysi haiman betasolut <0.01	Ekman ym, 2012; Andersson ym, 2007; Hoornstra ym., 2003; 2013
<i>Paenibacillus tundrae</i>	paenilidi homopaenilidi (tutkittu toistaiseksi vilja-isolaattista)	syklinen peptidi, 1153	depolarisoi mitokondriot; pysäyttää siittiöiden liikkeen; kalium jonofoori, aiheuttaa metabolisen asidoosin sian munuaistubuluksen epiteelisoluissa	Sian siittiöt, hiiren neuroblastoma solut, sian munuaistubuluksen epiteelisolut PK-15	EC ₅₀ 0,4 -1,6 ng/ml siittiöillä, sytolyysin MNA ja EC ₅₀ 16 ng/ml PK-15 soluilla 1	Rasimus ym, 2012; Rasimus-Sahari, 2015
<i>Paenibacillus sp</i>	fusarisidiini	syklinen lipopeptidi	antifungaalinen, hemolytyinen	sian siittiöt		Mikkola ym, 2014; Bionda ym 2013

kuvuus sisäilmassa on vielä arvailun varassa, mutta oletamme, että sisätiloissa käytetyillä kemikaaleilla, siivousaineiden dispergantit ja kostutinaaineet (wetting agents), on rooli nanoaerosolin muodostuksessa.

5. SISÄYMPÄRISTÖÄ PILAAVIA JA SUOJELEVIA BAKTEEREJA

5.1. Antagonismin merkitys sisätilojen mikrobiomissa

Yleissääntö on, että bakteerien läsnäolo sisätilojen pinnoilla, samoin kuten myös ihmisen ”pinnoilla” (iho, limakalvot) toimii homeiden kolonisoitumista ehkäisevänä puskurina. Jos ihminen käyttää jatkuvasti tai pitkä vaikutteisia desinfiointi aineita ihon ”hoitoon”, niin seurauksena usein on sieni infektio. Samasta syystä bakteerien häätäminen sisäilmaongelmaisesta rakennuksesta biosidisilla desinfointiaineilla voi johtaa mm. *Chaetomium* ja *Aspergillus* homeiden invaasioon ja toksiinin tuottoon (Andersson ym., 2014).

Suomalaisten sisäilmaongelmaisten tilojen bakteereja ja niiden tuottamia toksiineja on koottu Taulukkoon 9. Kaikki tähän mennessä löytyneet toksinintuottaja-bakteerit sisätiloissa ovat itiöllisiä firmikuutteja (*Bacillus*, *Paenibacillus*) tai itiöllisiä aktinobakteereja (*Streptomyces griseus*, *S. anulatus*) tai itiöttömiä aktinobakteereja, *Nocardiosis*, *Williamsia*, *Mycobacterium*.

Sisätiloissa ilma on Suomessa yleensä kuivaa, varsinkin talvella (RH <30%) josta syystä sisätiloja dominoivat gram positiivit bakteerit, etenkin itiöllisten bakteerien pääluokat, Firmikuutit ja Aktinobakteerit (osa aktinobakteereista on itiöllisiä). Niitä esiintyy runsaana ulkoilmassa, ja myös sisäilmassa etenkin perinteisessä maatalaympäristössä, $10^3 - 10^6$ pmy/m³, ilman että siihen liittyy terveyshaittoja. Gramnegatiivien bakteerien joukostaakin löytyy lajeja jotka sietävät kuivuudesta (Andersson ym, 1997, 1999; Salkinoja-Salonen ym 1999). *Streptomyces* suvun aktinobakteerit ovat yleisiä maaperässä mutta sen verran harvinaisia suomalaisessa sisäilmassa, että sisäilmassa esiintyvänä ne katsotaan kosteusvaurio-indikaattoreiksi (STM, Asumisterveysohje 2005).

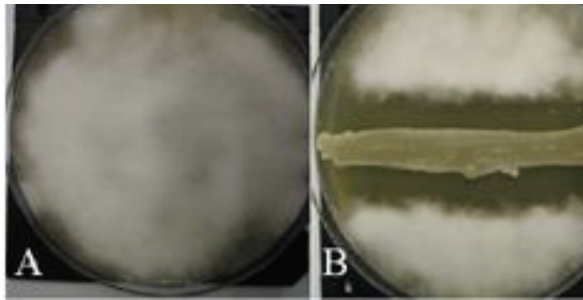
5.2. *Bacillus* ja *Paenibacillus*

Nämä ovat itiöllisiä bakteerisukuja, Firmikuuttien pääluokasta. Niiden itiöt kestävät keittämisen, happamuutta, emäksisyyttä, desinfointiaineita. Niiden kasvulämpötila-alue on laaja, jotkut lajit kasvavat kylmässäkin (< 6° C), toiset suosivat korkeita lämpötiloja 50° C (”*Thermoactinomyces*”). Firmikuuttien itiöt kestävät kemikaaleja ja kuumennusta lähes rajattomasti (useita tunteja +95° C). Eräiden lajien jotkut kannat voivat tuottaa ihmiselle haitallisia toksiineja: *Bacillus cereus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *Paenibacillus* sp. Nämä tuottavat toksisia, lämpökestoisia peptidejä (Mikkola ym., 2004, Mikkola, 2006; Suominen ym 2001, Rasimus ym. 2012). Ne kasvavat jopa 7% ruokasuolan vesiliuoksessa (NaCl), mikä todistaa niiden sietävän kuivuutta eli alhaista veden aktiivisuutta (0.96; Peltola, 2001).

B. cereus ja *B. amyloliquefaciens* (Kuvat 33 ja 34) esiintyvät sisätiloissa usein sisäilmahomeiden kanssa (Andersson ym. 1997, 1999, 2005). *B. amyloliquefaciens* ja *B. mojavensis* tuottavat bakteereja antagonoivia ekstroliittejä ja ihmiselle myrkyllisiä peptiditoksiineja, jotka muodostavat kaliumselektiivisiä kanavia (Mikkola ym 2004, Mikkola ym 2006, Rasimus-Sahari ym., 2015; Apetroaie-Constantin ym., 2009; Salkinoja-Salonen ym., 2011; Rasimus-Sahari ym, 2014). *Bacillus amyloliquefaciens* tuottaa amylosiiniksi nimettyä peptiditoksiinia, joka on toksinen ihmisen luontaisen immuunijärjestelmän soluille, makrofageille. Jo 50 ng (0,00000005 g) amylosiinia/ml aiheuttaa ihmisen makrofageissa inflammasomin aktivoitumisen, josta seuraa tulehdusreaktion käynnistävien sytokiinien IL-1beta ja IL-18, purkautuminen kudoksiin ja verenkiertoon (Rasi-

mus-Sahari ym. 2015). Nämä sytokiinit mm. käynnistävät elimistön puolustusreaktioita, mm. kuumeilun, jota tapahtuu joissakin saastuneissa tiloissa altistumisen seurauksena.

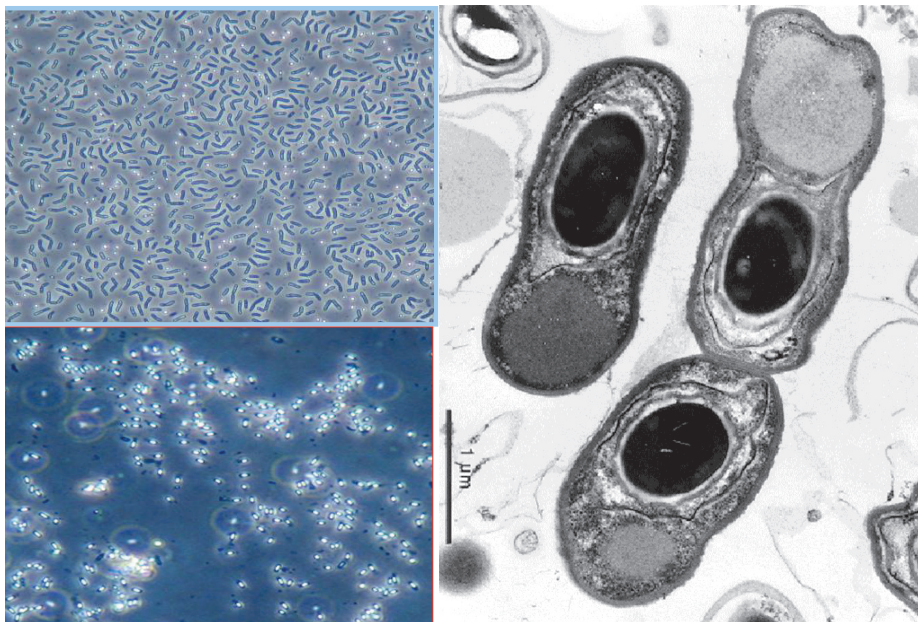
Bacillus ja *Paenibacillus* lajien itiöt kestävät desinfiointi kemikaaleja ja antibakteerisia siivousaineita. Muiden bakteerien hävittäminen desinfiointeilla antaa reviiriedun näiden sukujen lajeille. Lisäksi nämä itiölliset ryhmät menestyvät rakennusmateriaaleissa, joissa kalium on minimiravinne. Tämä johtuu siitä että ne erittävät ympäristöönsä kereulidi /penilidi-nimisiä rengaspeptidejä, syklo(O-val-L-Val-D-O-Leu-D-Ala)₃ jotka mahdollistavat kalium ionien sitomisen hyvin matalista pitoisuuksista (Kuva 33 ja 36). Kaliumia sitovien peptidiensä avulla nämä bakteerit pystyvät keräämään kaliumia kaliumköyhästä ympäristöstä (<0,2 mM K⁺) (Jaakko Ekman, 2011, Ekman ym. 2012; Rasimus ym. 2012). On mahdollista että homeet hyödyntävät näitä, *Bacillus* ja *Paenibacillus* bakteerien tuottamia kaliumia sitovia, aineita omaan ravitsemukseensa kaliumköyhässä ympäristössä kuten rakennusten vaippa ja sisätilat (Andersson ym., 2014; Mikkola ym 2004, Mikkola ym 2006, Rasimus-Sahari ym., 2015, Ekman ym., 2012; Rasimus-Sahari 2016).



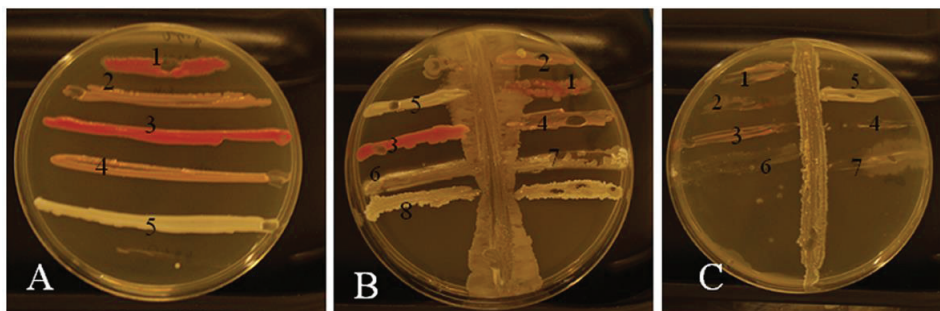
Kuva 33. *B. amyloliquefaciens* hometalokanta 19b joka tuottaa ihmiselle hyvin myrkyllistä amyloosinia. Se on myös homeantagonisti: se estä TSA maljalle siirrostetun, homeen *Chaetomium globosum*, MTav35, rihmaston kasvua, ja itiöiden itämistä. MTav35 oli eristetty vakavasti sisäilmahaittaisesta opetus- ja toimistotyötilasta. A. *Chaetomium globosum* on saanut kasvaa TSA maljalla 10d, 20-22°. Paneli B näyttää mitä tapahtui, kun *Chaetomium globosum* MTAV 37 kannan kasvuston päälle vedettiin viiva *B. amyloliquefaciens* 19b – kantaa: *Chaetomium* kasvusto perääntyi kauas (1,2 cm, molemmin puolin), kannan *B. amyloliquefaciens* siirrosviivasta. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen. (Rasimus-Sahari ym. 2015, Rasimus-Sahari 2016) tsr112134.

Taulukko 9. Suomalaisista terveyshaittaista sisältäloista eristettyjen bakteerien tuottamia toksineja

Bakteerilaji ja sen tuottama Toksiini		Toksiinin kemiallinen rakenne g/mol	Vaikutusmekanismi	Solut, ja käytetyt end-poinnit	EC₅₀	Lähdeviite
<i>Streptomyces griseus</i>	valinomysiini	syklinen peptidi 1111	mitokondriotoksinen, kalium jonofoori, estää NK-solujen toimintaa, käynnistää NK-solujen apoptoosin	pysäyttää siittiöiden liikkeen (sian siittiöt), lamauttaa sytokiinituoton ihmisen NK (natural killer) soluissa	0,002 (siittiöt), 0,03 (NK solut)	Paananen ym., 2005; Teplova ym, 2006; Paananen ym, 2000; ym.17,19, ym., 2003
<i>Bacillus amylo-liquefaciens</i> <i>B. subtilis</i>	amylosiini	lineaarinen peptidi, 1197	muodostaa kalium joneja läpäiseviä jonikanavia	sian siittiöt, rotan mak-san mitokondriot, kissan keuhkosolut, ihmisen makrofagit	27 nM	Mikkola ym., 2004; Mikkola ym., 2007; Salkinoja-Salonen ym., 2011, Rasimus-Sahari ym., 2015.
<i>Bacillus cereus</i>	kereulidi homo-kereulidi	syklinen peptidi 1153	mitokondriotoksinen, kalium jonofoori, kuljettaa kalium joneja soluun sisään ja/tai solusta ulos	Sian siittiöt, haiman saarekkeet. Rotan maksan mitokondriot. Kissan keuhkosolut. Hiiren: neuroblas-toma, haiman betasolut. Ihmisen: keratinosyytit, veren PBMC,hermosolut (Paju); Caco2	EC ₅₀ 0,001 –0.01 (1 – 10 nM) mitokondriot, >1 sytolyyssi haiman betasolut <0.01	Ekman ym, 2012; Andersson ym, 2007; Hoornstra ym., 2003; 2013
<i>Paenibacillus tundrae</i>	paenilidi homopaenilidi	syklisiä peptidejä, 1152, 1161	kuten kereulidi	Sian munuaissolut PK15, siittiöt	kuten kereulidi	Rasimus ym, 2012
<i>Paenibacillus sp</i>	fusarisidiini	syklinen lipopeptidi	antifungaalinen, hemolyyttinen	sian siittiöt, rotan maksan mitokondriot		Mikkola ym, 2014; Bionda ym 2013



Kuva 34. Valomikroskooppikuvat kasvullisista (yläpaneli) ja itiöityneestä (alapaneli), kereulidia tuottavasta *Bacillus cereus* bakteerista. Tämä kanta eristettiin yhdessä kolmen muun toksiineja tuottavan mikrobin yhdyskunnasta sisätilasta, jossa koettiin vakava terveyshaitta. *B. cereus* on 4 – 5 μm × 2 μm kokoinen sauvabakteeri vegetatiivisena (vasen yläpaneli) ja itiöityneenä n. 1 μm (alapaneli). Itiö syntyy kasvullisen solun sisällä, yhdestä bakteerisolusta tulee yksi pieni, paksuseinäinen itiö, joka voi myöhemmin kasvaa takaisin kasvulliseksi soluksi. Itiön vesipitoisuus on vain n. 15%, kun vegetatiivisilla soluilla pitoisuus on 80%. Itiö on siis yhtä ”kuivaa” ainetta kuin esim. kuivat viljan jyvät. Sen valomikroskoopissa näkyvä voimakas valontaitto johtuu tästä. Itiömuodostus on basilluksilla elossapysymiskeino, eikä lisääntymiskeino, niin kuin streptomykeeteillä ja homeilla. Oikealla elektronimikroskooppikuva itiöityvän *B. cereus* solun ohutleikkeestä, jossa näkyy että paksut itiöseinä-kerrokset ovat alkaneet muodostua. Maria A Andersson, Eeva-Liisa Nurmiaho-Lassila, Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto. tsr112134



Kuva 35. Amyloosiinin tuottaja *Bacillus amyloliquefaciens* 19 (C) pysäytti useimpien testikantojen kasvun etäälle testiviivasta, mutta kereulidin tuottaja, *Bacillus cereus* NS-58 (B), esti vain paikallisesti joidenkin home-talo- ja ympäristöbakteerien kasvua, kun ne siirrostettiin samoilta TSA maljoille kuin uhrikannat. Vaakaviivoiksi maljoille A, B, C siirrostetut ”uhrikannat” olivat 1) *Williamsia muralis* MA149/96^T, 2) *Mycobacterium murale* MA113^T, 3) *Dietzia* sp. MA147, 4) *Sphingomonas aurantiaca* MA101b^T, 5) *Bacillus* sp OS15. tsr112134, Maria Andersson, Stiina Rasimus, Ossian Saris, Piia Niinimäki, Mirja Salkinoja-Salonen

Kuvassa 35 on esitelty koejärjestely, jolla oli tavoitteena selvittää, oliko myrkyllisen ekstroliitin tuottajabakteeri (Taulukko 9) antagonistinen (myrkyllisiä) toisia bakteereja kohtaan. Testatut uhrikannat valittiin siten, että ne

1. edustivat sisäilmabakteereja (tyyppikanta eristetty sisätiloista, ulkoilmahabitaattia ei kaikkialta vieläkään tunneta);
2. edustivat useita pääluokkia, firmikuutteja, alfa-proteobakteereja, aktinobakteereja jotka olivat erilaiset soluseinärakenteeltaan ja biologialtaan: 1) *Williamsia muralis* MA149/96^T, 2) *Mycobacterium murale* MA113^T, 3) *Dietzia* sp. MA147, 4) *Sphingomonas aurantiaca* MA101b^T, 5) *Bacillus* sp OS15, dust, 6) *Bacillus megaterium* DSM 17641.

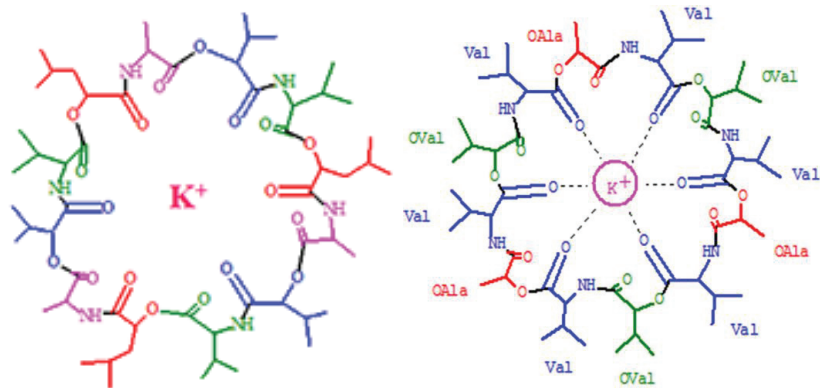
Tulokset osoittivat, että *B. amyloliquefaciens* 19b esti useiden sisäilmabakteerien kasvua (kuva 35 C) etäälle siirrosviivasta. Tämä tarkoittanee, että antagonismin mekanismiin liittyy diffuntoituva molekyyli/ejä. Sensijaan kereulidia tuottavan *Bacillus cereus* NS58:n estomekanismin etäisyyss-jänne oli lyhyt (kuva 35b). Tulos osoitti, että mikrobien kesken käydään kisaa elintilasta, ja että molekyylit, joiden avulla bakteeri häätää pois naapureita, diffuntoituvat jonkin matkaa kosteassa ympäristössä kuten tässä käytetty elatusaine-agar.

Suomalaisista hometaloista on löydetty useita toksiineja tuottavia *Paenibacilluksia*: *P. pabuli*, *P. gordoniae*, *P. polymyxa*, *P. stellifer* (Salkinoja-Salonen, 1999). *Paenibacillus polymyxa* on jo vanhastaan tunnettu polymyksiini-nimisen antibiootin tuottajana (Nikaido & Vaara, 1985). Tässä hankkeessa löytyi uusi nisäkässoluille myrkyllisen ekstroliitin tuottaja: *Paenibacillus tundrae*. Se kasvaa viileässä (+ 5°C) ja tuottaa paenilidi-nimistä, kaliumia sitovaa toksiinia, jonka rakenne ja haittavaikutukset nisäkässoluihin (ml. ihmisen solut) ovat samankaltaiset kuin kereulidin (*B. cereus*) (Rasimus-Sahari ym, 2012, Rasimus-Sahari 2016).

Ihmiselle kereulidi on hyvin myrkyllinen ja on aiheuttanut monia vakavia ruokamyrkytyksiä, fataalejakin (Andersson ym., 1998a; Hoornstra ym., 2013). On oletettavissa, että ihmisen hengityselimille on haittaa sisäilma-aerosolina hengitetystä kereulidipölystä. Rakennusmateriaaleissa ei ole kaliumia lainkaan tai liian vähän. Kereulidi ”imee” kaliumjonin tehokkaasti myös ympäristössä, jossa kaliumin pitoisuus on hyvin matala, kuten rakennukset ovat. Rakennuksista eristetyt *B. cereus* isolaatit olivat pääosin kereulidin (emeettisen toksiinin) tuottajia (Andersson ym. 2005). Sensijaan maaperässä ja elintarvikkeissa kereulidin tuottajat olivat melko harvinaisia (Altayar & Sutherland, 2006). Kereulidi siten edistää *B. cereus* bakteerin ja homeiden menestymistä rakennuksissa, joissa kosteutta on riittävästi (Ekman ym, 2012).

5.3. *Streptomyces*

Streptomyces suku on itiöitä tuottava, laaja bakteerisuku, joka kuuluu aktino-bakteerien pääluokkaan ja kattaa satoja lajeja. Lähes kaikki streptomykeetit tuottavat ekstroliitteja, joista monet ovat käytössä antibioottilääkkeinä. Sisäilmahaittaisista tiloista löytyy valinomyysiiniä tai muiden mitokondriomyrkyllisten ekstroliittien tuottajia (Kuva 36, Taulukko 9). Maljaviljelyssä monet streptomykeetit kasvavat hometta muistuttavina rihmoina ja tästä syystä niitä vanhemmassa kirjallisuudessa nimitettiin ”sädesieniksi” (Kuva 37). Streptomykeettejä löytyy kostuneista kipsilevyistä, jotka toimivat kapillaarisesti veden kuljettajina ja sisältävät liima-aineita (tärkkelystä tai sen johdannaisia, liimat ja liisterit). *S. griseus* kasvaa paperi- ja kipsilevymateriaalissa usein yhdessä *Stachybotrys* sienien kanssa (Kuva 37).



Kuva 36. Kereulidin (vasen) ja valinomysiinin (oikea) rakenteet. Molemmat ovat syklisiä dodekadep-sipeptidejä. Niissä vuorottelevat aminohappo ja hydroksihappo, jotka ovat liittyneet toisiinsa peptidi ja esterisidoksin. Molekyyleissä ei ole kahta aminohappoa perättäin, josta syystä ihmisen tai muiden nisäkässolujen peptidaasientsyymit eivät pysty purkamaan näitä molekyyliä. Kereulidi ja valinomy-siini ovat rasvahakuisia (hydrofobisia, log Kow >5) molekyyliä, joka sitovat spesifisesti kaliumjoneja veteen liukenemattomaan muotoon. Molemmilla on positiivinen nettovaraus (kalium jonin takia), joten ne kulkeutuvat solukalvon läpi kalvopotentialin vetäminä kohti negatiivista varausta, eli ulkoa sytoplasmaan ja sytoplasmasta vastaavasti mitokondrioihin, koska siellä on solujen negatiivisin säh-kökenttä. *Teplava, Mikkola, Salkinoja-Salonen 2006*

Streptomyces ja *Bacillus* sukujen bakteereilla ei ole omia sellulaasi-entsyymejä. Selluloosapi-toisissa ympäristöissä (puu, kartonki, paperit) niitä löytyy homekasvustoista, jolloin ne voivat hyötyä näiden tuottamasta sokerista. Intiimin näköisestä streptomykeetin ja *Stachybotrys* homeen yhteiselosta (Kuva 37) voisi arvailla, että *Streptomyces* hyötyy homeen sellulaasi-entsyy-mien tuottamasta sokerista.

Kaikki tähän mennessä löytämämme valinomysiiniä tuottavat streptomykeetit eristettiin hometalloista. Kun 2 tilasta tutkittiin 208 isolaattia, näistä 13 (6 %) tuotti valinomysiiniä tai vas-taavanlaista mitokondriomyrkyllistä toksinia (Taulukko 10). Streptomykeetit ovat yleisiä maa-perässä ja maatilaympäristössä (heinä, kuivikeolki, heinäpöly, hevostalli): 145 tutkittua isolaattia, mutta valinomysiinin tai senkaltaisten toksinien tuottajia ei löydetty (0 kpl).

Taulukko 10. Valinomysiiniä tuottavien *Streptomyces*-kantojen esiintyvyys eri ympäristöissä

Maria Andersson, Stiina Rasimus, Ossian Saris, Joanna Peltola & Mirja Salkinoja-Salonen tsr112134

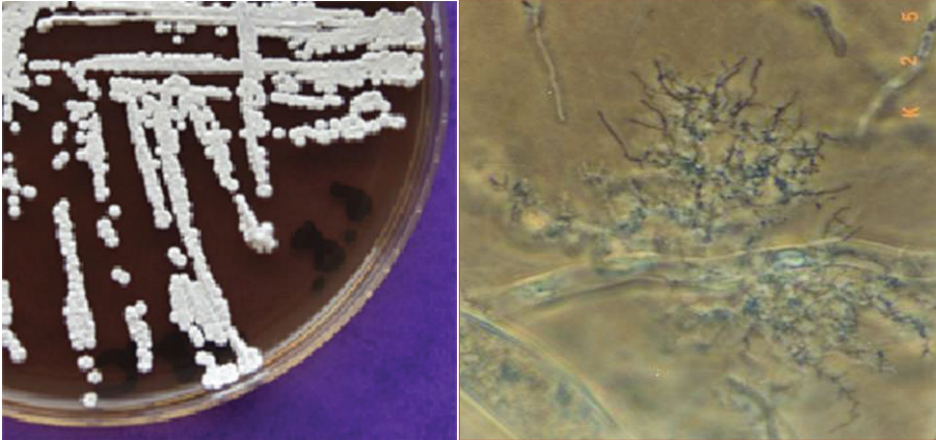
Näytteenottoympäristö	Tutkittuja isolaatteja yhteensä		
	yhteensä	valinomysiiniä* tuottavat	valinomysiiniä* tuottamattomat
Leipomotyötila, jossa kosteusvaurioita seinässä	11	7	4
Kosteusvaurioinen päiväkot, sisätilapöly	6	2	4
Kosteusvaurioinen peruskoulu, impaktorilla kerätty ilmanäyte luokkatiloista (Andersen keräin)	3	1	2
Homeinen asunto, impaktorilla otettu ilmanäyte (Andersen impaktori)	6	2	4
Kaupunkiasuntojen (n=10) sisätilapölyjä sisäilmavalituskohteista	2	1	1
Kaupunkiasuntojen (n=10) sisätilapölyjä, ei valituksia	36	0	36
Lattiapöly kuivista heinävarastoista (n = 3)	50	0	50
Heinälatto (n = 3) , ilmanäyte impaktorilla	6	0	6
Hevostalli (n = 2), laskeutunut sisäilmapöly	10	0	10
Siilorehu (n = 1) jonka epäiltiin aiheuttaneen tuotanto-eläimille sairautta	32	0	32
Navetan kuivike (n = 1)	23	0	23
Sikalan kuivikeolki (n = 3)	5	0	5
Viljasato (maatilalla korjattu) (n = 4)	6	0	6
Perunat, maatilalla korjattu sato	12	0	12
Isolaatteja yhteensä	208	13	195

* Valinomysiiniä tai muuta mitokondriotoksista ekstroliittia.

Homeiden ja valinomysiiniä tuottavien streptomykeettien yhteiselon hometaloissa voi tulkita siten, että ne hyötyvät toisistaan: rakennusmateriaaleissa on ravinteita niukasti, erityinen pula on kaliumista, jota kaikki elävät solut tarvitsevat paljon: Kaliumin pitoisuus on kaikkien eliöiden (myös ihmisen) soluissa n. 150 mM. Jotta solu voisi jakautua (kasvaa), sen on saatava tuo määrä kaliumia. Kalium-pula hidastaa mikrobien kasvua rakennetussa ympäristössä. Kaliumia sitovien molekyylien, kuten valinomysiini ja kereulidi, avulla mikrobi voi saada valintaedun kaliumköyhässä ympäristöissä (Ekman ym, 2012; Teplova ym. 2006).

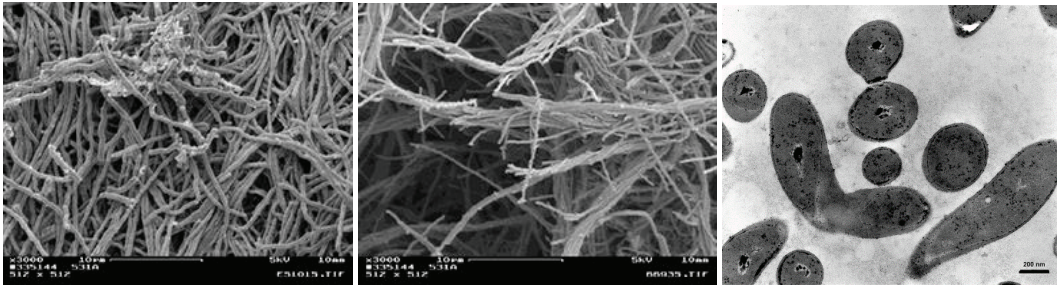
5.4. *Nocardiopsis*, *Mycobacterium* ja *Williamsia*

Sisäilmahaittaisten tilojen aktinobakteereista tunnetaan *Streptomyces* suvun lisäksi *Nocardiopsis alborubida*, *N. exhalans*, *N. umidischolae* (Peltola, 2001; Peltola ym., 2001), *Mycobacterium murale* ja *Williamsia muralis* (Kämpfer ym., 1999; Andersson ym., 1999; Tsitko 2007). Nämä kasvavat viljelymaljoilla ”tavallisen” bakteerin näköisinä, josta syystä sisäilmatutkijat useimmiten eivät niitä aktinobakteereiksi tunnista. Kaikki tähän mennessä tutkitut *Nocardiopsis* lajit olivat toksiinien tuottajia (Joanna Peltola, väitöskirja, 2001).



Kuva 37. *Streptomyces* bakteerit kasvavat ”jauhoisen” näköisenä pesäkkeinä siinä vaiheessa kun ne tuottavat itiöitä (vasen paneli). Terveyshaittaisista sisätiloista on löytynyt valinomysiiniä tuottavia *Streptomyces* bakteereja jotka kasvavat kietoutuneina *Stachybotrys*-homeen rihmoihin (oikea paneli). Valinomysiini on ihmiselle myrkyllinen kalium-joneja kuljettava depsipeptidi (Andersson ym., 1998b).

Näitä aktinobakteereja löydettiin muhkeina kasvustoina helsinkiläisestä asunnosta ja päiväkodista (Andersson ym, 1997; Kämpfer ym., 1999, Peltola ym, 2001a,b) joita tutkittiin asukkaiden ja henkilöstön vakavien terveyshaittojen vuoksi. Ne kasvavat korkeassa suolapitoisuudessa (7.5 – 10% NaCl) , joka tarkoittaa tasolle $a_w = 0.94 - 0.96$ alentunutta veden aktiivisuutta. *N. dassonvillei* ja *Williamsia muralis* ovat ihmispatogeenieja joiden on osoitettu aiheuttaneen mm. silmätulehduksia.



Kuva 38. *Nocardiopsis exhalans* ja *N. humidischolae* ovat toksineja tuottavia aktinobakteereja vaka-
vaan sisäilmaterveyshaittaan liittyneestä päiväkodista ja yksityistilasta. Ne kasvoivat ohuina, 0,5 -1
µm läpimittaisina rihmoina kipsilevyseinissä. Joanna Peltola 2001, Peltola ym. 2001.

6. RAKENNUSMATERIAALIEN HAITALLISET KEMIKAALIPÄÄSTÖT

6.1. Rikkiyhdisteet

Taulukko 11. Kipsin ominaisuudet

Ominaisuus ¹	lukuarvo	Ominaisuus ¹	lukuarvo
CAS numero	7778-18-9	Huokostilavuus, %	38
Olomuoto huoneen lämmössä	kiinteä	Liukoisuus veteen, g/l	2
Molekyylikaava	CaSO ₄	Liukoisuus orgaanisiin liuottimiin, g /l	0
Moolipaino, g/mol	136,14	Veden imukyky, % painosta, hemihydraattiina	6,6
Hydratoituneena	CaSO ₄ × H ₂ O	Veden pidätyskyky hyvä: luovuttaa vain osan vedestä 100 - 150°C:ssä, täydellinen dehydratuminen vaatii 650 °C	
Hydratoitu moolipaino, g/mol	172,17	Hiilidioksidin diffuusiokerroin m ² /s (13mm) ²	9,2 × 10 ⁻⁷
Tiheys kuivana g/cm ³	2,32	Hiilidioksidivastus, s/m (13mm) ²	1,41 × 10 ⁻⁴
Tiheys levytuotteena g/cm ³	ca. 1,2		

Lähde: The Merck Index, 12 Ed. Ellei toisin mainita.

²Olli Lipponen, Rakennusfysiikan diplomityö (Aalto Yliopisto), 2014.

Myös: Andersson ym 2014, SIY Raportti 32 (Sisäilmayhdistys), s.371–376 (Taulukko 3).

6.1.1. Kipsi rakennuksissa

Suomen koko rakennusala 80 % on rakennettu 1960-luvun jälkeen (Mattila 2014, sit. Lahtinen 2014: 29) ja asuinrakennuksista noin puolet on rakennettu 1960–1980-luvulla (TrVM 2013: 17). Näissä rakennuksissa on enenevästi käytetty teollisuuden sivutuotteena syntyvää kipsiä rakennusmateriaalina.

Kipsi on kalsium sulfaattia, CaSO₄, mutta sisältää epäpuhtauksina mm. hivenravinteita. Rakentamiseen käytetään levytuotteita (kipsikartonki levyjä, 80% kalsiumsulfaattia, 5% kalsiumhydroksidia), betonin ja laastien osana (BY, 2011) ja levitettävänä tasotteina. Kipsilevy valmistetaan veden ja kipsijauhon seoksesta. Energiaa kuluttavin vaihe on veden poisto. Veden poiston tehostamiseksi seoksen saatetaan lisätä kostutinkemikaaleja, tyypillisesti poly-oksi-etyleenin alkyylieettereitä. Nämä muuttavat jo pienenä pitoisuutena kipsin sisältämän veden nanopisaroista koostuvaksi dispersioksi, jolloin veden puristaminen pois massasta voi tehostua n. 40%.

Kipsiin lisätyt orgaaniset aineosat voivat ruokkia aerobista mikrobistoa joka kuluttaa hapen. Jos levy on happivajaassa olotilassa (muovilla vuorattu seinärakenne), kipsin sisältämät sulfaatinpelkistäjät bakteerit muuttavat sulfaatteja (kuten kipsi) myrkyllisiksi kaasuihin, rikkivetyä ja rikkihiiliä, samalla kun orgaaninen aine hajoaa hiilidioksidiksi ja vedeksi: CaSO₄ + orgaaninen aine → CaS + CO₂ + CaCO₃ + H₂O + H₂S + CS₂

Kipsin painosta 20% on rikkiä. Kipsi on tehokas kapillaarisen kosteuden kuljettaja (Taulukko 11). Pannulapun kokoinen ala kostunutta kipsilevyä voi hapettomissa, happamoituneissa oloissa (pH ≤ 6) tuottaa 35 litraa rikkivetyä (H₂S). Tämä riittää tuottamaan 1 ppm pitoisuuden yli 30 000 m³ sisäilmaa, jos sisätila on alipaineinen, eli rikkivety virtaa rakenteesta sisätilaan päin. Näin yleensä aina on, kun rakennuksessa on koneellinen ilmanvaihto, koska ilmanvaihto sääde-

Mikrobit kaasuttavat kipsin

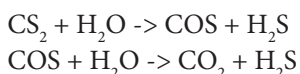
Desulfovibrio, *Desulfotomaculum* ja muut ”desulfo-” alkuiset bakteerisuvut, eli sulfaatin pelkistäjät, pelkistävät kipsiä ja muita sulfaatteja hapettomissa oloissa rikkivedyksi ja rikkihiileksi. Hapeton olosuhde syntyy tuulettumattomassa rakenteessa, jossa mikrobit hengittävät rakenteessa olevan hapen loppuun. Näin käy, kun hapen pääsy rakenteeseen estetään rakennusmuovilla, alkydimaalilla tai muulla hapen kulkua rajoittavalla pinnoitteella. Pieni alkukosteus, esim. nurkka isosta kipsiseinästä, riittää käynnistämään rakenteen sisällä mikrobiprosessin jossa ensin kuluu loppuun happi, tuloksena syntyy hiilidioksidia, vesihöyryä ja mikrobimassaa – samoin kuin ihmisen hengittäessä – ja sitten, kun happi on loppunut, mikrobien toiminta muuttuu käyttämään hapen ”korvikkeena” sulfaattia, ja tuotteena syntyy rikkivetyä ja vesihöyryä. Käynnistymisen jälkeen kipsin mikrobi-toiminta tuottaa itse tarvitsemansa kosteuden.

Kipsiä hajottavien mikrobien energiaravinnoksi kelpaa tärkkelys ja liimat, selluloosa, (kipsi)levyn päällyspaperi, eristeet kuten polyuretaani, rakenteisiin joutuneet tai unohtuneet jäteaineet. Hiilidioksidi yhdistyy veden kanssa hiilihapoksi, jolloin ympäristö happamoituu (pH 4 - 5). Sadevesi on Suomessa hapanta, pH 4,5 – 6. Happamuus aiheuttaa rikkivedyn kaasuuntumisen. Rikkivetykaasu (Taulukko 12) on *rasvaliukoinen*, ja senvuoksi läpäisee diffusiivisesti muovit – myös vesihöyrytiiviit muovit. Hengityselimiin joutunut rikkivety imeytyy sekuntien murto-osassa keuhkoista elimistöön (Taulukko 12) (Riahi & Rowley 2014).

tään toimimaan niin, että tuloilmakone on käynnissä vain rakennuksen käyttöajan (joka esim. kouluissa on 40-60 h/viikko) ja muuna aikana (>100 h / viikko) tuloilmakone on vajaakäynnillä tai seisoo. Alipaine vaivaa eniten tiiviitä rakennuksia, etenkin tilojen ollessa tyhjinä, koska osa poistoilmakoneista toimii silloinkin (mm. märkätilat). Näin on toimistoissa ja julkisissa tiloissa, kuten kouluissa ja päiväkodeissa. Vetysulfidi (rikkivety) läpäisee biologisen kalvon miljoona kertaa nopeammin kuin vesihöyry (Riahi & Rowley, 2014). Tämä selittää miksi ulkoisen vetysulfidin vaikutukset näkyvät elimistössä salaman nopeasti. Vetysulfidi on poikkeavan rasvaliukoinen kaasu joka kulkee muovien läpi alipaineen suuntaan ja viileämmästä lämpimämpään tilaan päin.

Kipsiä on myös betonissa ja useat betonitasotteet sisältävät pääkomponenttina kipsiä. Portlandsementtiin lisätään 5% kipsiä jauhatuksen yhteydessä. Myös betonin kuivatusenergian kuluusta voi vähentää orgaanisilla kostutuskemikaaleilla (wetting agent). Betonien valmistukseen käytettävät side- ja lisäaineet voivat edistää mikrobikasvua, koska ne sisältävät ravinteita: kiihdyttimet ovat pääasiassa nitraattisuoloja, notkistimet, tehonotkistimet ja nesteyttimet, lignosulfonaatti, polykarboksylaatti, melamiinisulfonaatin ja naftaleeni-sulfonaatin formaldehydikondensaatti; polykarboksylaatti eetteri, nesteyttimet) ovat orgaanisia yhdisteitä ja voivat siten toimia mikrobiravintona (Suomen Betoniyhdistys, 2011; Ljungkrantz ym., Betonghandbok, 2013).

Rikkihiiltä, CS₂, voi muodostua samanaikaisesti rikkivedyn kanssa. Molemmat ovat myrkyllisiä, niitä voi muodostua kipsistä ja ne korreloivat hengitysoireiluun (Allen ym., 2012). Rikkihiili hajoaa rikkivedyksi:



Kipsiä hajottavat mikrobit ovat bakteereja, eivät homeita, joten niitä ei voi havaita paljain silmin. Rikkivedyn muodostumisprosessin yhteydessä saattaa muodostua harmaita läiskiä kun kipsilevyssä epäpuhtautena olevat rauta-jonit muuttuvat rauta-sulfidiksi. Saatavilla olevista, kenttäkäytöisistä rikkivetyantureista mikään ei luotettavasti mittaa alle 0,05 ppm pitoisuuksia. Kroonisen altistumisen havainnointiin voi käyttää kupari- ja hopeametallikeräimiä. Pitkä mittausaika on välttämätön, koska rakennuksesta sisäilmassa mitattavissa olevat päästöt vaihtelevat ilmanvaihtokoneiden käyntiyrityksin ja säiden mukaan. Alle 0.05 ppm rikkivetypitoisuuksia ihminen ei haista, mutta silti niillä on fysiologisia hermostovaikutuksia (ATSDR, 2014).

Suomessa ulko- ja sisäilman pelkistyneiden rikkijyhdisteiden (rikkivety, metyyliimerkaptaani, dimetyylisulfidi) tutkittiin 1980-1990 luvuilla:

- Lasten terveyshaittaoireet kaksinkertaistuivat kun sulfidikaasujen pitoisuus ympäristössä (sisällä ja ulkona) ylitti $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Päästölähde: selluteollisuuden päästö, ulkoilma ja sisäilma, Marttila ym., (1994)
- Spontaani aborttien määrä nousi altistuneilla naisilla ja altistuneiden miesten vaimoilla kaikissa sosiaaliryhmissä asuntoalueella jossa ilman rikkivetypitoisuuden vuosikeskiarvo oli $>4 \mu\text{g}/\text{m}^3$ verrattuna alueeseen jossa vuosikeskiarvo oli $<4 \mu\text{g}/\text{m}^3$. (Päästölähde: viskoosiselluteollisuus). Tiedot kerättiin aluesairaalan vuoden 1975 rekisteristä. Lähde: Hemminki & Niemi (1982).
- USA:n ympäristövirasto EPA on kiinnittänyt huomiota siihen, että kipsin määrä asunnoissa korreloi astman yleisempään esiintymiseen (Vesper ym., 2014).

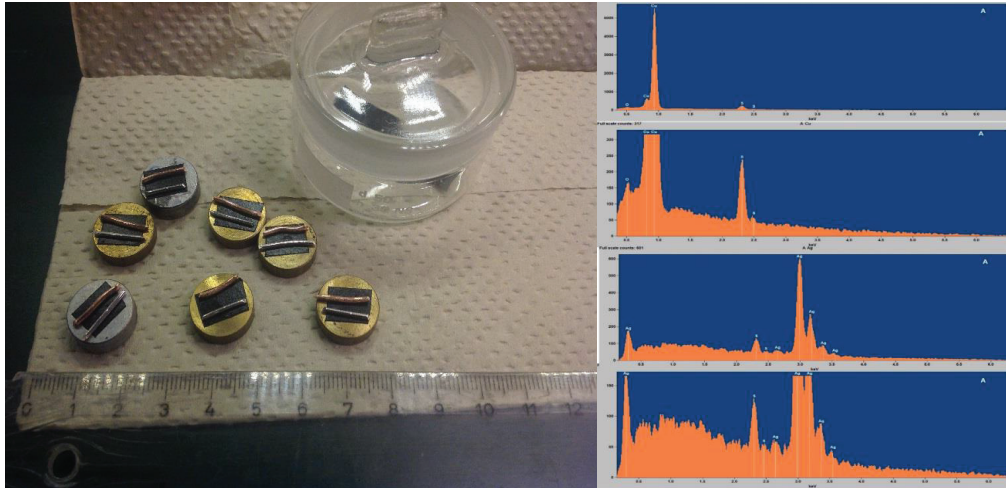
US Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) on julkaissut useita mittavia raportteja rikkivedyn terveyshaittavaikutuksista, tuorein on vuodelta 2014. Allen ym (2012) tutki sisäilmaan liittyviä haittaoireita asunnoista: valittaneiden (complaint) asuntojen sisäilman rikkivetypitoisuus oli korkeampi, LOD ($0,5 - 0,7 \mu\text{g}/\text{m}^3$) – $3.11 \mu\text{g}/\text{m}^3$, kuin verrokkiasuntojen (non-complaint). Tekijät käyttivät monitorointiin kupari- ja hopeametallista tehtyjä keräimiä, joiden näyttö varmistettiin analysoimalla. Kirjoittajan työryhmä teki rikkikaasukeräyksiä oppilaitos- ja toimistotiloissa samantapaisella tekniikalla kuin Allen ym (2012), mutta käyttäen pyyhkäiselektronimikroskopiaa ja EDS detektoria keräinten analysointiin (Kuva 39). Ensimmäisen tutkimuskierroksen tuloksista havaittiin positiivinen sulfidivaste 22:ssa (keräimiä oli 29). Kaikki osumat olivat tiloista, joiden käyttäjä(t) valittivat sisäilmahaittana ”tunkkaisuutta”, ja/tai silmien ja nenän oireita. Nämä alustavat tulokset viittaavat siihen, että vetysulfidilla on rooli yhtenä tekijänä suomalaisen sisäilmaan liittyvän terveyshaittaoireilun synnyssä.

Vetysulfidi on lämminveristen eliöiden, myös ihmisen solutoimintoja säätelevä välittäjä-aine (gasotransmitteri), joka säätelee mm. hermojen toimintaa ja mitokondrioiden hapenkulutusta. Soluissamme vetysulfidia syntetoidaan ja puretaan sykkeenomaisesti, pitoisuudet soluissa ovat pikomolaarisia ja vetysulfidi liikkuu millisekunneissa tuottajasolusta kokonaisuksiin kudoksiin. Ulkoinen, hengitysilman vetysulfidi imeytyy myös salaman nopeasti soluihin ja leviää siitä kudoksiin, mutta siis häiritsee elimistön omaa normaalia säätelytoimintaa (Fiedler ym, 2008; Qu ym, 2008).

Rakennusjätteessä kipsiaines murenee jauhoksi, joka muiden massojen alla tuottaa nopeasti rikkivetyä. Tämä aiheuttaa työsuojeluongelmia purkutyö-maalla ja myöhemmin kaatopaikalla. Kipsiä ei voi polttamalla hävittää eikä se sovellu lannoitteeksi. Kipsijätettä on 1990-luvulla mitattu syntyvän $0,9 \text{ m}^3$ purettua asuntoa kohti, eli $4,9 \text{ kg}$ purettua m^2 kohti, mutta vuoden 2016 Suomessa, kipsin käytön yleistyttyä myös rakennusten ulkovaippaan, määrä saattaa olla monin-

kertainen. Kipsijätteestä 40% on hienojaetta, joka läjitettynä muuttuu kaasuuntuviksi rikkiyhdisteiksi ja aiheuttaa terveys- ja viihtyvyyshaittaa. Hollannin viranomaiset ovat tästä syystä määränneet kierrätyshiekan sulfaattipitoisuuden ylärajaksi 1,73 g sulfaattia per kg hiekkaa (de Vries 2006, Kijjanapanich ym, 2013).

Suomessa ei ole viranomaisen viitearvoa sisätilojen sulfidikaasupitoisuuksille. On teollisuustyöpaikoille htp-arvo, joka pätee työikäiselle väestölle tietyllä määrällä altistumistunteja tai minuutteja, mutta ei krooniselle altistukselle eikä sisätiloille joissa ei ole työhön liittyviä rikkipäästöjä. Maa- ja Metsätalousministeriö on 12 tammikuuta 2012 asetuksella (laki 45/2000, 7 §, 2 mom) määrännyt karjatilastoista, että lypsylehmien rikkivetyaltistus ei saa jatkuvasti ylittää 0,5 ppm. Tämä koskee vain lehtiä. <http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/20120008>



Kuva 39. Sulfidikaasukeräimet. Kuhunkin nappiin (Ø13 mm) on hiilitarralla kiinnitetty 8 mm pala hopea (Ag) ja kupari (Cu) lankaa. (Yllä). Sulfidikeräinten EDS analyysien tuloksia (oikealla). *Simo Lehtinen ja Mirja Salkinoja-Salonen. Lähde: Andersson MA, Aattela E., Mikkola R. ym, 2016*

Taulukko 12. Rikkivedyn ominaisuuksia

Ominaisuus	lukuarvo
CAS numero	7783-06-4
Olomuoto huoneen lämmössä	kaasu
Molekyylikaava	H ₂ S
Moolipaino, g/mol	34,08
Tiheys ilmaan verrattuna	1,2 (ilma = 1)
Tiheys g/ dm ³	1,363
Biologisen kalvon läpäisevyys ⁵ (H ₂ S)	0,5 cm s ⁻¹
Ulkoilman pitoisuus, µg/m ³	< 7 ³
Liukoisuus veteen, mg/l	3980
Höyrynpaine, kPa (21°C)	1740
Kiehumispiste, °C	-60
Sulamispiste, °C	-82
Vetysulfidi anionin, HS ⁻ , pK _a	6,9
Sulfidi anionin, S ²⁻ , pK _a	>14

Haitallisia altistumisoireita ²	
Muuntokertoimet 20°C (höyry): 1 mg m ⁻³ = 0,7 ppm	1 ppm = 1,4 mg m ⁻³ 1 ppm = 1400 µg m ⁻³
Krooninen sisätila-altistuminen ⁴ , ylähengitysteiden oireita	0,92 µg m ⁻³ (ka) 3,11 µg m ⁻³ (max)
Silmien verestys, sarveiskalvon punotus, tulehdus	10 – 20 ppm
Näön sumeneminen, kyynelvuotoa	50 ppm
”kaasusilmä”, pitkäaikaisesta altistuksesta johtuva krooninen sidekalvon tulehdus	oireita jopa 1 ppm
Hajukynnys	0,008 ppm
Hajukynnys	0,011 mg m ⁻³
Mädän kananmunan haju	0,02 – 0,13 ppm
Hajuaistin tunnottomuus	>100 ppm
Päänsärky, syanoosi, keuhkoödeema	250 – 500 ppm
Hengityksen pysähtyminen, kuolema (minuuteissa)	>1000 ppm

¹Taschenbuch Chem Subst, 1993, s.631-2;

²OVA-ohje, 15.8.2014 ©Työterveyslaitos, <http://www.ttl.fi/ova/rikkivet.html>

³WHO suositus;

⁴samoissa tiloissa oli myös rikkihiiltä, CS₂, Allen ym, 2012

⁵S Riahi & Rowley, 2014

Tämä rajoittaa rakennusjätteen uusiokäyttöä (lähdeviitteitä julkaisussa Kijjanapanich ym, 2013, s. 82-3). Suomessa kipsijätteen riskiin ei toistaiseksi ole kiinnitetty huomiota, vaan kipsipitoista jätettä (”uusiomateriaalia”) saatetaan sijoittaa rakennusten alle tai täyttöihin asutuksen keskellä, esim. mm. tekonurmikentillä (mm. Mänttä, 2014). Jos kipsi peitetään happea heikosti läpäisevällä katteella, esim. vinyylimuovit, tekonurmi, mikrobitoiminta aiheuttaa hapettomuutta ja rikkivedyn tuotto käynnistyy.

Mäntän keskustassa tekonurmikenttä alkoi v. 2014 levittää ”mädän kananmunan” hajua, eli todennäköisesti rikkivetyä, ympäristöön. Tämä viittaa siihen että tekonurmen alle sijoitettu uusiomateriaali sisälsi kipsiä.

Viemäriverkossa syntyy aina rikkivetyä. Viemärikaasun rikki on peräisin ruokajätteestä ja ihmisen jätöksistä (rikkipitoiset aminohapot, ja säilöntäaineet). Sisätiloihin viemärikaasua voi tulla jos viemärin hajulukko pääsee kuivumaan tai viemäri tulvii / vuotaa.

Tiivistelmä

- Kipsin mikrobiologinen konversio rikkivedyksi käynnistyy hapettomissa, kosteissa oloissa.
- Käynnistyttyään sulfaatinpelkistäjä-bakteerit tuottavat itse tarvitsemansa kosteuden. Rikkivedyn tuotto voi jatkua ilman ulkoista kosteuden-lähdettä. Rikkivety on rasvahuinen ja läpäisee muovit miljoona kertaa nopeammin kuin vesi.
- Rikkivety on ilmaa raskaampaa. Se voi jäädä leijumaan kuoppiin, kellareihin ym tai nousta ylös diffusiivisesti kylmemmistä tiloista lämpimiin.

- Rikkivety on lämmينveristen eliöiden, myös ihmisen solutoimintoja säätelevä välittäjä-aine (gasotransmitteri), joka säätelee mm. hermojen toimintaa ja mitokondrioiden hapenkäyttöä. Ulkoinen vetysulfidi häiritsee elimistön normaalia säätelyjärjestelmää.
- USAn ympäristöterveysviraston (EPA) tutkijat kiinnittivät äskettäin huomiota siihen, että asukkaiden astmaisuus korreloi rakennuksen kipsilevyjen määrään.
- Kipsilevyt ovat toksiineja tuottavien, biosiditoleranttien homeiden suosima kasvualusta (kuva 40).

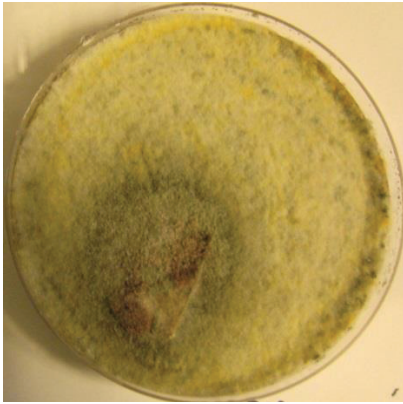
6.2. Biosidit ja muut kemikaalit rakennuksissa

6.2.1. Historia joka on myös nykypäivää

Kymmeniä tuhansia ihmisiä sairastui vakavasti Japanissa metyyli-elohopean aiheuttamaan minamata-epidemiaan 1936–1986, joka johtui elohopeasuolojen muuntumisesta metyylielohopeaksi vesistön ja maaperän bakteerien toimesta. Suomessa käytettiin elohopeasuoloja vuosikymmenten ajan puunsuojaukseen, koska elohopeasuolat antavat hyvän suojan lahottajasieniin. Myös bakteereille elohopeasuolat ovat myrkyllisiä, mutta monet maaperä- ja vesistömikrobit väistävät elohopeasuolojen myrkyllisyyden tuottamalla metyloivia entsyymejä. Nämä bakteerit metyloivat epäorgaaniset elohopeayhdisteet metyylielohopeaksi. Metyylielohopea ei ole bakteereille haitallista, mutta ihmiselle se on 1000 kertaa myrkyllisempi kuin ne elohopeasuolat, joista bakteerit sitä tuottavat. Metyylielohopea on rasvaliukoinen ja tästä syystä imeytyy lämmينverisillä nopeasti verenkiertoon, josta se kertyy hermostoon ja rasvakudokseen.

Mikrobit muuntavat metyloimalla myös arseeniyhdisteitä: syntyy metyyliarsiineja, jotka ovat ihmiselle myrkyllisempiä kuin se epäorgaaninen arseenipentoksidi, jota käytettiin puutavarau suojaukseen v. 1930 – 2006. Suuri osa kreosootilla tai arseenipentoksidilla käsitellystä puutavarasta on ulkokäytössä olevaa kestopuuta. Kotimaan käyttöön olisi riittänyt kromi-kuparilla kyllästetty kestopuu, mutta vientiteollisuuden tarpeista johtuen on tuotettu merkittävä määrä kromi-kupari-arseeni käsiteltyä (CCA) puutavaraa kotimaankin markkinoille, vaikka täällä ei ole termiittien torjuntatarvetta. Kreosootilla tai arseenilla käsiteltyä kestopuuta ei pitäisi rakennusten sisällä olla, mutta silloin tällöin sitä silti löytyy, kun etsitään syitä sisäilmaongelmiin. Diarseenipentoksidia (As_2O_5) käytettiin v. 1994–2006 vuositasolla 300 tonnia eli vuosina 1994–2006 yhteensä 0,5 kg /asukas (Kuva 41).

Kuvan 41 tilasto kertoo, että vv. 1994–2006 boorikemikaaleja käytettiin 0,09 kg / asukas ja kreosoottia 13,5 kg. Nämä aineet ovat kokonaan tai pääosin (kreosootti) biohajoamattomia ja haihtumattomia, joten ne ovat edelleen läsnä rakennuskannassa. Samoja aineita on aineita Suomessa on käytetty 1930-luvulta lähtien. Kreosootti on eniten käytetty puunsuojakemikaali, 5000 – 8000 tonnia vuosittain, eli 1 – 1,5 kg per asukas /vuosi (Kuva 41 alapaneli). Kestopuu on tarkoitettu ulkokäyttöön, ei talonrakentamiseen, mutta silti sitä aika ajoin löytyy rakennuksista. Kreosootti on kivihiilitisle, sisältää paljon monirenkaisia aromaattisia hiilivetyjä, mm. syöpää aiheuttavaksi tunnettua bentso- ja pyreeniä ja fenoleja, jotka aiheuttavat sisäilmaongelman. Suomessa uppokäsiteltiin sahatarava (myös talonrakentamiseen tarkoitettu) sinistymisen estämiseksi 1930-luvulta vuoteen 1984 (Valo, 1990). Käsittelyliuos oli 1 – 2 % emäkseen liuotettu kloorifenoli-seos (2,4-di-, 2,4,6-tri-, 2,3,4,6-tetra- ja pentakloorifenoli), kloorifenolien käyttö on arvioitu 1500 tonniksi/vuosi (Valo ym. 1984; Salkinoja-Salonen ym. 1984, 1985; Räisänen & Salkinoja-Salonen, 1983, Suominen ym.). Tuon ajan rakennuskannassa kloorifenoleja on edelleen,



Kuva 40. Palanen käyttämätöntä kipsilevyä asetettuna mallasuute-agar maljalle kasvoi maljan täyteen (vasemmalla) homeita. Puhtaaksi viljeltäessä tästä maljallisesta saatiin eroteltua kymmenen erilaista home-puhdasviljelmää (keski). Kun mallas-agar alustaa terästettiin PHMG biosidilla (500ppm), niin kolme kymmenestä alkuperäisestä osoittautui resistentiksi tälle biosidille (alla) Maria Andersson ym (2014) *Tsr112134*

koska kloorifenolit haihtuvat puutavarasta hitaasti. Kloorifenolit ovat biometyloituvia (Valo, 1990, Uotila, 1993) kuten arseeni ja elohopea, ja sisäilmassa terveydelle haitallisia.

Arseeniyhdisteiden käyttö puunsuojaukseen Suomessa päättyi v. 2006 kun Euroopan Unionin käyttökielto (EU direktiivi 1048) tuli voimaan. Suurin osa Suomen rakennuskannasta on ajalta ennen v. 2006 ja niissä rakennuksissa saattaa olla arseenipentoksidilla käsiteltyä puutavaraa.

Puunsuojakemikaalien myyntimäärät 1994-2000 kg tehoainetta					
MYYNTIMÄÄRÄT TEHOAINER	1994	1995	1996	1997	1998
Kreosootti	6400000	4600000	4074431	5028280	6339380
Kromiyhdisteet	580000	430000	441399	508649	511029
Diarseenipentoksidi	310000	220000	257122	323738	344491
Epäorgaaniset kupariyhdisteet	240000	180000	183412	209309	207819
Booriyhdisteet	180000	160000	4422	4829	1025
Fluoridiyhdisteet	12000	7000	1793	2847	4999

Puunsuojakemikaalien myyntimäärät (kg) vuosina 2001-2006

	2001	2002	2003	2004	2005	2006
Kreosootti	7914000	6036200	6641156	7357404	6119820	7071999
Kromiyhdisteet	434068	532825	335480	189211	220720	77419
Diarseenipentoksidi	296921	371772	228012	109654	89859	46176
Epäorgaaniset kupariyhdisteet	177544	210789	136161	95985	398200	366153
Booriyhdisteet	3655	9717	7941	15268	19210	22709

Kuva 41. Puutavaran suojaukseen käytetyn kreosootin ja epäorgaanisten suoja-aineiden myynti Suomessa 1994 - 2006. Puunsuojaukseen käytetyt kemikaalit Suomessa vuosina 1994 – 2006. Yksikkö on kg tehoainetta /vuosi. *Lähde:* Ympäristöministeriö / K. Repo.

Hapettomissa oloissa diarseenipentoksidi pelkistyy mikrobiologisesti arsiiniksi (Gravesen ym. 1994). Arsiini on myrkyllinen, rasvaliukoinen kaasu, joka voi kulkeutua muovienkin läpi alipaineisen tilan suuntaan. Olosuhteita joissa arsiinia voi muodostua, kehittyä kaatopaikalla tai rakennustyömailla, jos arseenilla suojatun rakennusjätteen tai arseenipigmenttien (mm. vanhat tapetit) päälle levitetään eloperäistä ainetta sisältäviä kerroksia, kuten yhdyskuntajätettä, sahanpurua, ruohonleikkuujätettä, lantaa tai lieteteitä.

Boorikemikaaleja on pitkään käytetty ja käytetään edelleen suurina pitoisuuksina sekä rakennustarvikkeissa että homeen ehkäisyyn ja palonestoon (eristevillat, puutavara), max. 5% rakennustarvikkeen bruttopainosta. Booria on viime vuosikymmeninä käytetty rakennusmateriaalien suojaukseen n. 1 kg/asukasvuosi (Kuva 41). Boorikemikaalien käyttö mikrobiologisen pilaantumisen estämiseen (s.o. biosidikäyttö) on EU:ssa v. 2012 lähtien kielletty, lukuun ottamatta sahatavaran ja puusta valmistettujen esineiden suojausta.

Rakennuskanta kantaa mukanaan historiaansa niiden materiaalien ja kemikaalien muodossa, joita rakennuksen elinkaaren aikana käytettiin ja käytetään sisätiloissa, sisä- ja ulkovaipan ylläpidossa (Taulukko 13). K.o. rakennus, jossa käyttäjät, yhtä lukuunottamatta, olivat vakavasti sairastuneet, remontoitiin. Vuosi remontin valmistumisesta otettiin materiaalinäytteitä.

Epäorgaaniset kemikaalit eivät biohajoa, eivät haihdu, eivätkä inaktivoidu, vaan vaikuttavat rakennuksen koko elinkaaren ajan, orgaaniset materiaalit muuntuvat mikrobiologisten ja kemiallisten reaktioiden kautta. Mikrobiologista tyhjiötä maapallolta ei löydy. Täyssäilykkeessään mikrobikasvu käynnistyy heti kun pienikin, yhden mikrometrin (0,001 mm) reikä ”ulkomaailmaan” avautuu. Rakennus ei jää rajuimmankaan ”käsittelyn” jälkeen mikrobivapaaksi, koska se altistuu joka hetki ja joka päivä ilman kuljettamille mikrobien virroille, läheltä ja kaukaa, jopa toiselta puolelta maapalloa. Mikrobeja tiedetään olevan kymmeniä tuhansia lajeja, mutta vähintään yhtä paljon on vielä tuntemattomia, tuntemattomine ominaisuuksineen. Rakennukseen olosuhteet, materiaalien kemiallinen koostumus ja fysikaaliset olosuhteet, lämpötila, kosteus, tuulettuvuus, hapellisuus, ja luonnonlait ratkaisevat mi(t)kä ilman mukana kulkevista mikrobi-propaguuleista sopeutuvat rakennuksen kulloisiinkin olosuhteisiin.

6.2.2. Mikrobit ja biosidit

Biosidi tarkoittaa ainetta jota käytetään tappamaan eliöitä: Mikrobisidi tarkoittaa ainetta, jolla pyritään tappamaan mikrobeja materiaaleista tai tiloista; fungisidit ovat homeiden tappoon tarkoitettujen ja bakterisidit bakteerien tappoon tarkoitettujen tuotteiden tehoaineita.

Taulukko 13. Vakavasti sisäilmahaittaisen asuntorakennuksen materiaalien arseeni-, boori, kromi ja kuparipitoisuuksia. Pitoisuudet määritettiin, jotta nähtäisiin paljonko puunsuoja-aineina käytetyistä kemikaaleista näkyy rakennuksen eri materiaaleissa. Rakennuksessa sairastuivat yhtä lukuunottamatta kaikki perheen jäsenet. Analyysimenetelmä: kuningasvesiliuotus ja ICP massaspektrometria. Näytteet kerättiin 1 -2 v rakennuksen home-saneerauksen jälkeen, v. 2006. *Maria Andersson, Raimo Mikkola, Mirja Salkinoja-Salonen, Tsr 112134* (Andersson ym., 2014, Mikkola ym. 2015)

Tutkittu näyte	mitattu pitoisuus, mg/kg kuiva-ainetta			
	arseeni	boori	kromi	kupari
Materiaalinäytteet				
rakennusvillat (n = 3)	<1	26000 - 32000	<3	<2
tapetti	4	100	<3	97
rakennuspaperi (n=3)	1-2	<20 - 30	<3	11 - 1000
pahvi		30	<3	97
kuitulevy, tuulensuojalevy (n=2)	<1	30 - 200	<3	<1 - 59
puuaines (n=3)	<1	<50 - 800	<3	<2
sahanpuru	2	< 20	<3	10
Pölyt				
oireileva asunto, sisätilapöly	34	58	83	120
terve asunto, sisätilapöly	<1	<20	50	
maatilapöly	4	43	42	
Vertailunäytteitä				
maanäytteet (n = 4)	4 - 7	10 - 20	14 - 30	
lehtikomposti (n = 3)	2 - 3	29 - 44	20 - 54	

Boorikemikaaleja markkinoidaan Suomessa tuotteina estämään materiaalien ei-toivotut muutokset, kuten puutavaran laho ja levytuotteiden harmaantuminen. Suurikaan pitoisuus booria tai arseenia ei kuitenkaan ehkäise rakennuksen sisäilmaan liittyvien terveyshaittojen syntyä, koska tärkeimmät sisätilatoksiinien tuottajahomeet ovat boori-, arseeni- ja PHMG/B resistenttejä (Kuvat 10, 24, 29 ja 40; Taulukko 14, Andersson ym., 2013; Castagnoli ym., 2014).

Taulukko 14. Vakavasti sisäilmahaittaisista tiloista tallennettujen toksiineja tuottavien kantojen (Taulukko 2) biosiditoleranssit. Vertailukanta *T. longibrachiatum* DSM768, joka ei tuota toksiineja (Mikkola ym., 2012) hankittiin kantakokoelmasta. Testit tehtiin siirrostamalla tutkittavat kannat k.o. biosidin tehoaineella terästetylle mallasagarille (vertailumalja ilman biosidia). Maljat teipattiin umpeen heti siirrostamisen jälkeen kuivumisen ehkäisemiseksi, ja kasvatettiin 8 – 10 viikkoa 22 ±1 °C. Maria Andersson, Mirja Salkinoja-Salonen. Lähde: Andersson, Mikkola & Salkinoja-Salonen 2013.

Biosidin tehoaine	<i>Aspergillus westerdijikiae</i> pp1/09	<i>Aspergillus versicolor</i> G1/226	<i>Trichoderma atroviridae</i> 1/226	<i>Trichoderma longibrachiatum</i> DSM 768	<i>Chaetomium sp</i> RUK10/12
Korkein biosidipitoisuus, mg/L, jossa k.o. homekanta kasvoi pesäkkeiksi					
Arseeni pentoksidi	50	500	500	< 50	500
Boorihappo	5000	5000	500	500	5000
Booraksi	5000	5000	500	500	5000
PHMG	500	500	500	20	
PHMB	500	500	100	50	

6.3. Biosidiset kemikaalit rakennusten sisätiloissa

6.3.1. Polyguanidiset biosidit

Terveydelle haitallisia, pitkävaikutteisia antimikrobisia tehoaineita sisältyy vesiohenteisiin maa-leihin ja vettä sisältäviin nestemäisiin siivous-, pyykinpesu-, huuhtelu-, astianpesu-, WC ja muiden kosteiden tilojen puhdistusaineisiin. Niitä on tehoaineina myös tekstiili- ym ”raikasteissa”, käsidesi-tuotteissa, kehosuihkeissa. Hoitolaitos-, koulu-, päiväkot- ym sisätiloissa käytetään siivous- ja pintojen käsittelytuotteita, joihin sisältyy biosidisia kemikaaleja. Niiden ”leave-on” käytöstä, eli ilman poishuhtomista, seuraa tilojen käyttäjien, etenkin lasten, jotka liikkuvat lähellä lattiaa, jatkuva hengitysteitse altistuminen.

Polyguanidit PHMG ja PHMB. Suomessa on 1990-2015 on käytetty suuri määrä polyguanidisia desinfiointikemikaaleja rakennusten ns. homesiivoukseen, yksin tai yhdistettynä muihin biosidisiin kemikaaleihin. Vuoteen 2014 saakka käytössä oli PHMG ja v:sta 2012-3 alkaen PHMB, kun tiedossa oli, että EU komissio oli poistanut PHMG:n kaikissa muodoissaan sallittujen tehoaineiden luettelosta. Näiden polyguanidisten tehoaineiden maahantuonti on arvioitu noin 10 000 kg:ksi/vuosi.

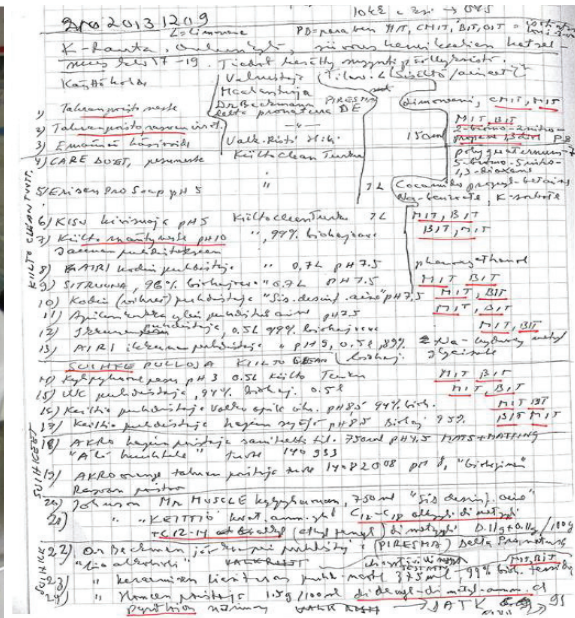
Polyguanidiset biosidit PHMG ja PHMB ovat biohajoamattomia, haihtumattomia, kemiallisesti stabiileja, pitkävaikutteisia (vuosia) solumyrkyllisiä kemikaaleja (Wessels & Ingmer, 2013). Näillä aineilla käsitellään ilmastointikanavia ja uusien tai sisäilmaongelmaisten rakennusten sisätiloja. Biosideja ei poisteta pinnoilta ennen kuin tilat otetaan käyttöön. Tilojen käyttäjät altistuvat pinnoilta ilmanvaihdon turbulenssin myötä aerosolisoituvalla biosidiaerosolille. Pitoisuudet voivat olla suuriakin jos/kun desinfiointeja on toistettu useita kertoja, niin kuin käytännössä

PHMG poistui EU:ssa sallittujen biosidien luettelosta, kun EU asetus 78/2011 astui voimaan 1.2.2013 alkaen, mutta silti sitä myytiin Suomessa vielä v. 2014.

PHMB on Euroopan Unionin kemikaaliviraston (ECHA) erittäin vaaralliseksi, luokassa 1 (= tappavaa hengitettynä, TUKES tiedote ammatillaisille, 30.11.2012), luokittelema: STOT RE 1 (vahingoittaa hengityselimiä pitkäaikaisessa tai toistuvassa altistumisessa), ihoa herkistävä (luokassa 1B) ja mahdollinen syöpäsairauksien aiheuttaja (karsinogeeniluokka Carc 2) (ECHA, European Chemicals Agency, 2011). Nämä PHMB:n luokitukset tulivat lainvoimaisiksi 1.12.2014 alkaen kaikissa EU maissa Euroopan Parlamentin asetuksella EU 944 /2013. Käsisidettä tai muussa ihmiskontaktissa (=tuoteryhmä PT1) PHMB on kielletty, markkinointikielto astuu voimaan 17.2.2017 alkaen. Valmistusryhmissä PT6 (tuotteiden varastoinnissa käytetyt) ja PT9 (kuitujen, nahan, kumin ja polymeerien säilytysaineet) sallittujen aineiden luetteloista PHMB on poistettu (Tukes biosiditiedotteet 2/2015 ja 5.2.2016), markkinointi on lopetettava 17.2.2017 ja käyttö 17.8.2017. Sisätilojen desinfiointiin / mikrobittomaksi siivoukseen / antimikrobiseen käsittelyyn 2-butanoniperoksidi ei ole enää hyväksytty tehoaine (TUKES biosiditiedote 2/2015).

Taulukko 15.

Didekyyli-dimetyyli ammonium kloridi (DDMA) on kvaternäärinen ammoniumyhdiste. DDMA aiheuttaa yksin tai seoksena muiden kvaternääristen ammonium yhdisteiden kanssa *astmaa* (Ohnuma ym, 2010, 2011; Houtappel ym, 2008). *In vitro* testeissä se on osoittautunut tappavaksi useille eri soluille (sian siittiö elävästä donorista, kissan keuhkosolu FFL (laboratoriossa kasvatettu), sian munuaisepiteelisolu PK-15 , alle 10 µg/ml pitoisena).

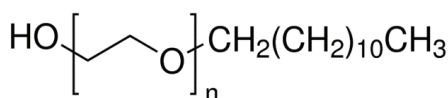
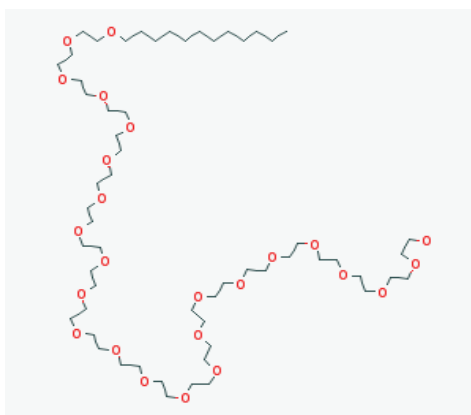


Kuva 44. A. Esimerkkejä homesaneeraukseen, koti- ja laitossiivoukseen ja tekstiilihuoltoon tarkoitettuja tuotteita. Näiden tehoaineet olivat tuoteselosteiden ja myyntipäällysten mukaan pitkävaikutteisia biosideja. Kussakin tuotteessa oli 2 – 4 erilaista antimikrobista kemikaalia. **B,** Tutkijan muistiinpanojen mukaan pääkaupunkiseudun rautakaupoissa ja suurissa marketeissa myydyistä siivous- ja puhdistustuotteista yli puolet sisälsi (v. 2014) kahta tai useampaa isotiatsoloni-biosidia.

Polyguanidiset desinfiointiaineet, PHMG/B, DDMA, kvaternääriset ja tertiääriset kationiset ammoniumyhdisteet eivät haihdu (höyrynpaine on pieni) vaan lisäkertyvät pinnoille joka käsitelyn jälkeen; tuulettamalla niistä ei pääse eroon.

Mutta jos samoissa tiloissa käytetään (päivittäin/viikottain) siivousaineita jotka sisältävät veden lisäksi nestemäisiä, jonittomia tensidejä kostutusaineina (wetting agent), kuten poly(oksietyleni) monoalkyylieettereitä (tai polyglykolirasva-alkoholi eettereitä), niin sisätilapinnoille kertyneet biosidit ja homeiden toksinit mobilisoituvat pinnoilta hienona vesihöyryaerosolina (nano-aerosoli) (Berthod ym. 2001; Dong & Hao, 2010). Tämä nanokokoinen nestesumu pääsee ihmisen keuhkoihin hengitysilman mukana. Kostutinaaineet edistävät nanopisaroiden fuusiota keuhkoputkien pintaa peittävään limaun, eivätkä epiteelisolujen kiliat (värekarvat) voi sitä estää. Kostutinaaineiden ansiosta tilojen käyttäjien keuhkot silmät ja iho altistuvat haitallisten mikrobien haihtumattomille aineenvaihduntatuotteille ja tiloissa käytetyille biosidisille kemikaaleille. Tilanne maksimoituu tilassa, jossa suhteellinen kosteus on turbulentti ja henkilötiheys suuri (paljon hengityksestä tulevaa kosteutta), kuten on tyypillistä kouluissa, 60m² luokkatilassa on keskimäärin 25-30 henkilöä, eli vähintään 1 henkilö per kaksi neliömetriä.

Sisäilman vesihöyry ei ole fysikaalisessa mielessä kaasu (ennenkuin vasta 100° C), vaan - lämpötilasta riippuen - koostuu 5 - 100000 vesimolekyylin ”pseudopisaroihin”, joissa veden ja ilman rajapinta koostuu vesimolekyylien vetyatomeista jotka osoittavat ilmaan päin. Lämpötiloissa +20°C... 30°C vesimolekyylit ovat isohkoina pisaraparvina, joiden rajapinta ilman kanssa muodostuu veden vetyatomeista (kulma 104°) ja on hydrofobisin kemian tuntema pinta - hydrofobisempi kuin teflon. Fysikaalisen kemian lakien mukaan on todennäköistä, että rasvaliukoiset, jonittomat orgaaniset molekyylit: teolliset hajusteet, 1-okteeni-3-ol ja muut homeiden haihtuvat emissiot, siivouskemikaalien jonittomat tensidit, kostutin aineet ja homeiden hydrofobiset eksudaatit, suurimolekyyllisetkin >1000 g/mol, vaeltavat sisäilmassa pseudopisaroiden pintaan tarttuneina (CJ van Oss , Giese RF, Docoslis A., 2001; Van Oss CJ 2003, 2005) .



Genapol X-080 , CAS Numero: 9043-30-5, kun n= 8. Moolipaino 552 g/mol, siivousaineissa ja maaleissa laajalti käytetty kostutinaaine, joniton surfaktantti, sytotoksinen keuhkosoluille ja pysäyttää siittiöiden uintiliikkeen, mikä indikoi sitä, että se on myös kilistaattinen, eli pysäyttää keuhkoputkien pintaa puhdistavat värekarvat.

Kuva 45. Jonittomia, nestemäisiä kostutinaaineita sisältyy useimpiin laitossiivousaineisiin, ja myös kuluttajatuotteisiin. Kostutinaaineen käytön tavoite on pirstoa vesi nanopisaroihin, joiden avulla voi peittää isomman pinnan. Ne edistävät pesunesteen (vesiliuos) leviämistä suuremmalle pinta-alalle. Tästä syystä kostutinaaineita mm. lisätään lähes kaikkiin siivousaineisiin ja sisämaaleihin. Kostutinaaineen avulla itse tehoaine (pesevä kemikaali) leviää laajemmalle pinta-alueelle. *Mirja Salkinoja-Salonen (piirroksat avoimista internetlähteistä)*

6.3.2. Isotiatsoloni-ryhmä

Isotiatsolononi-yhdisteet ovat antimikrobisia biosideja eli desinfiointiaineita (taulukko 15). Ne inaktivoivat bakteereja ja lämmينveristen eläinten mitokondrioiden toimintoja. Suuri joukko ihmisiä altistuu niille tietämättään sisäilman välityksellä. Saksassa ympäristöterveysviranomaisen on määrännyt muulle kuin ammatissa altistumiselle isotiatsolonien ylärajaksi ilmassa $0,05 \mu\text{g m}^{-3}$, ja työpaikka-altistumisen ylärajaksi $50 \mu\text{g OIT m}^{-3}$ ja korkeintaan $200 \mu\text{g CMT/MIT m}^{-3}$. BITille ei ole viitearvoa epidemiologisten ja toksikologisten tietojen puutteellisuuden takia (Nagorka ym 2014). Isotiatsoli-biosidit tunnetaan herkistävinä kemikaaleina jo 1980-luvulta lähtien, mutta käytön laajennuttua moniin erilaisiin kuluttajatuotteisiin, herkistymiset, allergiat ja atopiat ovat saaneet epidemialuonteen. Ihotautiklinikat eripuolilta maailmaa ovat ilmoittaneet isotiatsoli-desinfiointiaineille herkistyneiden potilaiden määrän 2-3 kertaistuneen v. 2010 jälkeen (Bregnbak ym, 2013; Cahill ym, 2013; Gameiro ym 2014; Houtappel ym, 2008; Lundov ym 2013; McFadden ym, 2013; Mose ym, 2013) (Taulukko 15) biosideilla. Rautakauppojen nestemäisistä tuotteista pääosa sisälsi (v. 2014) biosidisia lisäaineita (yleensä isotiatsoloneja). On vaikea löytää maaliala, joka ei näitä sisältäisi.

Kunnat tai niiden sopimussiivousliikkeet ostivat v. 2014 koulujen ja päiväkotien siivoukseen isotiatsolonipitoisia tuotteita, vaikka niiden herkistävät ja allergisoivat ominaisuudet ovat olleet tiedossa jo 30 vuotta (Hannuksela 1986). Ylläpitosiivousta tehdään mm. liinoilla joissa isotiatsoloneja on jo valmiiksi imeytettynä (Kuva 46). Niiden käyttöohjeissa mainitaan, että jälkihuuhtelu on ”tarpeeton”. Rakennustuotteiden sisältämät biosidiset lisäaineet kuormittavat myös sisäilmaa: vesiohenteiset maalit, tapettiliisterit, liimat, saumausaineet (Reinhard ym, 2001; Nagorka ym., 2014; Lundov ym 2014).



PUHDISTA KOMBILIINALLA

téklu
mal-
3 med
krer at
en ren-
blege,
or alle
3 efter-
rladen

Froteeliinaan imeytetty Maalariinpesu Kombiliinalle. Heti käyttövalmis. Pesulappu istuu tukevasti käteen. Puhdistaa syövyttämättä ja haalistamatta. Tuloksena on erinomainen tartuntapinta kaikenlaisille maaleille. Ei tarvitse huuhtella. Anna kuivua ja maalaa.

MAALARINPESU KOMBILIINALLE

1 liters
lasken
til ren-
t med
le med
rlader

Kombiliinassa ja käyttövalmiina pesunesteenä 1 litran astioissa. Ei laimenneta – ruiskuta suoraan pullosta kostuttaaksesi Kombiliinan, kun peset suuria pintoja. Lopeta painavien ämpärien käyttö pesussa ja huuhtelussa. Ei valumia, mieta haju.

Sisältö:

iazoa-
acid,
ster.

Fosfaatteja <5 %, 3-jodi-2-propy-
nylibutylikarbamaattia,
2-methyyl-3(2H)-isothiazolone.

6.3.3. Reaktiiviset happiyhdisteet (reactive oxygen species, ROS)

ROS-aineiden desinfiointikäyttö. Monet sisäilmaongelmaisten rakennusten tilojen saneeraukseen käytetyt menetelmät perustuvat happiradikaalien (ROS) tuottamiseen: otsoni, peroksidit (vetyperoksidi, tert-butyylhydroperoksidi ja muut orgaaniset peroksidit), hypokloriitti, fotokatalyyttinen titaani-dioksidi. Happiradikaalit reagoivat nopeasti sisäilmassa

Itiölliset mikrobit (*Bacillus*, *Paenibacillus* ja *Streptomyces* sukujen bakteerit, homeet) kestävät happiradikaaleja paremmin kuin ihmisen solut. Ihmisen soluissa happiradikaalit aiheuttavat oksidatiivisen stressin, joka on tuhoisaa mitokondrioille ja mitokondrioiden toimintakyvystä riippuville elimistön osille (neuronit ja glia-solut aivoissa, sydänlihas, kilpirauhanen, haiman saarekesolut). *Happiradikaalien tuottoon perustuvia desinfiointimenetelmiä ei voi soveltaa tiloihin joissa on ihmisiä.* Ne soveltuvat sellaisiin kohteisiin jotka voidaan käytön jälkeen tehokkaasti tuulettaa (hajujen hävitys tekstiileistä ja irtaimistoista, tupakan hajun

Kuva 46. Esimerkki biosidejä sisältävästä siivoustuotteesta Leave-on –tekniikalle (ei tarvitse huuhtelua).

poistaminen auton sisäkalusteista, hajunpoisto tuotantotiloista tyhjäkäynnin aikana, viemäritulvan jälkihoito). Fotokatalyyttinen titaanidioksidi tuottaa happiradikaaleja vain valaistuna (päivänvalo tai loisteputki). Ikkunalasin ulkopinnalla ohut titaanidioksidikerros estää tehokkaasti lian kertymisen, ja säästää siis ikkunanpesukustannuksia.

6.3.4. Kationiset tensidit ja desinfiointiaineet

Kaikki kationiset tensidit eli pinta-aktiiviset aineet ovat antimikrobisia, vaikka useimpia käytetään lähinnä niiden pesevien (lianpoisto), eikä mikrobientappo-, ominaisuuksien takia. Siivouksessa ja erilaisten sisätilapintojen puhdistuksessa saa käyttää vain niitä biosideiksi rekisteröityjä kationisia tensidejä jotka ovat mukana EU:n kemikaalien arviointiohjelman valmisteryhmässä 2 (PT = product type 2), joka tarkoittaa julkisia ja yksityisiä tiloja. (Taulukko 15).

6.4. Myrkyllisyys ja antimikrobisuus sisäilmassa

Ihminen on kaikkein haavoittuvuin keuhkojen kautta saadulle altistukselle. Haitalliset aineet, niin kemikaalit kuin mikrobien tuottamat toksinitkin, voivat hengitettynä aiheuttaa vahinkoa terveydelle annoksina, jotka ovat jopa kymmenes- tai sadasosa, siitä, minkä voisi suun kautta ilman varsinaista terveyshaittaa syödä (Taulukko 1). Tätä ei yleisesti ymmärretä, vaikka ollaankin valvotuneita elintarvikkeiden lisäaineiden mahdollisten terveyshaittojen suhteen.

Kaasumaisten ja haihtuvien aineiden, kuten formaldehydi, mahdolliset terveyshaitat osataan jo ottaa huomioon, mutta ei sitä, että haitallista hengitysteitse altistumista voivat aiheutua myös haihtumattomat aineet, joiden molekyylipaino voi olla suurikin (300 – 2000 g/mol).

Rasvaliukoiset (veteen liukenemattomat), heikosti haihtuvat aineet liikkuvat ilmassa vesihöyryn kuljettamina (Van Oss ym., 2005; Horinek ym., 2009). Tämä koskee sekä mikrobien tuottamia rasvaliukoisia ekstroliittejä (kuten toksiineja), että sisätiloissa käytettyjä kemikaaleja (mm. antibakteerisia aineita, Kuva 42) ja hajusteita (linalooli, limoneeni ym). Siten hengityselinten kautta altistuminen koskee paljon suurempaa joukkoa aineita kuin ne nimetyt VOC (volatile organic compounds) tai MVOC (microbial volatile organic compounds) yhdisteet, joille altistumiseen päähuomio on 2000-luvulta alkaen kohdistettu.

Taulukko 15. Rakennuksien ylläpidossa ja rakennusmateriaalien sekä irtaimistojen käsittelyissä käytettyjen valmisteiden biosidisiä tehoaineita. Biosidi = elion tappamiseen tarkoitettu kemikaali. Terveydelle vaarallisuuden kategoriat REACH CLP luokituksen (EY1272/2008) mukaan. Vaarallisuusluokat: 1 = tappava; 2 = tappava; 3 = vaarallinen; 4 = haitallinen. Tiedot koottu kemikaalitoimittajien käyttöturvallisuustiedoista (KTT), taulukossa mainituista EY-direktiiveistä ja julkaisuista.

Hapettavat biosidit						
Yhdisteen nimi	CAS numero	Kaava	g/mol	Muita nimiä	Ihmiselle vaarallisuutta koskeva etiketointi EC säännöksen 1272/2008 mukaisesti:	Vaaraohje, H-lauseke
natrium hypokloriitti	7681-52-9	ClNaO	74,44	hypo	Ihoa syövyttävyyys Luokka 1	H314
tert -butyyli hydroperoksidi	75-91-2	C ₄ H ₁₀ O ₂	90,12	TBHP; Luperox®	Nieltynä Luokka 4; iholla Luokka 1C; hengitettynä Luokka 3; ihoa syövyttävä, hermistävä Luokka 1; silmiä vaurioittava, voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion	H314
vetyperoksidi	7722-84-1	H ₂ O ₂	34,01		Vakava silmävaurio Luokka 1, haitallista nieltynä Luokka 4	H302; H318
Isotiat-soloniit						
2-metyyli-4 isotiat-soloni-3-oni MIT	2682-20-4	C ₄ H ₃ NOS	115,15	MIT	Nieltynä Luokka 4; Hengitettynä luokka 3; iho- syövyttävyyys Luokka 1B; myrkyllisyys iholta Luokka 3; ihon herkistyminen Luokka 1	H317 ; H302;
5-kloori-2-metyyli-4-isotiat-soloni-3-oni	26172-55-4			CMIT	Ihonsyövyttävyyys Luokka 1; ihon herkistyminen Luokka 1, hengitysteyden herkistyminen Luokka 1	H314, H317, H334,
2-oktyyli-4-isotiat-soloni-3-oni OIT	26530-20-1	C ₁₁ H ₁₉ NOS	213,34	OIT octhilinone	Nieltynä Luokka 4; Hengitys Luokka 3; Ihomyrkyllisyys Luokka 3, ihon syövyttävyyys Luokka 1B; Ihon herkistyminen Luokka 1	H302; H311+H331; H314; H317
1,2-bentsoisotiat-sol-3(2H)oni BIT	2634-33-5	C ₇ H ₃ NOS	151,19	BIT	Nieltynä Luokka 4, vakava silmävaurio Luokka 1, ihon herkistyminen Luokka 1	H302; H315; H318; H317
Kationiset yhdisteet						
polyheksametyleeni guanidium kloridi	57027-96-3	[C ₆ H ₁₅ N ₃] _n -NH ₂ ⁺ Cl ⁻	n. 700	PHMG; Akacid Forte; polyguanidi, polyheksanidi	EU:ssa kielletty 2012. Suomessa sisätiläkäytössä ainakin v. 2014 asti. Sisätilä-käyttö aiheutti 27 kuolemaa ja yli 90 pysyvästi vammauttavaa keuhkofibroosia Etelä-Koreassa v. 2011 (Lee ym 2012; Kim ym, 2014; Hong ym, 2014)	
polyheksametyleeni biguanidi	91403-50-8 32289-58-0 27083-27-8	[C ₈ H ₁₇ N ₅] _x Cl ⁻	polymeeri, vaihtelee	PHMB, polyamino-propylbiguanidi	Nieltynä Luokka 4; hengitettynä Luokka 1; silmävaurio Luokka 1; ihon herkistyminen Luokka 1B, syöpävaarallisuus Luokka 2	H351, H302; H372; H317
didekyyli-dimetyyli ammonium kloridi	7173-51-5	C ₂₂ H ₄₈ N	362,08	DDAC	NieltynäLuokka3; ihosyövyttävä ja silmiä vaurioittava Luokka1B;	H301; H314
Boorikemikaalit						
dinatrium oktaboraatti	12280-03-4	Na ₂ B ₈ O ₁₃ x4 H ₂ O	412,527		2010/72/EU; 2012/78/EU, kieltävät mikrobian torjunta sovellukset lukuun ottamatta puun suojausta sahavaiheessa tai valmiina puutuotteina.	
dinatrium tetraboraatti	1339-43-4	Na ₂ B ₄ O ₇	201,22		2010/72/EU; 2012/78/EU; kiellot kuten yllä	
boorihappo	10043-35-3	H ₃ BO ₃	61,83		2008/809/EU; 2010/72/EU; kiellot kuten yllä	

töjen mikrobien monimuotoisuutta noin v. 1913, että ”kaikkea on kaikkialla, mutta valinnat tekee ympäristö (”everything is everywhere but the environment selects”). Tämä pätee yhä. Kun ihminen muuttaa ympäristön laatua, esimerkiksi antimikrobisia kemikaaleja käyttämällä, siitä seuraa aina mikrobiomin muutos, terveyden kannalta usein haitalliseen suuntaan: biodiversiteetti (monimuotoisuus) vähenee ja biosidiresistenssi yleistyy, jopa dominoi (Taulukko 16, Kuvat 47 A,B), usein myös toksiinien tuottajat yleistyvät. – Tämä ilmiö on tuttu mm. sairaalabakteerien antibioottiresistenssistä ja toksiinintuotokyvystä (MRSA stafylokokit, *Clostridium difficile*).

Taulukon 6 ja Kuvan 47 toimistokiinteistön tulokset näyttävät, että kasvavien mikrobien (homeita) herkkyys (S) tai resistenssi (R) rakennusbiosideille oli erilaista rakennuksen eri tiloissa: rakennuksen terveyshaittaan liittyvien toimistojen ilmalaskeuman homeet olivat arseeni-, boori ja PHMB/G tolerantteja, ja sietivät jonkin verran myös tehokkainta kvaternääristä desinfiointiainetta, didekyyli-dimetyyliammoniumkloridia. Siinä osassa rakennusta, jossa terveyshaittoista valitettiin vähemmän, biosiditoleranssia esiintyi vain arseenipentoksidille, As_2O_5 . Tryptoni-soijauuteagar (TSA, tarkoitettu bakteereille) laskeumaviljelmät tutkittiin, mutta tässä rakennuksessa näille kasvoi niin vähän pesäkkeitä (0 – 3 pmg/malja) ettei tuloksista voinut tehdä päätelmiä.

Suomessa sisätalikäyttöön markkinoitujen tuotteiden antimikrobiset tehoaineet ovat kvaternäärisiä ja tertiäärisiä amiineja, guanidiini- ja tiatsolihdisteitä. Ne ovat pitkävaikutteisia, haihtumattomia ja huonosti biohajoavia, mutta vesiliukoisia. Niiden vesiliukoisia käytetään ”leave-on”, eli ”ei tarvitse huuhtelua” siivoustekniikalla (Kuvat 46). ”Leave-on” siivoukseen käytetty vesiliuos kuivuu lattian tai muiden käsiteltyjen pintojen päälle kerrokseksi, jossa tehoaineiden yhteispitoisuus kuivuneena voi olla 100% (kun se teknisessä tuotteessa saattoi olla 0,1 – 5%). Koneellisen ilmanvaihdon ylläpitämä turbulenssi, ja muu tilan käyttöön liittyvä mekaaninen rasitus, hieroo kemikaalipinnasta aerosolipölyä, joka sisäilmassa sitoutuu vesihöyryyn, ja siten on osa hengitysilmaa.

Sisäänhengitetyn ilman kosteus, ja sen kuljettamat haitta-aineet sulautuvat hengitysteiden kosteaan limakalvopintaan, ylähengitysteiden epiteeliin. Hengitysepiteelien ”puhtaanapitolaitos”, värekarvalliset (kiloidut) solut, puhdistavat hengitysepiteeliin tarttuneita kiinteitä hiukkasia (siirtäen niitä ylöspäin, nieluun) mutta eivät tehoa vesi”höyry”kuljettamaan biosidiin tai mikrobien ekstrolitiiniin. Nämä leviävät keuhkoputkien limakalvopinnoille ja luultavasti kulkeutuvat keuhkorakkuloihin (alveoleihin) saakka elleivät sitä ennen ole imeytyneet verenkiertoon.

Monet tutkimukset ovat osoittaneet, että haihtuvista epäpuhtauksista (VOC, MVOC, hajusteet) muodostuu, niiden reagoidessa sisäilman otsonin tai muiden ROS-aineiden kanssa (singlettihappi, hydroksyyli-radikaalit, peroksidit, typpioksidiradikaalit) terveydelle haitallista sekundääristä orgaanista aerosolia (SOA). Radikaalireaktiossa hajusteet (limoneeni, dihydromyrsenoli, linalooli) ja terpenoidit muuttuvat myrkyllisiksi orgaanisiksi karbonyyleiksi (Carslaw ym, 2012; 2013; Li ym., 2015; Lip ym 2013; Su ym 2013; Wu ym 2015, Fadey ym, 2015; Aubert ym., 2014; Yussefi & Waring, 2014). Näin syntyvistä karbonyyleista mm. glyoksaali ja metyylyglyoksaali tunnetaan neurotoksisina, immunitoksisina, diabetekseen ja mitokondriotoksiin (lääke) aineisiin liittyvien elinvaurioiden aiheuttajina (deArriba ym, 2006; Cai ym 2014; DiLoreto ym, 2004; Su ym., 2013).

Karbonyloituminen vähentää alkuperäisen kemikaalin haihtuvuutta (höyrynpainetta), josta seuraa että karbonyloitumistuotteet yhdentyvät haihtumattomiksi, kiinteiksi nanohiukkasiksi (McNeill 2015, Nørgaard ym 2014, Youssefi & Waring 2014, Carslaw 2013). Tästä syystä VOC aineiden, kuten hajusteet, tuominen sisäilmaan lisää sisäilman terveyshaitallisuutta, vaikka itse aineet eivät alun perin olisi myrkyllisiä (linalooli, limoneeni ja dihydromyrsenoli kuitenkin ovat). Ulkoilman (ja siten myös sisäilman) otsonipitoisuus Suomessa korkeimmillaan huhtikuussa, kun

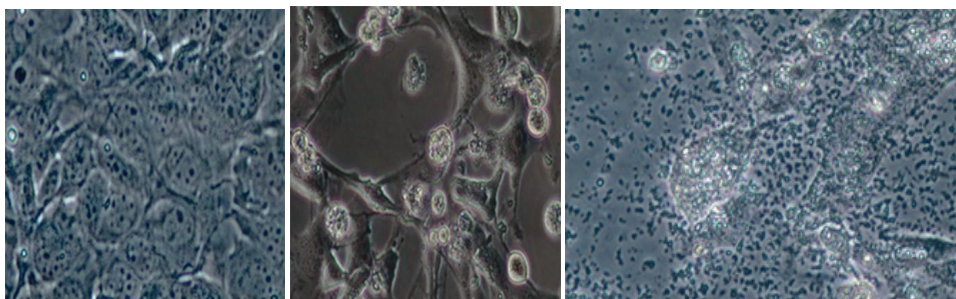
auringonvalo sitä tuottaa mutta kasvillisuus ei vielä ole vihreää. Vihreillä kasveilla on kyky sietää ja poistaa ilmasta ROS yhdisteitä. Jotkut sähkölaitteet voivat tuottaa otsonia sisäilmaan.

6.5. Terveydelle haitallisten aineiden kulkeutuminen ja muuntuminen sisäilmassa

Ihminen on haavoittuvuin keuhkojen kautta saadulle altistukselle. Aiemmin uskottiin, että vain kaasumaiset tai haihtuvat aineet, kuten formaldehydi, voivat aiheuttaa hengitystie-altistumista. 1990-luvulta alkaen kumuloitunut näyttö osoittaa, että haihtumattomatkin kemikaalit ja kiinteät hiukkaset voivat liikkua sisäilmassa aerosolina ja aiheuttaa terveydelle vakavaa vahinkoa. Ilmaväintäisyys ja mahdollisuus altistua koskee myös haihtumattomia aineita, joiden molekyylipaino voi olla suurikin (300 – 2000 g/mol), ja myös pienhiukkasia (PM10, PM 2,5).

Rasvaliukoiset (veteen liukenemattomat) aineet liikkuvat ilmassa ensisijaisesti vesihöyryn kuljettamina ("hydrophobic solvation", Van Oss ym., 2005; Horinek ym., 2009). Tämä koskee sekä mikrobien tuottamia rasvaliukoisia ekstroliittejä (toksiineja ym), että sisätiloissa käytettyjä kemikaaleja, kuten mikrobisidejä (Kuva 47) ja hajusteita (linalooli, limoneeni ym). Siten hengityselinten kautta altistuminen koskee paljon suurempaa joukkoa aineita kuin haihtuvat VOC (volatile organic compounds) tai MVOC (microbial volatile organic compounds) yhdisteet, joihin päähuomio on 2000-luvulta alkaen kohdistettu.

Nanokokoisia, vesiliukoisia hiukkasia voi uudismuodostua sisäilman haihtuvista aineista (VOC, MVOC), näiden reagoidessa reaktiivisten happiyhdisteiden (ROS) tai typpi yhdisteiden kanssa. ROS-aineita ovat otsoni, orgaaniset peroksidit, hydroksyyli radikaalit, singlettihappi, orgaaniset karbonyylit. Radikaalireaktiossa hajusteet (limoneeni, dihydromyrsenoli, linalooli) ja terpenoidit muuttuvat myrkyllisiksi orgaanisiksi karbonyyleiksi (Li ym., 2015; Lip ym 2013; Su ym 2013; Wu ym 2015, Fadey ym, 2015; Aubert ym., 2014). Näin syntyvistä karbonyyleista glyoksaali ja metyyli glyoksaali tunnetaan jo kauan ihmiselle haitallisina diabeteksen komplikatioihin liittyen.



Kuva 48. PHMG:n vaikutus keuhkosoluihin. Koiran keuhkon epiteelisoluista kasvatettua solumattoa altistettiin laboratoriossa PHMG:tä ainoana tehoaineena (0,5%) sisältävän kauppatuotteen laimennoksille. Mikroskooppikuvat otettiin 24 h altistuksen jälkeen. Altistuksiin käytetyt laimennokset vasemmalta oikealle: 5000 ×, 1000 × ja 100 ×, vastaavat pitoisuudet 0,002 mg, 0,005 ja 0,05 mg PHMG /litra. Kuvista näkee, että kauppatuotteen 1000-kertainen laimennos hajotti solumaton ja 100-kertainen laimennos tuhosi kaikki solut. PHMB:n vaikutukset keuhkosoluihin olivat samankaltaiset. Andersson ym., (2013), Helsingin Yliopisto.

Terveyden ja Hyvinvoinnin laitoksen (THL) ohjeen mukaan sisätilamikrobien näytteenotossa käytettävät välineet desinfioidaan (näytteenottojen välissä) alkoholipyyhinnällä (etanoli), jonka jälkeen etanolin annetaan haihtua pois ennen seuraava näytteenottoa. Kentällä näkee, että konsultti desinfioi laitteensa etanolin asemesta suihkeella jossa on kolme desinfioivaa biosidia: PHMB (= polyaminopropylbiguanidi), bentsalkonkloridi ja isopropanoli (Yliopiston Apteekki, 2014). PHMB ja bentsalkonkloridi ovat on haihtumattomia biosidisia kemikaaleja, isopropanoli on hitaasti haihtuva. Siten PHMB ja bentsalkonkloridi kuorruttavat näytteenottimen pinnan ja voi saattaa näytteen sisältämät mikrobit viljelykelvottomiksi, joten saatu mittaustulos on käyttökelvoton (harhaanjohtava) sisätilan mikrobiologisen kunnon arviointiin. Siihen sitä kuitenkin käytetään, koska suomalainen terveysturvallinen sen sallii (Kuva 43).

7. SISÄILMASSA ALTISTUMINEN HAITALLISILLE MIKROBITUOTTEILLE

7.1. Sisäilman kosteus

Rakennuksen sisäilman välityksellä kulkeutuville haitta-aineille altistumisen reittejä voivat olla: hengityselimet, iho, silmät. Haitta-aineet voivat ilmassa olla kaasuina (orgaanisia tai epäorgaanisia), kiinteinä aineina eli hiukkasina tai nesteinä. Tätä kolmatta vaihtoehtoa, neste, on sisäilmatutkimuksessa käsitelty harvoin muutoin kuin kastepisteenä. Rakennusfysiikassa ja siihen perustuvassa rakennussuunnittelussa lähdetään siitä, että aineet / yhdisteet joiden höyrönpaine huonetilan lämpötiloissa on matala, eivät voisi liikkua ilman kautta muutoin kuin hiukkasina, s.o. kiinteässä olomuodossa. Tämä ei vastaa todellisuutta muutoin kuin kuivassa tilassa (sisäilman kosteus 0 -20%).

Vesi on erikoislaatuinen neste, sillä on muitakin olomuotoja kuin kaasu (kiehumispisteen yläpuolella), kiinteä (jää) ja molekulaarinen neste (Van Oss 2013, 2008; Van Oss ym, 2001, 2005; Decker & Van Holde 2011). Vesi esiintyy **jäätymispisteen ja kiehumispisteen välisissä lämpötiloissa** eri kokoisina ”molekyyliparvina”, joiden fysikaalinen käyttäytyminen poikkeaa toisistaan. Tämä selittyy vesimolekyylin dipolisesta luonteesta, kun vetyatomien orbitaalit ovat 104,5° **kulmassa** toisiinsa nähden. Vesimolekyyli esiintyvät (jäätymis- ja kiehumispisteiden välisellä lämpötila-alueella) monenkokoisina molekyyliparvina, joilla on rajapinta ilman kanssa. Se rajapinta on hyperhydrofobinen (Van Oss ym, 2005) ja mahdollistaa hydrofobisten aineiden kuljettamisen ilmatilassa, ”hydrofobinen solvaatio” (Horinek ym, 2009). Klusterissa voi olla jopa 250 vesimolekyyliä. Klusterit perustuvat vetysidoksiin, niiden ”elinaika” on lyhyt, 10^{-13} s (Nemethy % Scheraga, 1962, cit. Decker & Van Holde, 2011).

Veden kykyä muodostaa klustereita, joilla on erilaiset osahöyrönpaineet, opittiin kemiassa käyttämään hyväksi jo vuosikymmeniä sitten: seosten fraktiointi vesihöyrytislauksella. Vesimolekyylien klusteroituminen selittää veden korkean viskositeetin (molekyylipainoon, 18g/mol, suhteutettuna), ja viskositeetin nopean alenemisen lämpötilan noustessa (Decker & van Holde, 2011). **Lähes kaikki homeiden ja bakteerien tuottamat toksiinit ja** muut metaboliset ekstroliitit ovat hydrofobisia yhdisteitä (Taulukko 8). Ilma/vesi rajapinta ilman puolella klusteria on hydrofobisin kaikista tunnetuista pinnoista, noin 30% hydrofobisempi kuin poolittomien nesteiden (oktaani) tai materiaaalipintojen (teflon). Ilmanpuoleisen rajapinnan hydrofobisuus selittää kontaktikulman suuruuden kun vesipisara on asettunut karkealle, poolittomalle alustalle: 174°C, joka on lähellä teoreettista maksimia (180°). Tästä syystä vesipisara vetää puoleensa poolittomia molekyylejä sekä amfifiilisten molekyylien poolitonta osaa. Vesiklusterin ilmanpuoleinen rajapinta voi hydrofobisuutensa ansiosta kuljettaa hydrofobisia molekyylejä sisäilmassa (Van Oss ym., 2005). Turbulentissa ilmassa (koneellinen ilmanvaihto, mekaanista liikettä) vesiklusterit **törmäävät** rakennuksen sisätilapintoihin. Matala ilmakosteus, RH <20%, ja lämmin ilma (>21°C, Vinha 2014), suosivat klusterin vesimolekyylien haihduntaa, jolloin hydrofobinen aines kertyy sisätilapinnoille. Jos tämä pintamateriaali on amorfista (vinyyli- ja muut muovit, synteettiset tekstiilikuidut, alkydimaalit), pinnalle adsorboituneet hydrofobiset ainekset saattavat diffusiivisesti imeytyä syvemmälle matriisiin, jolloin niitä ei enää pesemällä voi poistaa.

7.2. Siivous- ja sisäpintamateriaalien merkitys sisäilmaprosessissa

Koneellisesti ”leave-on” (=ilman huuhtelua) siivotuissa tiloissa yleisin päästö sisäilmaan on jonittomat tensidit (pinta-aktiiviset aineet). Ne ovat yleisesti käytettyjä vesiohenteisten styreenilateksi-maalien stabilaattoreita. Polyoksietyleni (PEO) pohjaiset tensidit, tunnetaan myös nimellä polyetyleni glykoli (PEG), ovat sähköisesti neutraaleja aineita. Veteen liuenneina etoksilaatti molekyylit hylkivät toisiaan (Lewis-happo-emäs hyljintä, hydrofiilinen netto repulsio) (Van Oss, 2003). Etoksilaattien käyttö pesu- ja siivousaineissa ja maaleissa alkoi 1960 luvulla. Poly-(etyleenioksidi)-pohjaiset tensidit (PEO) ovat mullistaneet vettä sisältävien teknokemian tuotteiden (siivousaineet, vesiohenteiset maalit) reologian ja teknologian. PEO-yhdisteet ovat poolittomia aineita, mutta silti vahvoja elektroninluovuttajapolymeerejä. Ne liukenevat veteen siten, että kunkin molekyylin ympärille ”tarttuu” vesimolekyylien verho, jonka seurauksena PEO molekyylit ”hylkivät” toisiaan, estäen niitä reagoimasta keskenään (Van Oss, 2003; Horinek ym, 2009; Dong & Hao, 2010). Siten PEO-yhdisteet pirstovat homogeenisen veden miljardeiksi nano”pisaroiksi”.

Laitos- ja toimistosiivouksessa käytetyt valmisteet sisältävät polyoksietyleenin alkyylieettereitä. Niiden rakenne, $\text{HO}[\text{CH}_2\text{-CH-O}]_x\text{CH}_2(\text{CH}_2)_y\text{CH}_3$, ilmaistaan kahdella numerolla CxEy : x ilmaisee eetterisidoksella olevan rasva-alkoholin (=pitkäketjuinen alkoholi) hiiliatomien lukumäärän (välillä 6 – 16). y ilmaisee etoksi- eli oksietyleni-yksikköjen lukumäärän (välillä 3 – 30). Lukuarvoilla x ja y on suuri vaikutus etoksylaatin alkyylieetterin fysikaalis-kemiallisiin ominaisuuksiin (Berthod ym 2001; Dong & Hao, 2010). Teknisessä käytössä olevien polyoksietyleni alkyyli eetterien moolipainot vaihtelevat välillä 234 g/mol (C6E3) – 1562 g/mol (C16E30), ja pitoisuudet valmisteissa vaihtelevat välillä 1 – 8% (Taulukko 16).

Kun polyoksietyleni alkyyli eettereitä liuotetaan veteen, ne omaksuvat monia erilaisia avaruudellisia muotoja: pyöreitä, sauvamaisia, pallomaisia, madon-muotoisia, kaksilamelisia tai monilamelisia vesikkelejä (Dong & Hao, 2010; Van Oss & Giese, 2010). C12E10-polyoksietyleni alkyylieetterin (626 g/mooli) avaruudellinen muoto on osoitettu sellaiseksi, että se irrottaa lämmينveristen kalvoista kolesterolin (Berthod ym., 2001), joka selittää C12E8 etoksilaatin myrkyllisyyden useille lämmينveristen soluille. Sellainen reagenssi, joka spesifisesti irrottaa solukalvosta kolesterolin, on tappava, koska solut tarvitsevat kolesterolia solukalvon toiminnan edellyttämää jäykkyyttä varten. Ilman kolesterolia solujen muoto pettää ja solukalvon toimintakanavat (jonikanavat, ravinteiden otto, kuona-aineiden poisto) lakkaavat toimimasta. Siittiösolujen liikkuvuus ja solun liike pysähtyi kun niitä altistettiin C13E8 puhdas-aineelle pitoisuudessa joka oli 1/1000 siitä mitä siivoustuotteet yleisesti sisältävät.

C12E8 ei häirinnyt suomalaisille sisätiloille tyypillisten, toksineja tuottavien homeiden (*Aspergillus*, Taulukko 2) itiöiden itämistä tai kasvua vaan jopa stimuloi sisäilmahaittaisten rakennusten joidenkin toksiniin tuottajien itiöiden itämistä ja kasvua. (Andersson & Salkinoja-Salonen, 2016). Etoksilaatit ovat hydrofobisia kostutinaaineita, jotka edistävät veden leviämistä pinnoille. Se saattaa parantaa homerihmaston kasvun edellytyksiä. Homeet itsekin tuottavat hydrofobisia proteiineja, hydrofobiineja, jotka edistävät home-itiöiden ilmalevintäisyyttä ja parantavat homerihmaston etenemistä pinnoilla (Linder ym., 2005). Homeiden solukalvo ei sisällä kolesterolia, vaan niiden kalvoja jäykistävä lipidi on ergosteroli. PEO-yhdisteiden tunnettujen fysikokemiallisten ominaisuuksien perusteella on oletettavissa että ne imeytyvät tehokkaasti amorfeihin, hydrofobisiin materiaaleihin kuten synteettiset kuidut ja kalvot, polymeeriset lämmöneristeet, pastat ja liimat, ja poistuvat niistä vain hitaasti diffuusion kautta.

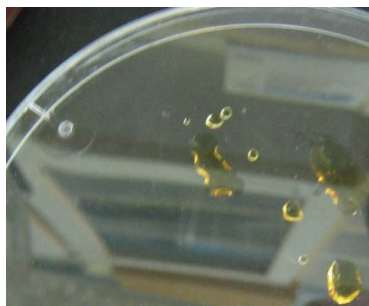
Taulukko 16. Koulujen siivouksessa käytettyjen tuotteiden sisältämiä polyoksietyksyylaatteja. Tiedot kerätty Suomessa käytettyjen tuotteiden (n=10) käyttöturvallisuustiedotteista (markkinoijien informaatio*). ** Pitoisuus on valmistekohtainen, taulukossa annettu alin ja ylin luku tästä aineistosta. Vaaralausekkeet KTT tiedotteiden mukaan: H315, ”ärsyttää ihoa”; H318 ”vaurioittaa vakavasti silmiä”; H319, ärsyttää voimakkaasti silmiä”; R41, ”vakavan silmävaurion vaara”.

Polyoksietyksyylaatte* [*]	EY vaaralausekkeet	CAS numero, EINECS	Pitoisuus valmis-teessa, paino%
alkoholi etoksilylaatti	H318, R41	34398-01-1; 121158-63-2; 127036-24-2	1 – 8%
alkoholi etoksilylaatti C9-C11	H318, R41	34398-01-1; 68439-46-3; 02-2119549270-44-0000	<5%
alkoholi etoksilylaatti	H318; R22-41	127036-24-2	5 – 8%
isotridekanoli etoksilylaatti6-EO	H318, R41	699011-36-5; 02- 2119552461-55xxxx	1 – 5%
isodekanoli etoksilylaatti	H318, R41	121158-63-2, 9043-30-5	1 - 2 %
rasva -alkoksilylaattit	H318, R41	ei ilmoitettu	1 –< 3%
2-etyyliheksanoli etoksilylaatti	H318, R41	26468-86-0	1 – 5%

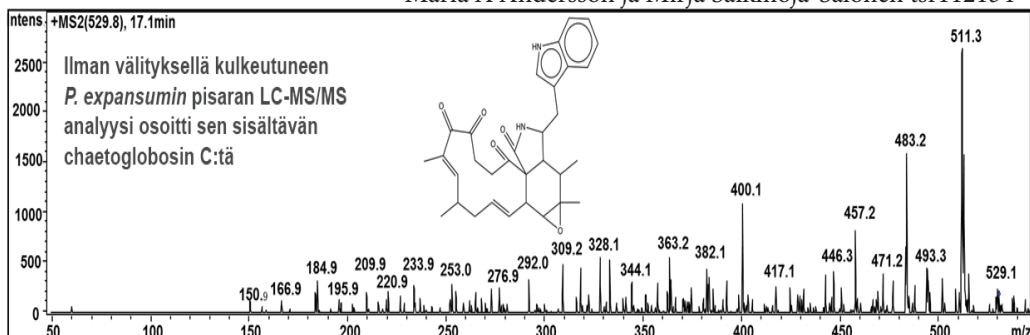
7.3. Rakennusten mikrobit erittävät bioreaktiivisia tuotteita nestepisaroina

Yleinen uskomus on, että homeet levittäisivät toksiinejaan itiöiden mukana, kiinteinä hiukkaina. Kokeellista näyttöä siitä ei ole julkaistu. Itiöistä löytyy toksiineja, mutta pitoisuudet itiöissä ovat samoja tai vähäisempiä kuin rihmastossa. Kasvipatologiset tutkimukset olivat ensimmäisiä, joissa esitettiin tutkimusnäyttö siitä, miten kasvitauteja aiheuttavat homeet erittävät toksiinejaan ympäristöön: nestepisaroina, joita tuuli levittää sairastuneista kasveista terveiden asvien pinoille (Ivanoff, 1963; historia: ks. Gareis & Gareis, 2007). Lehden pinnalle päätyneet pisarat (”guttation droplets”) hajosivat, niiden sisältämät toksiinit tappoivat kasvisolukkoa jolloin kasvin pintaan muodostui nekroosiläiskä, aukko kasvin sisään. Siis reikä, joka on pääsyreitti homeiden itiöille päästä elävän kasvin solukkaan ja lisääntyä siellä (Katsaus Singh, 2014). Sittemmin havaittiin, että kasvipatogeeniset bakteerit toimivat samoin: *Clavibacter michiganense* bakteerin eritepisarat huomattiin kasvihuoneissa, ja kun selvitettiin niiden merkitystä, jäljitettiin syy tomaattiviljelmää vaivanneeseen epidemiaan (Sharabani ym., 2013). Homeiden toksiinipisararat (vesicles) sisälsivät myrkyn lisäksi myös kasvukykyisiä itiöitä ja ”peruspaketin” ravinteita, matkaeväät siis (Singh, 2014).

Laboratoriossa homeiden erittämien toksiinivesikkelien (guttation droplets) pioneeritutkimusta tekivät Gareis & Gareis *Penicillium nordicum* ja *P. verrucosum* lajeilla, joista jälkimmäinen esiintyy myös ”hometaloissa” (Gareis & Gareis, 2007). Tämän raportin tuottaneen tutkijaryhmän jäsen, Johanna Salo, raportoi ensimmäisen sisäilmahomeen, *Penicillium expansum*, toksiineja sisältävistä vesikkeleistä Aalto Yliopiston Rakennustekniikan diplomityössään (Salo, 2014). Tätä homeetta kasvoi sisäilmaongelmaisen, suuren toimiston seinien korkkilevyeristeissä (useita rakenne-avauksia). Myöhemmin tutkittiin suomalaista, moneen kertaan homesaneerattua eteläsuomalaista koulua, jonka kaikki luokkatilat olivat *P. expansum*in valloittamia ja toista oppilaitosta jossa sama laji oli pääasiallinen löydös (Salo ym., 2015). *P. expansum* homeen erittämiä vesikkeleitä kerättiin mikropipetillä suoraan viljelymaljalta toksisuustutkimukseen.



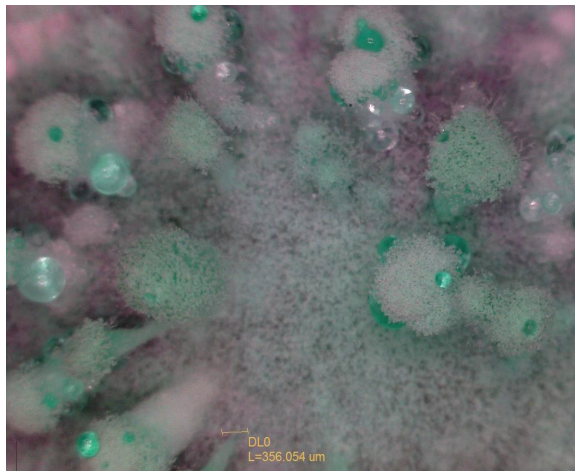
Kuva 49. *Penicillium expansum* P61 pesäkkeet erittivät kullankeltaista nestettä (a, b, d), joka fluoresoi mustavalossa vihreänä (c) (kuva 50). Kun viljelymaljan ja sen kannen (d) välille tehtiin lämptilagradientti (kantta jäähdyttäen, sitä avaamatta), niin keltaisia pisaroita nousi viljelymaljalta ylös, maljan sisäpuoliseen kanteen ylittäen ilmassa noin 8 mm etäisyyden. Sinne nousi maljasta myös vesihöyryä, jonka pisarat erottuvat *P. expansum* homeen ”lähettämistä” vesikkeleistä sillä, että ne ovat värittömiä eivätkä fluoresoi (Kuva 23). Raimo Mikkola, Johanna Salo, Maria A Andersson ja Mirja Salkinoja-Salonen tsr112134



Taulukko 17. Sisäilmahaittaisen rakennuksen työtiloista viljeltyjen pölymikrobien pesäkkeiden toksisuusmittauksia: enemmistö tuotti toksisia ekstrolyyttejä. Toksisiksi osoitetut lihavoitu. Tsr112134, Maria Andersson & Johanna Salo

Työtila #	Tutkittuja pesäkkeitä yhteensä:	Toksisia lkm /%	Tunnistettut lajit (n=)
#31a	30	26/ 87	<i>Aspergillus versicolor</i> * (13), <i>Aspergillus ustus</i> * (4), <i>Chaetomium sp</i> * (5), <i>Penicillium expansum</i> * (3), <i>Acrostalagmus sp</i> * (2)
#31b	6	5 / 83	<i>Penicillium sp.</i> * (9)
#35	16	10/ 75	<i>Aspergillus versicolor</i> * (9)
#46	11	11/ 100	<i>Chaetomium sp</i> * (malja täynnä)
#45b	7	7 /100	<i>Chaetomium sp</i> * <i>Aspergillus niger</i> *
yhteensä	70	59/ 84	
#34	5	0 / 0	<i>Rhizopus sp</i> (malja täynnä) <i>Penicillium sp</i>

Ne osoittautuivat toksisiksi vielä 1000 – 10 000 kertaaisesti laimennettuinaakin, kaikille käytetyille solulajeille: sian munuaisten tubulusepiteelisolu PK15, sian siittiö, kissan keuhkosolu FFL, ja hiiren neuroblastoma solu (hermosolu). LC-massaspektrometrisessä analyysissä vesikkeleistä löytyi kommunesiinejä A,B,D ja ketoglobosiinia. Analyysitulokset osoittivat, että vakavasti sisäilmaongelmaisesta rakennuksesta eristetty *P. expansum* kanta eritti väkevää toksista nestettä viljelymaljalla kasvaessaan. Se sisälsi kommunesiiniä A, B, D ja ketoglobosiinia (Kuva 49). Nämä tulokset ovat tiettävästi ensimmäisiä jossa on näytetty väkevien , toksikologisesti merkityksel-



Kuva 50. 360 nm valaistuksessa (musta- valo) otettu valokuva rakennuksessa tok- siineja tuottavasta homeesta. Pintojen kos- tuessa tämä *Penicillium expansum* home tuotti toksineja sisältäviä, vihreänä fluo- resoivia pisaroita, jotka herkästi irtosivat kasvupaikaltaan ilmaan. Laboratorioissa tutkittaessa havaittiin, että mekaaninen kosketus ja pienen lämpötilaeron ($\pm 5^{\circ}\text{C}$) aiheuttama ilmavirta lennätti pienet pisarat liikkeelle ja pirstoi isompia pisaroita pie- nemmiksi. Koskettaessaan toisiaan pisarat saattoivat taas fuusioitua isommiksi. Ilman ollessa turbulenttia (koneellinen ilman-

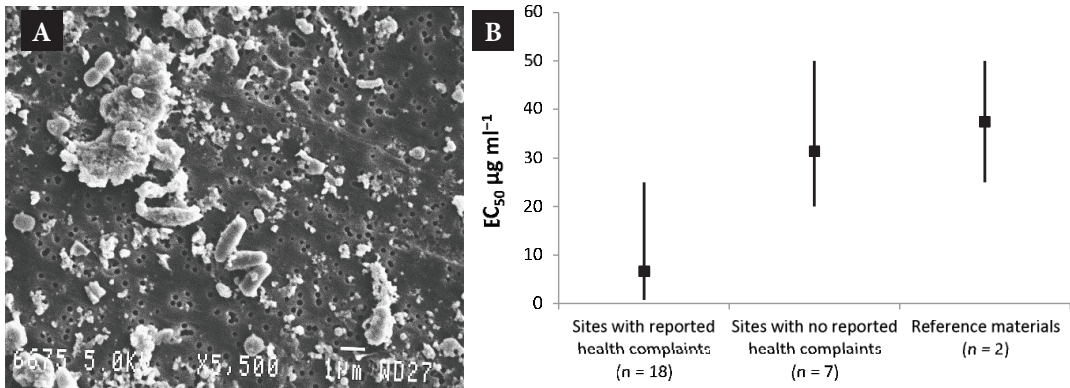
vaihto) ne todennäköisesti pirstoutuvat ja kulkevat ilmavirran mukana. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto.

listen toksinimäärien emittoituminen homekasvustosta suoraan sisäilman läpi muovipinnalle (maljan kansi). Samoja toksineja oli aiemmin löytynyt *P. expansum* elintarvikehomeiden kas- vustoista Tanskassa (Andersen ym., 2004).

Sisätilan kosteutta on Suomessa katsottu syypääksi homekasvustojen muodostumiseen. Mutta, kuten kuvista 49 ja 50 nähdään, sisäilman kosteuden merkitys saattaisikin olla siinä, että se kuljettaa hometoksineja tai haitallisia kemikaaleja sisäilmassa. Testasimme tätä hypoteesiä keräämällä tiivistevettä sisäilmaongelmaisen toimistotilan ilmasta. Keräys tehtiin asettamalla kylmälevy (Peltier levy tai kuivajäillä (täytetty teräslaatikko -70°C), huoneen pöydälle. 45 min – 1.5 h kuluttua kuivajäät kopistettiin pois teräslaatikosta /levyn annettiin sulaa, ja saatu tiivistevesi kerättiin talteen. Saadut vesisaaliit, 7 - 68 ml, haihdutettiin lämpölevyllä. Haihdutusjäännös pun- nittiin (oli yleensä muutamia milligrammoja) ja liuotettiin etanoliin analysejä varten.

7.4. Mikrobitoksisuus sisätiloissa: lyhyt historia

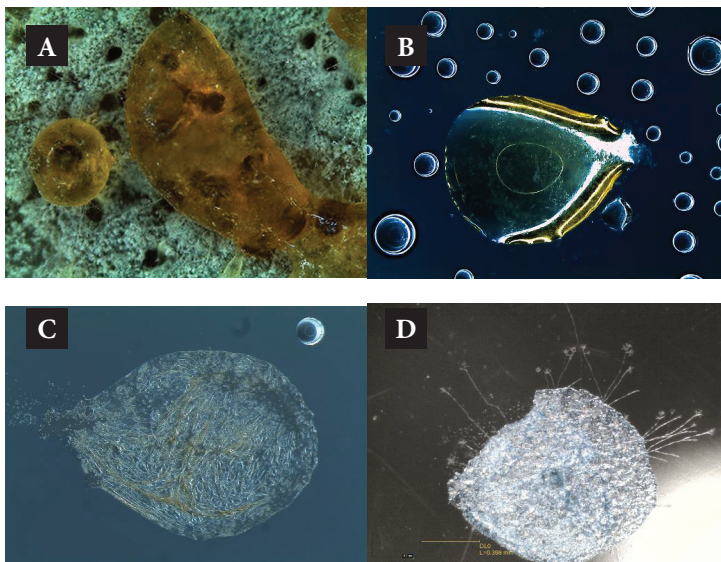
Viime vuosisadan lopulla saatiin ensimmäiset konkreettiset mittaustulokset siitä, että sisäil- maan liittyvä sairastelu Suomessa voi liittyä rakennuksen mikrobien sisätiloissa emittoimiin toksineihin (Andersson ym. 1997; Andersson ym., 1998, Andersson 1999). Sisätilatoksiinien tuottajiksi osoitettiin *Stachybotrys chartarum*, *Penicillium*, *Aspergillus* spp ja *Streptomyces griseus* (Andersson ym., 1997, 1998), joiden lajitunnistukset ja toksinien kemialliset rakenteet ovat sittemmin varmistuneet. Vuonna 2016 Stina Rasimus, osoitti väitöskirjassaan merkittävästi verrokinäytteitä suurempaa toksisuutta suoraan terveyshaittaisten sisätilojen pintanäytteistä (Kuva 51), ilman edeltävää viljelyä tai toksisuutta vaimentavia käsittelyjä, kuten näytteen siir- telyä muoviastiasta toiseen, joka vaikuttaa mittaustuloksiin koska muovit ovat rasvaliukoisten toksinien sorbentteja (Andersson ym 2010). Oleelliset työkalut toksisuuden osoittamisprosessin onnistumiselle olivat i. siittiösolu, joka on sekä helposti saatavilla (keinosiemennysasemat) ja on herkkä mittari mitokondriotoksisille mikrobimyrkyille (siittiön liikkuvuudesta, Andersson ym. 1997, Vicente-Carrillo ym., 2014) , ja ii. se, että keskityttiin lämpökestoisiin ($+100^{\circ}\text{C}$), liuotin- liukoisiin toksineihin. Näin vältettiin taustakuormaa ja häirintätekijöitä sisätiloissa esiintyvistä monenmoisesta liasta ja mikrobien tuottamista monenlaisista muista aineenvaihduntatuotteista.



Kuva 51. Elektronimikroskooppikuva nukleporisuodattimelle kerätystä ilmapölystä (vasen) ja kootut toksisuustulokset sisätilapintänäytteiden suorasta toksisuusmittauksesta (Andersson ym., 2010). Nukleporikalvon huokosten läpimitta on 0,2 µm (200 nm). Mittajana 1 µm (0,001 mm). Kuvassa A näkyvät grillimakkaran muotoiset hiukkaset ovat bakteerisoluja (1 µm × 2 µm). Pääosa hiukkasista on hienopölyä, suuruusluokkaa 0,1 – 0,2 µm. Kuva B on yhteenveto toksisuuden määrittämisestä sisätilapölyjen liuotin uutteista (etanoli, metanoli). Sisätilojen pyyhintänäytteiden ominaistoksisuus oli suurempi (=EC₅₀, µg liuotinliukoista jaetta per ml altistettuja soluja oli pienempi) työ-, opetus-, ja päiväkotitiloissa (n=18) – joissa koettiin sisäilmaan liittyviä, vakavia terveyshaittoja, kuin vastaavalla tavalla tutkittujen pyyhintänäytteiden tiloista, joissa ei merkittävästi oireiltu. Toksisuus mitattiin siittiöiden (27 milj siittiötä/ml) liikkuvuuden menetyksenä. Maria Andersson, Stiina Rasimus-Sahari, Douwe Hoornstra, Mirja Salkinoja-Salonen, *Tsr112134* Helsingin Yliopisto. (Andersson ym. 2010 julkaisemat numerotulokset koonnut piirroksen Stiina Rasimus- Sahari, väitöskirja (2016).

Kaikki mikrobit tarvitsevat kosteutta kasvaakseen, mutta ulkoista kosteutta ei välttämättä tarvita paljon: mikrobit, kuten kaikki muutkin eliöt, uloshengittävät vesihöyryä. Tiloissa, joissa rakennusmateriaalin kuivuminen on estettynä (höyrysulut, muovit), mikrobimassa pitää itse itsensä kosteana, koska muovit läpäisevät hapetta paremmin kuin vesihöyryä. Suomalaisissa ”homealoissa”, joissa vahvasti terveyshaittaoireiltiin, yleisimpiä toksiinituottajia olivat *Aspergillus*, *Penicillium* ja *Paecilomyces* lajit, *Chaetomium* (Taulukko 2). Näiden lisäksi yleinen löydös oli *Trichoderma atroviride*, jonka elämäntapa havaittiin useissa rakennuksissa parasitiittiseksi: sen itiöt itivät parhaiten maljalla jossa jo on muitakin homeita. Muutamassa viikossa *T. atroviride* saattoi olla enää yksin maljalla: se oli käyttänyt toiset homeet ravinnokseen. Tämä ilmiö voi selittää se, miksi se on yleinen koneellisesti ilmanvaihdetuissa tiloissa

”Home- ja kosteusvaurio” on Suomessa sanapariksi vakiintunut ilmaisu. Siinä oletetaan, että kosteus sinänsä olisi terveydelle haitallista. Laajimmassa koskaan Euroopassa toteutetussa koulujen sisäilmahaittaisuutta tutkineessa EU-hankkeessa (HITEA) raportoitiin suomalaisten koululaisten hengitystieoireet yleisemmiksi kuin Espanjassa tai Hollannissa (Borras-Santos ym., 2013, Jacobs ym 2014). HITEA-hankkeeseen valituista kouluista kerättiin sisäilman pölyä 8 viikon ajan, useita jaksoja per koulu, ja tutkittiin siitä glukaania, gramnegatiivien bakteerien endotoksiinia, ja DNAta eri mikrobiryhmille suunnatuilla PCR-alukkeilla. Pölyt kerättiin passiivikeräyksenä sähköstaattisille liinoille, joista ne imuroitiin ja suspensoitiin veteen mikrobimarkkerien ja DNA:n PCR analyysiä varten. Glukaania ja endotoksiinia löytyi Espanjan ja Hollannin kosteusvauriokouluista löytyi kaikkia tutkittuja parametrejä (eri home- ja bakteeriryhmien



Kuva 52. *Penicillium expansum* toksiinivesikkelin lentomatka. Suuri, keltaista toksista nestettä sisältävä pisara ($\varnothing \sim 1,3$ mm) eli vesikkeli irtosi homeen kasvupinnalta ilmaan (A). Se sekoittui sisäilman vesihöyryyn tai törmäsi ilmassa liikkuessaan sisätilapintaan (B). Sen ympärillä on pieniä pisaroita sisäilmasta tiivistynyttä vesihöyryä, mutta toksiinivesikkeli ei fuusioitunut niihin, vaan se repesi ja kuivui kokoon veden haihduttua (C). Kuivunut vesikkeli on imenyt vesihöyryä ilmasta sen verran että sen sisältämät homeitiöt ovat voineet germinoitua (itää) (D). se tarttui pintaan, repesi auki, sisältö levisi pinnalle (C). Vesi haihtui toksiinivesikkelistä ja sen toksinen sisältö jäi sisätilapintaan (D). Maria Andersson, Helsingin Yliopisto, Johanna Salo, Aalto Yliopisto..

DNA, endotoksiini, glukaani), 10 – 50 kertaiset määrät suomalaiskouluihin verrattuna. (Jacobs, Borrás-Santos, Krop ym., 2014). HITEA hankkeessa tutkittiin yli 700 eri parametria kustakin koulusta, näytteitä oli tuhansia. Koululaisia (6 – 10 v) joiden terveyttä tutkittiin verrattavaksi löydöksiin, oli lähes 10 000. Korrelaatioita ei markkerien ja terveyshaittojen välillä löytynyt.

Tutkimustulosten vertailu Suomen ja Kanadan välillä eivät liioin tuoneet tukea ilmaväestöjen propaguulien (itiöiden) määrän, mikrobiperäisten haihtuvien orgaanisten aineiden (VOC) määrän tai laadun, ratkaisevalle merkitykselle terveyshaitan aiheuttajina.

Mikrobien tuottamia ekstroliitteja (toksiineja) on määritetty sekä aktiivisesti että passiivisesti kerätyistä pölyistä kemian menetelmin (massaspektrometria, LC/MS/MS). Kirjavainen ym (2015) mittasivat 93 asunnon olohuoneen lattiapölystä 333 eri mikrobimetaboliitin läsnäoloa. Asunnoista 15:ssä oli olohuoneen kosteusvaurio. 333:sta etsitystä mikrobimetaboliitista 65 löytyi (keskimäärin 17 kpl/asunto), mutta minkään niistä, määrä tai summat ($4 - 865 \text{ ng/m}^2$) ei korreloinut kosteusvaurioon, homeisuuteen. Sensijaan yli 10 ng/m^2 pitoisuudet näyttivät suojavan alle 6-vuotiaita lapsia astmalta.

HITEA hankkeessa mitattiin yläpölynäytteistä 186 metaboliittia, 105 kosteusvauriokoulusta, 124 verrokkikouluista ja 9 muusta koulusta (Peitsch ym., 2012). Tulokset osoittivat, että vauriokoulujen pölyissä oli suurempi lukumäärä eri metaboliitteja kuin verrokkikouluissa, ja tulos oli merkitsevä koko aineistolle, vaikkakaan ei minkään maan tasolla (Suomi, Hollanti, Espanja). HITEA tutkimuksessa havaittiin, että *bakteerin endotoksiinin määrä koulupölyssä oli käänteisesti verrannollinen astmaan sairastuvuuteen 0 – 10 vuotiailla lapsilla*, eli antoi suojaa astmaa vastaan (Tischer ym., 2015). HITEA hankkeessa tutkittiin hypokloriitti-pohjaisen

desinfointiaineen käyttöä kodeissa ja havaittiin, että infektioiden esiintyvyys (yksi tai toistuvia hengitystie ym. infektioita) oli yleisempää lapsilla, joden kotona desinfioitiin hypokloriitilla Espanjassa ja Hollannissa (Casas, Espinosa, Borrás-Santos ym 2015), mutta Suomessa hypokloriitin käyttäjiä oli liian vähän asian tutkimiseksi. Hypokloriitti on lyhytvaikutteinen epäorgaaninen desinfointiaine. Suomalaisten supermarketituotteiden desinfiointitehoaine on useammin pitkävaikutteinen orgaaninen antimikrobinen biosidi.

Kasvitauteja aiheuttavat homeet / sienet erittävät toksinejaan kasvien pintoihin nestepisaroiden muodossa (katsaus: Singh & Singh, 2014): *Stachybotrys chartarum*, *Penicillium nordicum*, *Chaetomium globosum* päästävät sisäympäristöön megatoksisia minipisaroita, jotka sisältävät roridiini A -toksiinia jopa $0,4 \mu\text{g} / \mu\text{l}$ pitoisena, eli $0,4 \text{ mg/ml}$. Pisaroista mitatut roridiini A -toksiinin pitoisuudet ylittivät 100 – 1000 kertaisesti saman homeen itiöistä löydetty pitoisuudet (Gareis & Gottschalk 2014, Gottschalk ym 2008; Amuzie ym 2010; Corps ym 2010). *Stachybotrys chartarum* tunnetaan myös kasvipatogeeninä lajina (aiheuttaa sairautta viinirypäleissä).

Helsingin Yliopiston ja Aaltoyliopiston tutkimusyhteistyössä v. 2013-2014 havaittiin, että useat vakavasti sisäilmahaittaisissa suomalaisissa rakennuksissa esiintyneet myrkylliset homeet (Taulukko 16) erittivät toksiininsa nanopisaroina suoraan sisäilmaan, Kuva 50 (Salo, 2014; Salo ym., 2015).

Kun rakennuksessa oli toksineja tuottavia homeita, pintojen kostuessa ne tuottivat toksineja sisältäviä pisaroita jotka herkästi irtosivat kasvupaikaltaan ilmaan. Laboratoriossa tutkittaessa havaittiin, että mekaaninen kosketus pirstoi pisaroita pienemmiksi. Yhteen osuessaan pisarat saattoivat taas fuusioitua isommiksi. Ilman ollessa turbulentsia (koneellinen ilmanvaihto) pisarat todennäköisesti pirstoutuvat ja kulkevat ilmapirran mukana. Kuvassa 52 on kuvattu tapahtumasarjaa, jossa kuivaan pintaan osunut ekstroliittipisara puhkesi ja sen sisältämä vesi kuivui muutamassa sekunnissa. Toksinen aine jäi törmäyspaikkaan, muodostaen siihen toksisen pinnan. Kuvassa 52 näytetty tapahtumasarja kertoo mitä tapahtuu toksiinipisaroille, joita *Penicillium expansum* kasvusto lähettää sisäilmaan. Jos sisäilma on kostea, toksiinipisarat kohtaavat lähinnä vesihöyryä ja saattavat poistua sisätilasta sen mukana. Jos sisäilma on kuivaa, toksiinipisara törmää ilmanvaihdon turbulenssin myötä johonkin kuivaan pintaan, kutistuu veden haihtuessa, kuivuu ja jää pintaan.

Jos sisäilmaa myrkyttävät mikrobit emittoivat toksinejaan ekstroliittivesikkelinä, niin voi olla mahdollista että pisarat pirstoutuvat ilmanvaihdon aiheuttaman turbulenssin myötä ja voivat kulkea sisäilman vesihöyryn mukana tilasta toiseenkin. Tämän hypoteesin testaamiseksi kondensoimme kylmälevyteknikalla (Johanna Salo, 2014) sisäilman kosteutta nesteeksi ja tutkimme keräsimme terveyshaittaoireisista ja verrokkitiloista vesihöyryä kondenssaatiksi ja tutkimme sen toksisuutta solutoksikologisilla testeillä (Taulukko 8).

Taulukon 18 tulokset osoittavat, että vakavien terveyshaittojen takia tutkittujen toimistotilojen (R35, R45b, X) sisäilmasta kerätyt tiivistevedet sisälsivät nisäkässoluille toksisia aineita. Joistakin tiloista saadun tiivisteen toksisuus oli vesiliukoista, osa liukeni haihdutus-väkeväinnin jälkeen etanoliin mutta ei veteen. Tulokset osoittivat, että toimistoista R35, R45b, ja opetustiloista B114, X1, X2 saadut kondenssivedet olivat myrkyllisiä siittiöille (R35), hiiren hermosoluille (MNA) ja sian munuaisepiteelisoluille. Koska keuhkojen kautta saatu altistus on lämmönvaihtamisella yleensä haitallisempi kuin vastaava altistus kehon muissa osissa, tulosten perusteella on odotettavissa, että sisäilman vesihöyryn mukana todella liikkui näissä tiloissa ainesta, joka voi olla hengitysmyrkyllistä.

Taulukko 18. Sisäilmakondensaattien toksisuus hermosoluilla, munuaisepiteelisoluilla ja siittiöillä mitattuna. Vesinäytteet kerättiin kondensoimalla sisäilman vesihöyryä kylmälevytekniikalla suoraan sisäilmasta. R-näytteet olivat toimistoja, B-näytteet luokkatiloja, joissa oli ilmanpuhdistimet, x-näytteet muita oppilaitostiloja. Toksiset löydökset on **lihavoitu**. kp, kuivapaino. Tsr112134, Maria Andersson, Raimo Mikkola, Johanna Salo, Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto.

Tutkittu näyte	Haihdutus jäännös, mg kp	Liuotin	Testisolu MNA (hermo)	Testisolu PK-15 (munuais)	Testi solu siittiö	Viite
			Tehollinen toksisuus, EC ₅₀ µg/ml			
Referenssivesi	0,4	vesi	≥100	≥100	≥50	*
B260, Sipoo	0,6	vesi	≥100	≥100	≥50	*
B260, Sipoo	1,0	etanoli	≥200	≥200	≥100	*
R35, Espoo	1,0	vesi	10	80	15	*
R45b Espoo	1,3	etanoli	108	215	>108	*
R45b, Espoo	0,3	vesi	13	50	>25	*
B114, Sipoo	0,33	etanoli	25	50	>25	*
X1, Vantaa	0,3	vesi	25	≥100	>25	tämä työ
X2, Vantaa	0,3	etanoli	20	40	>83	tämä työ

* Viite: Johanna Salo (2014) ”Rakennuksen homeiden aineenvaihduntatuotteiden mittaamiseen perustuvan analytiikan kehittäminen”, Diplomityö, Rakennustekniikan laitos, Aalto yliopisto

7.5. Sisätilahomeiden nestemäiset, toksiset emissiot rakennusnäytteistä

Kun tutkittiin suoraan rakennusmateriaalinäytteistä antamalla niille kosteutta ja ravintoa, havaittiin nopea (1 – 3 vuorokaudessa) vesikkelien muodostus. Erityisesti ilmanvaihtokoneiden pölyistä ja pinnoilta kerätyt näytteet tuottivat suuria kymmeniä – satoja vesikkeleitä/mm², jotka osoittautuivat sisältävän toksista nestettä. Fluoresenssilampun (360nm, kuva 50) valossa tarkas-



400 µm

200 µm

200 µm

Kuva 53. Sisäilmahaittaisten kohteiden näytteistä kasvaneiden viljelmien (mallas-agar) toksisten ekstroliittivesikkelien tuottoa. Vesikkelejä muodostuu sekä konidioforien että rihmaston alueilla. Mittajana näyttää miten eri kokoisia vesikkelit ovat. Koko ei ole vakio, vaan muuttuu koko ajan vesikkelien fuusioidessa tai dispergoituessa. Maria Andersson & Mirja Salkinoja-Salonen, Helsingin Yliopisto.

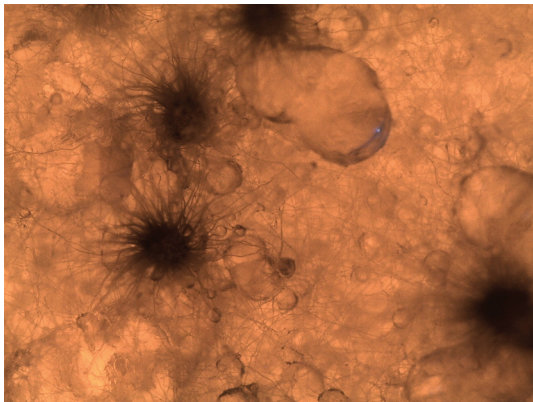
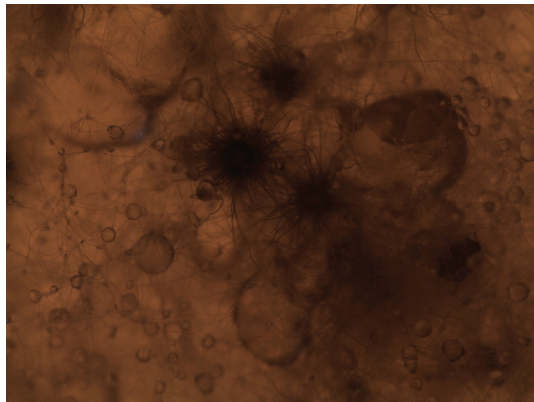
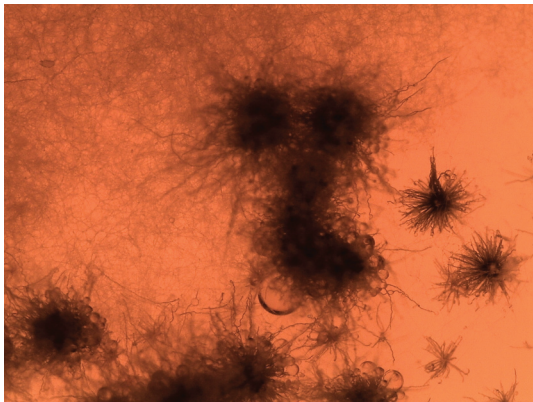
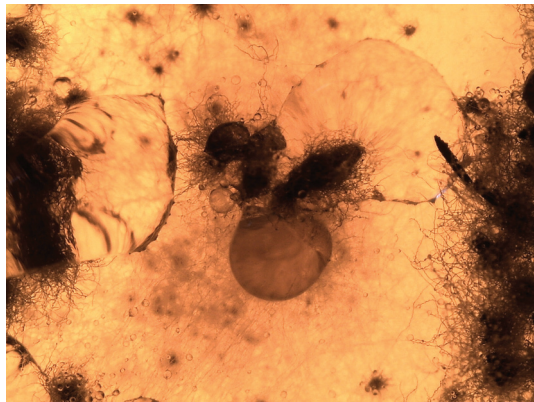
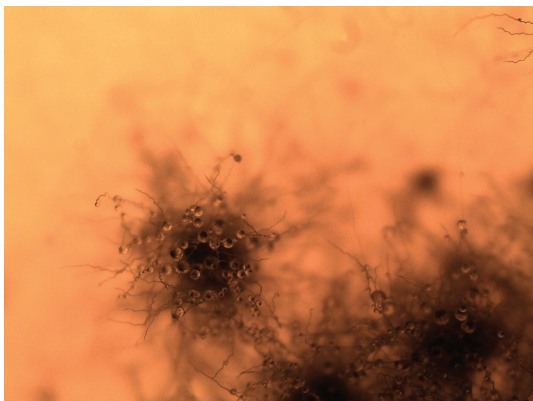
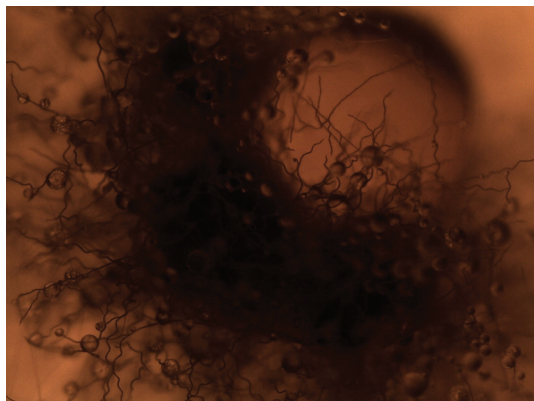
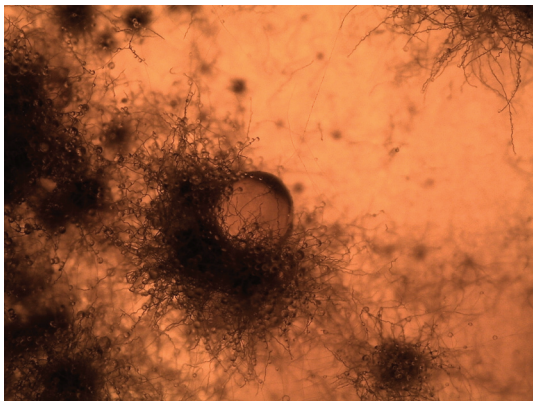
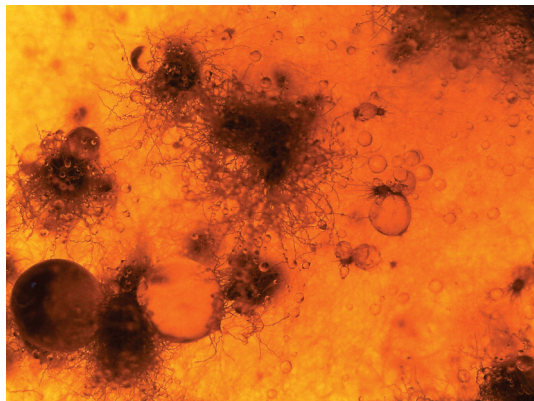
teltuna suuri osa vesikkeleistä sisälsi fluoresoivaa nestettä (vrt. Taulukko 2). Joissakin tapauksissa oli mahdollista fluoresenssiemission väristä alustavasti päätellä, mitä toksinen home mahdollisesti oli kyseessä. Vesikkeliön tuotto jatkui viljelymaljalla (kansi umpeen teipattuna) päiväkausia, kun sitä päivittäin kerättiin pois. Jatkuva tuotto osoittaa että ilmiö on biologinen eikä koostu esim. suodatinnäytteisiin kertyneestä kosteudesta. Toksisuus todettiin siittiöiden liikkuvuustestillä (Andersson ym., 2010).

Kuva 54 (seuraava sivu). Kooste sisäilmaongelman koulun IV koneen tuloilmasuodattimesta pursuavista, nestevesikkeleistä kaksi päivää sen jälkeen in palasia suodattimista asetettiin maljas-agar maljalle, joka teipattiin umpeen. Kuvasarja näyttää siltä kuin että suodatin olisi lähinnä yhden hometyypin, *Chaetomium*-suvun kolonisoima, joka näyttää tässä olevan tavattoman tuottelias toksisten vesikkeliön tuottaja.

Kuvia 50, 53 ja 54 katsellessa voisi ajatella, että kun tuloilmasuodattimeen tulee ulkoilmaa hyvinkin kosteana, suodattimessa on jo valmiina kasvusto, joka pystyy nopeasti hyödyntämään tuloilman tuoman kosteuden ja sen mukana (vähäiset) ravinteet. Kun suodatinta tarkasteltiin mikroskoopissa ennen maljalle panoa, siinä oli lähinnä suuri massa itiöitä ja jonkin verran rihmastoja ja erilaista ”rojuja”.

Tällaisia tutkimuksia voisi tehdä kun selvitetään, mikä jotakin rakennuskohdetta riivaa, mistä päin rakennusta ne terveydelle haitalliset mikrobituotteet tulevat, ja miksi ne asustavat juuri siellä, missä ne näyttävät asustavan. Poistoilmasuodattimissa olemme harvoin *Chaetomiumia* nähneet runsaana, vaan lähinnä toksisia *Trichoderma* homeita (*T. atroviridae* ym), jotka ovat maljoilla käyttäytyneet mykoparasiittisesti. Sitä ne ehkä tekemät rakennuksessakin: käyttävät ilmanvaihtokanavaan pesiytyneitä tai sinne joutuneita homeita ravinnoksi.

Sekä *Trichoderma* että *Chaetomium* on tolerantti monelle homesaneeraus-tuotteelle. On syytä tutkia niiden roolia IV-laitteistossa sisäilmaongelman synnyssä ja hallinnassa.



8. SISÄILMAAN LIITTYVÄ SAIRASTAMINEN

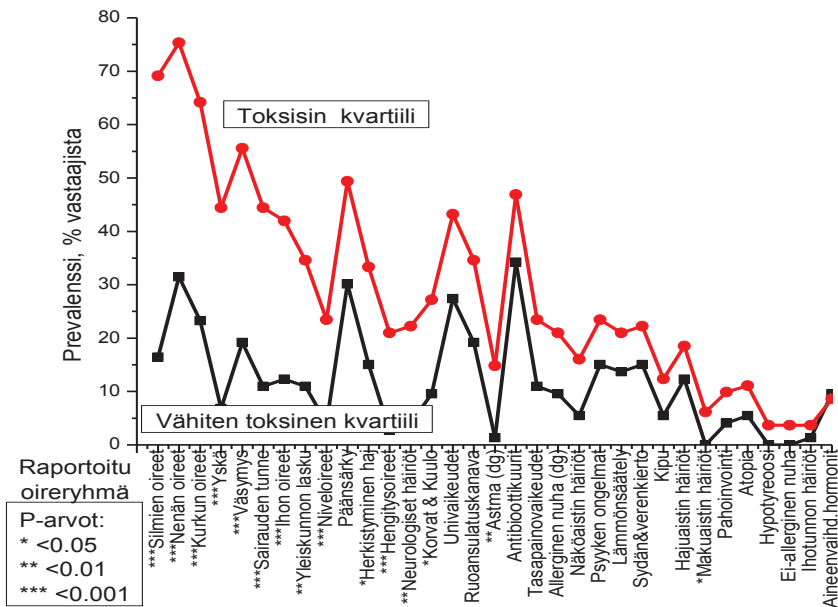
8.1. Sairastaminen kouluissa

Koulujen ja päiväkotien sisäilmaongelmat ovat erityisen tärkeitä siksi, että siellä ei altistu vain yksi ammattikunta, vaan koko seuraava sukupolvi, joka pitäisi päästä terveenä työelämään. Opettajien ammattiliitto OAJ teki v. 2012 kyselytutkimuksen jäsenistönsä keskuudessa (OAJ julkaisu 1/2014). Se kertoo:

- kahden viime vuoden aikana 4% opettajista oli jouduttu siirtämään toisiin tiloihin sisäilman aiheuttamien terveyshaittojen takia;
- viime kahden vuoden aikana rehtorien mukaan 5 % sisäilmaongelmien johdosta sairastuneista opettajista, työsuojeluvaltuutettujen mukaan 9%, ei pystynyt työskentelemään tiloissa korjausten jälkeenkään.

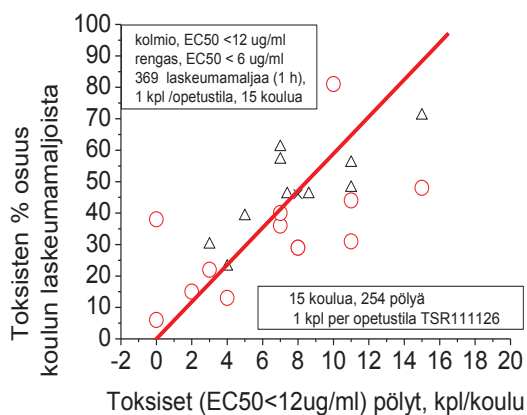
Valtakunnan tasolla kyse on tuhansista sisäilman takia vammautuneista opettajista.

Helsingin Kaupungin kiinteistövirasto, Helsingin Yliopisto ja InspectorSec Oy tutkivat sisätiloista kerättyjen pöly ja mikrobinäytteiden toksisten ominaisuuksien yhteyttä terveyshaittaoireisiin Helsingin kouluissa. Tutkimusta varten kiinteistövirasto valitsi 15 koulua eri puolilta kaupunkia, eri ikäisiä ja erilaisilla rakennustekniikoilla toteutettuja kouluja. Jokaisen koulun jokaisesta opetustilasta (yht. 403 kpl) kerättiin pölynäyte ja laskeumamikrobinäyte, joiden toksisuudet tutkittiin siittiötestinä (Andersson ym., 2010; Bencsik ym. 2014). Korrelaatio pölyjen ja laskeumien välillä löytyi kaikissa kouluissa, joista tutkittiin vähintään 10 työtilan pölyt. Yhtä koulua lukuunottamatta kaikista kouluista saatiin riittävä (n = 10/rakennus) määrä näytteitä.



Kuva 55. Helsingin Koulut: Henkilöstön kyselyvastaukset terveyshaittaoireista 15 koulua, 382 opettajan terveyshaittavastaukset, 244 tutkittua sisätilapölyä, 675 tutkittua sisätiloista kerättyä mikrobinäytettä. Lähteet: Salin ym., 2012a;b ja linkki: <https://tuhat.halvi.helsinki.fi/admin/files/56902790/LoppuraporttiTsr111126.pdf>.

Kuva 56. 15 koulua, 403 opetustilaa tutkittiin. Yhden tunnin laskeumanäytteen (=ilmasta maljalle laskeutuneiden mikrobien 4 viikossa muodostunut kasvusto) toksisuus korreloi luokasta kerätyn pyyhintänäytteen toksisuuteen. Kasvuston ja pyyhintänäytteen etanoliutteiden toksisuus mitattiin kykynä pysäyttää siittiöiden liike. ”Toksinen” tulos tarkoittaa EC_{50} pitoisuutta ($\mu\text{g/ml}$) joka pysäytti liikkeen yli puolella siittiöistä. Korrelaatio pölyjen ja laskeumien välillä löytyi kaikissa kouluissa, joista tutkittiin vähintään 10 työtilan näytteet. Yhtä koulua lukuunottamatta kaikista kouluista saatiin riittävä ($n=10$ /rakenus) määrä näytteitä.



Kuvista 55 ja 56 näkee, että terveyshaitoissa oli melkoisia eroja koulujen kesken: Kouluista, joiden kaikista laskeumanäytteistä yht. 63,9% oli toksisia (Kuva 57), sairastettiin 3 kertaa enemmän astmaa (lääkärin diagnosoima), niveloireita, silmäoireita ja valitettiin sairauden tunnetta, verrattuna kouluihin joiden laskeumanäytteistä max. 30% oli toksisia. Tämä viittaa siihen, että koulurakennuskin oli ”sairas” eikä vain opettajat. Pyyhintänäytteet antoivat samansuuntaisen tuloksen rakennuksen oireilusta, mutta raja oli vähemmän jyrkkä.

Kuvasta 56 käy ilmi, että kuudessa koulussa 40 – 70 % opetushenkilöstöstä valitti silmäoireita. Nämä koulut olivat sellaisia, joissa puolet luokkatiloista tuotti (siittiötestillä mitattuna) toksisen laskeumamikrobinäytteen (Kuva 57).

8.2. Sisäilman laatuun liittyvät silmätaudit

Silmäoireet ovat osoittautuneet monissa maissa yleiseksi ”sairaus” toimistorakennuksissa (kat-saukset Wolkoff 2008; Alves ym, 2014; Wolkoff 2010; Rozanova ym, 2009), mutta Kuvat 58, 59 osoittavat, että silmävaivat voivat Suomessa olla yleisiä myös koulujen opetushenkilöstöllä, ainakin kouluissa, joiden sisätilamikrobisto koostui pääosin toksiineja tuottavista mikrobeista: luokkatilan ilmasta opettajan pöydällä olevaan maljaan tunnin kuluessa maljoille laskeutuneista propaguuleista suurin osa tuotti toksisen mikrobikasvuston. Tämä trendi oli hankkeen tuloksissa selvästi nähtävissä mallas-agarmaljoilla (homeita), mutta ei (bakteereille tarkoitetuilla) TSA maljoilla.

Taulu 3A. Koulujen sisätilanäytteiden toksisuus ja henkilöstön terveyshaittaoireet

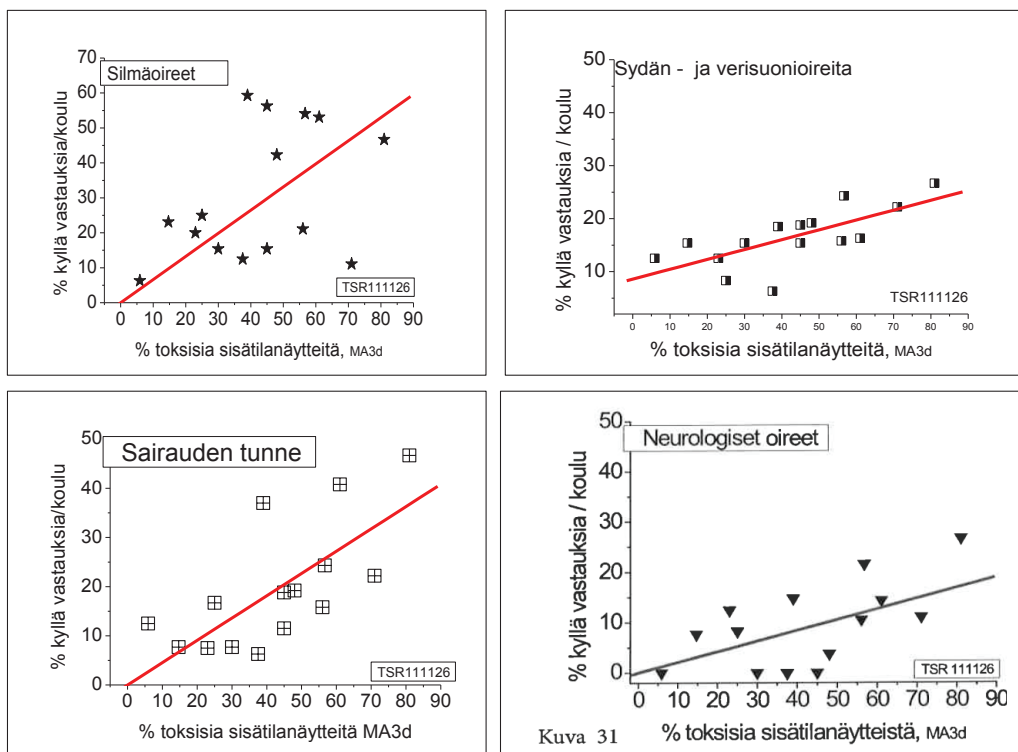
Toksiset mikrobilaskeumat*:	vähiten toksisia:		keskiryhmä		eniten toksisia:		kaikki koulut	
Koulujen lkm	5 koulua		5 koulua		5 koulua		15 koulua	
Koulujen koodit	#2,6,8,12,14		#3,4,5,9,15		#1,7,10,11,13		#1 - #15	
Laskeumanäytteitä, n	113		138		119		370	
Toksisia laskeumia*, n	30		56		76		162	
Toksisten laskeumien osuus, %	26,5		40,5		63,9		43,7	
Terveyshaittakyselyn tulokset:								
Vastaajat, n	123		121		138		382	
Kysytty 136 erillistä oiretta								
Oireryhmät (32 kpl):	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%	Kyllä, n	%
Yleisoireet	51	41,5	63	52,1	74	53,6	188	49,2
Päänsärky	33	26,8	52	43,0	43	31,2	128	33,5
Väsymys	34	27,6	36	29,8	52	37,7	122	31,9
Sairaudentunne	11	8,9	23	19,0	43	31,2	77	20,2
Yleiskunnon lasku	16	13,0	19	15,7	34	24,6	69	18,1
Pahoinvointi	5	4,1	4	3,3	11	8,0	20	5,2
Nenäoireet	42	34,1	54	44,6	79	57,2	175	45,8
Kurkkuoireet	28	22,8	48	39,7	65	47,1	141	36,9
Silmäoireet	23	18,7	44	36,4	59	42,8	126	33,0
Univaikkeudet	31	25,2	28	23,1	48	34,8	107	28,0
Ihon oireet	23	18,7	27	22,3	43	31,2	93	24,3
Yskä	17	13,8	28	23,1	42	30,4	87	22,8
Herkistyminen haju ym	25	20,3	23	19,0	41	29,7	89	23,3
Ruuan sulatuskanavan oireet	27	22,0	23	19,0	37	26,8	87	22,8
Sydän ja verisuonioireet	15	12,2	21	17,4	28	20,3	64	16,8
Lämmönsäätelyn häiriöt	18	14,6	16	13,2	25	18,1	59	15,4
Korvat&Kuulo	16	13,0	13	10,7	27	19,6	56	14,7
Haju- ja näköoireet	20	16,3	8	6,6	33	23,9	61	16,0
Niveloireet	8	6,5	15	12,4	31	22,5	54	14,1
Psykeen ongelmat	16	13,0	13	10,7	21	15,2	50	13,1
Tasapaino- ja liikkumisen ongelmat	19	15,4	14	11,6	17	12,3	50	13,1
Hengitysvaikeudet	9	7,3	9	7,4	24	17,4	42	11,0
Näkö- ja kuulovaikeudet	13	10,6	11	9,1	11	8,0	35	9,2
Aineenvaihdun- & hormonihäiriöt	14	11,4	15	12,4	15	10,9	39	10,2
Neurologiset	9	7,3	5	4,1	23	16,7	37	9,7
Kipu	6	4,9	5	4,1	16	11,6	27	7,1
Makuu- ja suun- ja nielun häiriöt	4	3,3	4	3,3	6	4,3	14	3,7
Ihotunnon häiriöt	8	6,5	2	1,7	4	2,9	14	3,7
Allerginen nuha (diag)	16	13,0	18	14,9	21	15,2	55	14,4
Atopia	12	9,8	12	9,9	14	10,1	38	9,9
Astma (diag.)	4	3,3	12	9,9	17	12,3	33	8,6
Antibioottikuurit, lkm #	34	27,6	28	23,1	33	23,9	95	24,9
Kaikki oireryhmät yhteensä (ei antibiootteja):			573		665		1004	

*Tässä taulussa näytetty toksisuus mitattiin 1 h laskeuman kasvustosta malliasagarilla, 3 d siittiötesti, viitearvo EC50 12 ug/ml
 2012-02-20 Mirja Salkinoja-Salonen HY_EYT; Janne Salin OY & InspectorSec Oy, Pekka Salin, Katri Nelo InspectorSec Oy
 Tsr Hanke 111126/ Helsingin Yliopisto, InspectorSec Oy, Helsingin kaupungin kiinteistövirasto, 2011

Kuva 57. Koulutiloihin liittyvät opetushenkilöstön terveyshaittaoireet 15:ssä helsinkiläisessä koulussa. Koulut on taulukoituna viiden koulun ryhmiksi, joista kussakin toimi 123, 119, 138 terveyshaittakyselyyn vastannutta opettajaa (5+5+5 koulua). Kouluryhmät muodostettiin opetustiloista kerättyjen laskeumaviljelmien mitattujen toksisuuksien perusteella (toksisten luokkakokohtaisten tulosten osuus 26,5% - 40,5% - 63,9%) . Laskeuma-viljelmät kerättiin jokaisesta opetustilasta (15 – 28 opetustilaa per koulu) opetustuntien aikana, toksisuus mitattiin 3-4 viikon kasvatuksen jälkeen siittiötestillä (Andersson ym., 3 2010, Bencsik ym., 2014; Salin ym. 2012). Koulut ryhmiteltiin toksisuuslöydösten mukaisesti sen mukaan, montako saman koulun laskeuma-viljelmistä oli toksisia. Terveystarkkailuun vastasivat opettajat tätä hanketta varten suunnitellulla Webropol-lomakkeella, 113 + 138 + 119 opettajaa kussakin kouluryhmässä. Kyselyn toteutti toinen tutkimustiimi samanaikaisesti toksisuusmittausten kanssa, mutta tulokset avattiin vasta syksyllä 2012 kaikkien tulosten valmistuttua. PJ Salin, JT Salin, K. Nelo, M. Salkinoja-Salonen, 2012. (<https://tuhat.halvi.helsinki.fi/admin/files/56902790/LoppuraporttiTsr111126.pdf>)

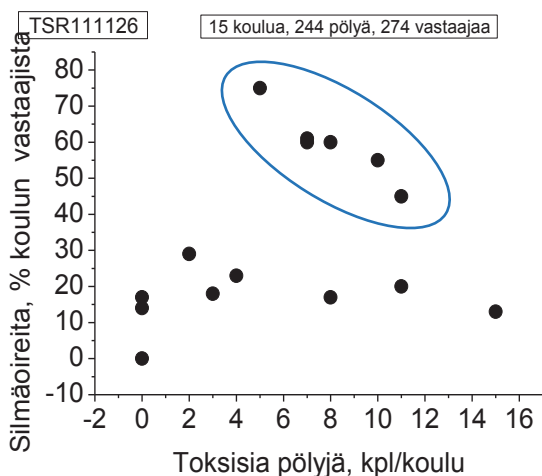
Taulu 3B, Koulupölyjen toksisuus ja henkilöstön terveyshaittaoireet							
Sisätilapölyjen toksisuus*	vähiten		keskiryhmä		eniten		kaikki koulut
	toksisia yläpölyjä		toksisia yläpölyjä		toksisia yläpölyjä		
Koulut #	2,4,6,8,12,14		#1, 3, 7, 9, 15		#5,10, 11, 13		pölyt yhteensä
Yläpölyjä saatu, kpl	81		102		71		254
Yläpölyistä toksisia, kpl	9		35		47		91
Toksiset yläpölyt, kpl/koulu	< 5		5 - 9		10 - 15		0 - 15
Terveyshaittakyselyn tulokset:	n	%	n	%	n	%	n
Vastaajat	149	39,0	155	40,6	78	20,4	382
Kysytty 136 erillistä oiretta							
Vastauksia kyllä/ei:	Kyllä		Kyllä		Kyllä		Kyllä
Oireryhmät (32 kpl):	n	%	n	%	n	%	n
Yleisoireet	63	42	92	59	33	42	188
Päänsärky	44	30	62	40	22	28	128
Väsymys	42	28	57	37	23	29	122
Sairausten tunne	13	9	45	29	19	24	77
Yleistunnon lasku	18	12	35	23	16	21	69
Pahoinvointi	5	3	9	6	6	8	20
Nenäoireet	56	38	83	54	36	46	175
Kurkkuaireet	39	26	70	45	32	41	141
Silmäoireet	27	18	75	48	24	31	126
Univaikkeudet	35	23	53	34	19	24	107
Ihon oireet	29	19	44	28	20	26	93
Yskä	24	16	43	28	20	26	87
Herkistyminen haju ym	28	19	41	26	20	26	89
Ruusuallergian oireet	23	15	41	26	13	17	77
Sydän ja verisuonioireet	19	13	29	19	16	21	64
Lämmönsäätelyn häiriöt	21	14	25	16	13	17	59
Korvat&Kuulo	18	12	27	17	13	17	58
Hajuaistin oireet	23	15	25	16	13	17	61
Niveloireet	10	7	29	19	15	19	54
Psyyken ongelmat	17	11	26	17	7	9	50
Tasapainoasti	22	15	22	14	6	8	50
Hengitysvaikeudet	11	7	19	12	12	15	42
Näköaistin häiriöt	13	9	17	11	5	6	35
Aineenvaihd&hormonihäiriöt	16	11	15	10	8	10	39
Neurologiset	9	6	19	12	9	12	37
Kipu	7	5	12	8	8	10	27
Makuuastein häiriöt	4	3	7	5	3	4	14
Ihotunnon häiriöt	8	5	6	4	0	0	14
Allerginen nuha (diag)	21	14	25	16	9	12	55
Atopia	14	9	14	9	10	13	38
Astma (diag.)	8	5	17	11	8	10	33
Antibioottikuurit, lkm #	36	24	37	24	22	28	95
Kaikki oireryhmät yhteensä (ei	687		1084		458		2229
							584
*Tässä taulukossa näytetty toksisuus mitattiin yläpölyille laskeutuneesta pölystä, 3 d altistus, siirtotesti, viitearvo: EC50 = 1							
2012-02-20 Mirja Salkinoja-Salonen HY_EYT; Janne Salin Oy & InspectorSec Oy, Pekka Salin, Katri Nelo InspectorSec Oy							
TSR Hanke 11126/Helsingin Yliopisto, InspectorSec Oy,Helsingin kaupungin kiinteistövirasto, 2011							

Kuva 58. Tiivistelmä opetushenkilöstön oire- ja koulujen sisätilanäytteiden toksisuustutkimuksesta 15 Helsingin koulussa. Kaikkien koulujen kaikista opetustiloista otettiin laskemamikrobinäyte, 1 tunti, mallasagar (A) ja pyyhintänäyte mikrokuituliinalla ylätasolta (lampun päältä) (B). Verkon kautta internet-kyselynä toteutetussa opetushenkilöstön terveyshaittakyselyssä oli yht. 282 kysymystä, jotka on taulukoissa koottu 32 oireryhmäksi. Koulut jaettiin 3 ryhmään (5+5+5) toksisuustulosten perusteella: vähiten / eniten toksisiksi luokiteltuja näytteitä, ja keskiryhmä. Tulokset ovat raporteista Salin ym 2012a,b.



Kuva 31

Kuva 59. Neljä esimerkkiä Helsingin kaupungin opetushenkilöstön raportoimasta terveyshaitta-oireilusta kouluissa 15:ssä koulussa. Webropol-kyselytutkimus tehtiin ennen kuin opetustiloista kerättyjen tehtyjen laskeumamikrobien (1 tunnin laskeuma opettajan pöydällä) . toksisuusmittauksien tulokset olivat saatavilla, ja eri tiimin toimesta kuin näytteiden keruu ja toksisuusmittaukset. Kuvan (y-akselilla) näkyy opettajien terveyshaittaoireilu-ilmoituksien ”yes”- vastauksien osuudet pääryhmittäin (22 ryhmää, 136 nimettyä oiretta, siten kuin esitetty Kuvassa 57). ja toksisten laskeumien osuus kaikista saman koulun käytössä olevien opetustilojen tutkituista laskeumanäytteistä (x-akseli). Jokaisen opetustilan näytteet tutkittiin toksisuuden suhteen (<https://tuhat.halvi.helsinki.fi/admin/files/56902790/LoppuraporttiTsr111126.pdf>)



Kuva 60. Opettajien silmäoireet suhteutettuna heidän koulunsa pyyhintä-näytteiden toksisuuteen (siittiöiden liikkuvuudesta). Tulokset osoittavat, että jos viidestä tai useammasta saman koulun luokkatilasta saatiin toksinen pyyhintänäyte, koulussa oli terveyshaittaoireiden yliesiintyvyyttä. Kuvassa jokainen täplä = koulu. Vastaajia oli keskimäärin 25 per koulu, ja tutkittuja pyyhintänäytteitä 17 per koulu. Lähteet: kuten kuvassa 55.

Alhainen ilmankosteus talvella voi olla syy siihen, että silmäsairauksia on eniten talvella kun ilman kosteus on alhainen. Sekä silmien että ylähengitysteiden hyvinvoinnille RH40% on parempi kuin 30% (Wolkoff & Kjaergaard, 2007).

Sisäilman kemikaaleilla voi olla rooli silmien työpahoinvoinnissa: Julkisissa ja yksityisissä tiloissa käytetään siivousaineita, jotka sisältävät silmiä vammauttavia ainesosia, kuten polyoksi etoksyylaatteja: (varoitusekset H318, ”vaurioittaa vakavasti silmiä”, H319 ”ärsyttää voimakkaasti silmiä”, R41 ”vakavan silmävaurion vaara”, Taulukko 16). Polyoksi etoksyylaattien vaarallisuus silmille johtuu näiden kemikaalien kyvystä toimia ”kostutuskemikaalina”, eli ne rikkovat sarveiskalvoa puhtaana pitävän kyynekalvon (Ks. luku 7.2). Siivousaineissa ja maaleissa yleisen C12E8-polyoksi etoksyylaatti-kongeneerin molekyylipaino on 552 g/mol ja höyrynpaine 1 mm Hg. Alhaisen höyrynpaineen takia on voitu erehtyä uskomaan, ettei tälle nonioniselle tensidille altistuta ilman kautta (keuhkot, silmät, iho).

8.3. Sisätilojen kostutinaaineet, biosidit ja happiradikaalit (ROS) terveyshaitan aiheuttajina

8.3.1. Kostutinkemikaalit

Kostutinaaineissa on kyse veden viskositeettia dramaattisesti alentavista kemikaaleista. Hengityselimet altistuvat niille varmasti, jos siivotaan näitä sisältävällä siivoustuotteella, leave-on tekniikalla (”ei huuhtelua”). Koska siivous toistetaan yksi tai useita kertoja joka viikko, kostutin-kemikaalia kertyy sisätilapinnoille, sillä sen haihtuvuus on vähäinen. Pinnoilta se voi aerosolisoi- tua tilanteissa jolloin ilma on turbulenttia ja kosteus suuri. Näin voisi käydä koulupäivän aikana kun opetustilassa on suuri ihmistiheys: 25 - 30 henkilöä per 60 m² (henkilö per 2 m²), joista jokainen uloshengittää ehkä 0,5 m³/h lämmintä (+30°C) kosteaa ilmaa (30 g vesihöyryä / m³). Kostutinaaine ärsyttää silmiä voimakkaasti (H314 kat 1) kun ilma on turbulenttia (koulu, päiväkot, liikuntatila). Nämä aineet eivät ole haihtuvia, mutta ovat aerosolisoi- tuvia.

Helsingin Yliopiston tutkijaryhmässä polyoksi etyleeni-alkyyli eetterin puhdas-aineella (C12E8) tehdyt testit osoittivat, että jo 0.001 paino% pitoisena tämä aine aiheutti nekroosin (solukuoleman) useille nisäkäsolutyypeille (Andersson & Salkinoja-Salonen, 2016). Valistunut arvaus on, että C12E8 tekee saman sarveiskalvoa peittävälle solukerrokselle. Siivoustuotevalmisteissa tätä ainetta (tai sen sisäainetta) oli 1% – 8 paino%. Kun elimistössä tapahtuu nekroottista solutuhhoa, immuunisolut aktivoituvat ja voivat käynnistää autoimmuunisaira- uden. Suomessa on ylisairastavuutta useissa autoimmuunisairauksissa (Jussila ym, 2014; Kondrashova ym., 2005, 2008; Laatikainen ym 2011; Lehtinen ym, 2011)

8.3.2. Sisäilman biosidiset altisteet

Siivousainevalmisteet sisältävät myös biosidisia kemikaaleja. Seuraavassa poimintoja vuonna 2016 julkisten tilojen siivouksessa v. 2016 käytettyjen valmisteiden sisältämistä biosideista:

Kloramiini T (natrium kloori- p-tolueeni sulfonamidi) CAS 7080-50-04, tuote sisälsi 5 – 7% tätä biosidia. Aine tunnetaan työperäisen astman ja hengitystiesairauksien aiheuttajana.

Kookosdimetyyliamiini oksidi (CAS 61788-90-7) , 1 – 3%. kationinen tensidi. Biosidinen kvaternäärinen ammonium yhdiste. Sumuna tai aerosolina hengitettynä aiheuttaa hengitysvai- keuksia. Hengitysmyrkyllinen, silmiä ja hengitysteitä ärsyttävä (H315, kat 1). On kationinen desinfiointiaine , ei poistu tiloista tuulettamalla, muodostaa turbulentissa ilmassa hengitystei- hin tunkeutuvaa aerosolia.

Tertiäärisissä ammonium yhdisteissä tyypiatomiin on liittynyt 3 alkyyli- tai aryyli-substituenttia, kvaternääriin neljä. Substituentit voivat olla sekä lyhyt että pitkäketjuisia. DDAC:ssä joka on kvaternäärinen amiini on kaksi metyyli-ryhmää ja kaksi 10-hiilistä dekyyli-ryhmää josta nimi: *Didekyyli-dimetyyli ammonium kloridi* DDAC, CAS 7173-51-5

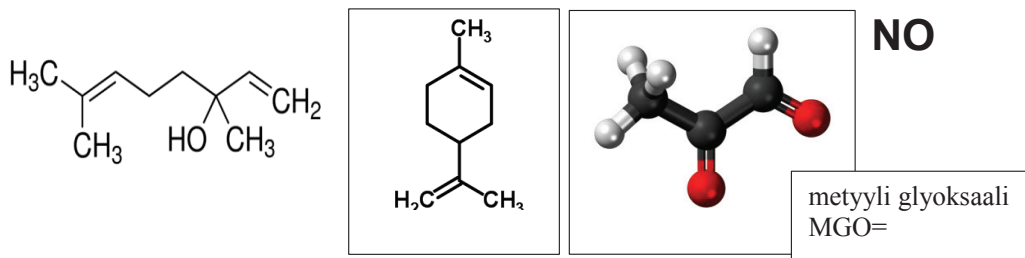
DDAC tuli käyttöön tehokkaana antibakteerisena aineena, puree myös viruksiin, kuten norovirus ja useimpiin homeisiin (antifungaali). DDAC on kationinen pinta-aktiivinen aine, tensidi, jossa on yksi positiivinen sähkövaraus. Se toimii myös hapettimena. Se on dipolinen molekyyli, jolla on pooliton pää (2x C10), Sen toksikologisten ominaisuuksien tutkinta on vasta alkanut. Sen on todettu lisäävän hoitolaitoshenkilöstön riskiä lääkärin diagnosoimalle astmalle (OR 7,5) ja nenäoireille (OR 3.2). Riski oli korkein (toimistotyöntekijöihin verrattuna) hoitohenkilöstölle joka käytti DDAC:tä välinehuollossa. Hiiren ihon altistaminen 0,0625 – 1% pitotisselle liuokselle, 4 vrk, käynnisti CD44, CD4, CD8+, T-solut ja CD86+ useiden lymfosyyttien ja dendriittisolujen annosvasteisen nousun (Anderson ym, 2016; Gonzalez ym., 2016).

- *C12-18-Alkyylibentsyyldimetyyliammonium kloridi* CAS 68424-85-1 (1-2%). Biosidinen kvaternäärinen ammonium yhdiste, hengitysymyrkyllinen, voimakkaasti silmiä vaurioittava
- *Trimetyyli-3-(1-oksi-10-undekenyyli)amino propyyliammonium metyyli sulfaatti*, CAS 94313-91-4-, 1- 5%. pH 10,5. Antimikrobinen biosidi, tunnetaan myös nimellä Rewomid.
- *Bentsyyli isotiatsolinoni* (BIT, CAS 2634-33-5), *Metyyli isotiatsolinoni* (MIT, CAS 2682-20-4);
- *n-Oktyyli isotiatsolinoni* (OIT, CAS 26530-20-1) Nämä ovat herkistäviä, aerosolisoituvia, antibakteerisia biosideja (=desinfointiaineita).
- *Glutaral (glutaarialdehydi)*, CAS 111-30-8, biosidinen, herkistävä kemikaali. Erään siivoustuotteen KTT:ssä on virhe tältä osin: siinä glutaral ilmoitetaan hajusteena, mitä se ei ole.
- *Bentsyyli alkoholi*, CAS 100-51-6; *2-aminoetanoli* (etanolamiini) CAS 141-43-5
- *Tert-butanoli*, CAS 95-65-0; *tert-butyli -hydroperoksidi*, CAS 75-91-2

8.3.3. Sisäilman reaktiiviset happiyhdisteet

Reaktiiviset happiyhdisteet (ROS) syntyvät otsonista, vetyperoksidista ja orgaanisista peroksideista (biosideja); superoksidi anioni, $^1O_2^*$, hydroksyyli-radikaali HO^* , peroksyli radikaali ROO^* ; singletti happi, nitroksiradikaali NO^* . Ulkoilman otsoni reagoi sisäilmaan saapuessaan sisäilman haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (VOC), etenkin hajusteiden (limoneeni, linalooli, dihydromyrsitoli) kanssa, niin että syntyy myrkyllisiä dikarbonyyleja, Kuva 57. Otsonipitoisuuden erotus ulko- ja sisäilmassa on mittari sisäilmaan syntyneiden radikaalireaktiotuotteiden määrälle.

Reaktiossa syntynyt metyyli glykosaali imeytyy keuhkoissa verenkiertoon, reagoiden proteiinien kanssa (tuote : arginiiniin glykoitua proteiineja, dikarbonyyli proteiineja) ja DNA:n kanssa (tuote; glykosyloitua DNA) (Rabbani & Thornalley, 2014). Glykosyloidut proteiinit ja DNA ovat tärkeitä kroonisten autoimmuunisairauksien käynnistäjiä Useilla näistä sairauksista Suomessa on jatkunut nouseva trendi jo yli 20 vuoden ajan. Suomessa on ylisairastuvuutta Eurooppalaiseen keskitasoon verrattuna, jopa 100 -300% (Diamond Proj Group 2006; Harjutsalo ym, 2006; Kondrashova ym, 2005, 2008, Jussila ym. 2013, 2014; Laatikainen ym 2011; Jaakkola & Jaakkola 2004; 2007; Jaakkola ym., 2007; Nørgaard ym, 2014a,b; Lehtinen ym, 2011.



Kuva 61. Linalooli (vas) ja limoneeni ovat yleisesti käytettyjä hajusteita joita sisältyy lähes kaikkiin siivous- ja pesuaineisiin, myös julkisissa tiloissa käytettynä. Ne reagoivat otsonin tai hydroksyyliiradiikaalien (ja muiden ROS aineiden) tuottaen yhtenä päätuotteena metyyli glyoksaalia (Carslaw , 2013). Haitallisuutensa takia nämä hajusteet on EU:ssa määrätty ilmoitettaviksi valmisteiden pakkauspäilyksissä.

Metyyli glyoksaalia syntyy myös fruktoosi-1,6-difosfaatista autokatalyyttisesti jos glykolyysi (glukoosin hajoaminen) ja mitokondrioiden hapetustoiminta eivät ole tasapainossa. Tämä tilanne syntyy mm.

1. diabeteksessä jos elimistö ei saa riittävästi insuliinia;
2. mitokondrioiden vajaatoiminnassa, joka on seurausta hapenpuutteesta;
3. fruktoosin yliannostuksesta (fruktoosilla makeutettu elintarvike, fruktoosisiirappi, tuotettu hajottamalla ruoko- tai juurikassokeria invertaasi entsyymillä fruktoosiksi);
4. elimistön altistumisesta mitokondriotoksille kemikaaleille (esim. triklosaani). Metyyli glyoksaali on hoitamattomaan diabetekseen liittyvän munuaisten vajaatoiminnan aiheuttaja. Se on myös neurotoksinen.
5. Mitokondriotoksisten lääkeaineiden käytöstä. Näitä lääkeaineita ovat mm. nonsteroidiset tulehduslääkkeet: aspiriini, diclofenac; gentamysiini; ibuprofeeni; ja fibraatit ("rasvalääkkeitä").

Solutoksikologisissa mittauksissa metyyli glyoksaalin on todettu käynnistävän oksidatiivisen stressisen soluvaurion, ja up-reguloivan interleukiini-1- β ja hermojen kasvutekijän (NGF) tuoton hippokampuksen soluissa. Dikarbonyyliyhdisteet aiheuttavat silmäkipua tai ärsytystä. - Näitä vaivoja tutkitaan rekisteröimällä silmän räpsytystiheyttä (videokamera). Sillä voi tutkia myös lapsia (Nøjgaard ym., 2005). Hajusteiden tärkeä rooli sisäilman haitallisten dikarbonyyliyhdisteiden tuotolle kävi hyvin selkeästi ilmi EU-hankkeessa OFFICAIR, jonka tulokset on julkisesti saatavilla Carslaw ym. 2012, 2013, Fadey 2015, Aubert ym., 2014).

Happiradikaalien lähde on etenkin ulkoilman otsoni (varsinkin keväisin kun valoa on paljon mutta vihreää kasvillisuutta, joka radikaaleja neutraloisi, vähän), mutta se voi olla myös sähkölaitteet, mukaan lukien tietyntyyppiset ilmanpuhdistimet, tai fotoreaktiivisella titaanidioksidilla maalattu pinta. Laitteita, jotka on tehty varta vasten tuottamaan happiradikaaleja (mm. hydroksyyliiradikaaleja) on markkinoilla kaupan "ilman puhdistamista varten".

Mitokondriomyrkyllisten sisäilmatoksiinien läsnäolo saattaa näkyä silmäluomien "roikku-misena", kun toksiini lamauttaa silmäluomen lihashermon (oftalmoflegia).

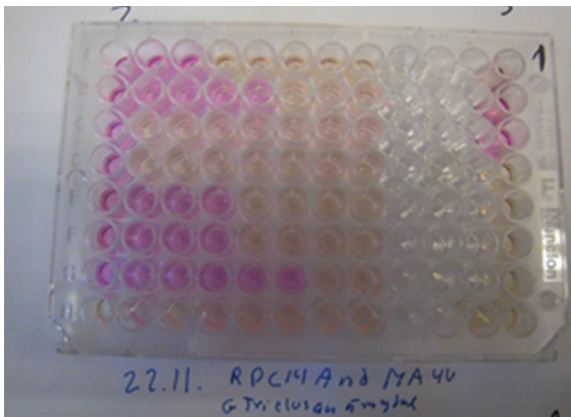
Helsingin kaupungin kiinteistövirasto valitsi hankkeen Tsr11126 tulosten valmistuttua korjausten kohteiksi kouluja joiden opetustilojen näytteissä toksisten osuus oli korkea ja siihen liittyi opettajien terveyshaavaoireiden runsas esiintyvyys.

8.4. Mitokondriotoksiset aineet

8.4.1 Mitokondriotoksisten aineiden kokeellinen mittaaminen

Huomattavan suuri osa niistä toksineista, joita suomalaisista rakennuksista kolonisoivista toksinintuottajamikrobeista (Taulukot 8 ja 9) on löydetty, osoittautui mitokondrioita vaurioittaviksi aineiksi. Mitokondriot ovat ihmisen kaikkien solujen ”voimalaitos”. Jotkut ihmisen kudoksien soluista ovat hyvin herkkiä tuhoutumaan, jos mitokondrioiden energian tuotto kompastelee. Kaikkein vaurioherkin indikaattorisolu on haiman saarekkeen insuliinia tuottavat beta-solut (*in vitro*: Min-6) ja hiiren hermosolut (*in vitro*: neuroblastooma solut). Kilpirauhasen vajaatoimintaa, hermosto- ja sydänoireita (takykardia) ja oftalmoflegiaa (silmäluomilihaksen velttoutta, roikkuva silmluomi) on raportoitu oirekyselyissä.

Mitokondriot ovat elimistön tärkein kemiallinen (ATP) ja fysikaalisen energian (sähköinen kalvopotentiaali) tuotto laitteisto. Jos happa ei ole, mitokondrio ei voi toimia. Siinä tilanteessa, samoin kuin tilanteessa, jossa mitokondriotoksiset aineet estävät mitokondrioita toimimasta. Silloin elimistön kudokset siirtyvät tuottamaan ATP:tä glykolyysillä. Poikkeus on haimasaaressa olevat betasolut, jotka eivät ole käyttöönsä glykolyysiä, vaan kuolevat menemällä apoptoosiin (pieni altiste) tai nekroosiin (isompi altiste) (Vangoitsenhoven ym, 2014; Ajao ym, 2015). Samalla syntyy maitohappoa, joten tätä toimintaa ei voi jatkaa kauaa ilman että veren pH laskee, ellei maitohapolla ole purkureittia (Kuvat 4 ja 62). Näin käy myös, jos jokin toksini, kemikaali tai oksidatiivinen stressi (ROS-aineet) estää mitokondrioita toimimasta tai on vaurioittanut mitokondrion entsyymejä.



Kuva 62. Mitokondriotoimintaa vaurioittavan aineen tunnistaminen solutestillä. Testisoluksi sopii kaikki muut solut paitsi veren punasolut (joilla ei ole tarvittavia mitokondrioita).

Tuntemattoman toksinin kykyä vaurioittaa mitokondrioita selvitetään tutkimalla sen kykyä aiheuttaa *metabolinen asidoosi* (aineenvaihdunnallinen happamoituminen) testisoluille. Kuoppalevyn kuoppiin annostellaan testisoluja soluviljelyliemessä (jossa mukana pH indikaattoriväri), energian lähteenä verensokeri eli glukoosi. Kuoppiin

pipetoidaan sarja tutkittavan toksinin laimennoksia (esim. 10×, 100×1, 1000×, 10000×) riittävän monena rinnakkaisena. Levyä inkuboidaan, kansi suljettuna, soluviljelykaapissa joitakin tunteja tai vuorokausi. Otetaan levy ulos, annetaan olla jonkin aikaa ilman kanssa jotta solujen hengittämä hiilidioksidi haihtuu pois, ja tarkistetaan sitten millä toksinilaimennoksella / annoksella solukuopat ovat happamoituneet (pH:n indikaattorin punaväri katoaminen indikoi happamoitumista). Niissä kuopissa on siis muodostunut maitohappoa joka on merkki siitä, että mitokondriot eivät ole toimineet. (Maria Andersson, Stiina Rasimus-Sahari, Mirja Salkinoja-Salonen tsr112134)

Mitokondrioiden toimintaa estävä tai häiritsevä ominaisuus osoittaa aineen myrkyllisyyttä. Jotkut biosidiset desinfiointiaineet (triklosaani, Ajao ym, 2015) myös ovat mitokondriomyrk-

kyjä. Monia lääkeaineita on jouduttu vetämään pois markkinoilta mitokondriomyrkyllisyyden vuoksi (Mehta ym., 2008). Tehokkain tunnettu mitokondriotoksinen mikrobimyrkky on kereulidi, jota tuottaa *Bacillus cereus* bakteeri. Sitä esiintyy sekä elintarvikkeissa ruokamyrkyttäjänä (Andersson ym. 1998; Hoornstra ym. 2013) että hometalojen mikrobikasvustoissa homeiden seuralaisena (Andersson ym. 2005; Apetroaie ym. (2008).

Kereulidi on rasvaliukoinen, hyvin tehokas myrkky (nanogramma riittää!) joka imeytyy ihon ja limakalvojen läpi, ja aiheuttaa niissä lämmöntunteen, koska glykolyysissä vapautuu enemmän lämpöä kuin mitokondrioiden soluhengityksessä. Vereen päässeensä se aiheuttaa metabolisen asidoosin ja sydämen pysähtymisen, jopa kuoleman (Hoornstra D. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, EYT, 2014). Kereulidi, kuten muutkin mitokondriomyrkyt, käynnistää solu-kuoleman niissä elimissä, joilla ei ole glykolyttistä varajärjestelmää ATP:n tuottoon: haiman insuliinia tuottavat solut, (Vangoitsenhoven ym., 2014, 2015; Hoornstra ym. 2013, 2014) kilpirauhanen, hermosolut, sisäkorvan kuuloelimen karvasolut. Kereulidi ja sen kaltaiset toksiinit aiheuttavat hormonituotannon häiriöitä (insuliinin ja kilpirauhashormonin tuotanto) ja voivat siten käynnistää tai pahentaa monia erilaisia sairauksia, esimerkiksi kilpirauhasen vajaatoimintaa ja tyyppin 1 diabetestä (Kondrasheva ym., 2008; Vangoitsenhoven ym., 2014, 2015) ja sydämen QT intervallin pidentymistä (Li ym., 2010) ja luontaisen (syntynnäisen) immuunijärjestelmän virheikäntiä joka voi johtaa erilaisiin autoimmuunisairauksiin, kuten nivelreumaan ja astmaan (Warny & Kelly, 1999).

8.4.2. Mitokondriotoksisuuden yhteisvaikutukset

Kereulidi ja sen kaltaiset, kaliumioneja kuljettavat myrkyt, valinomysiini, penilidi, enniatiiniit, pysäyttävät siittiöiden uintiliikkeen (Rasimus ym., 2012; Tonshin ym. 2006; Hoornstra ym. 2003, 2004). Senvuoksi siittiöitä, joita voi ostaa keinosiemennysasemilta, on kätevä käyttää mitokondriotoksisten toksiinien etsinnässä.

Mitokondrioiden toimintaa estävä tai häiritsevä ominaisuus osoittaa aineen mitokondriotoksisuutta. Jos altistuu useille mitokondriotoksille aineille yhtä aikaa tai peräjälkeen, terveyshaitat saattavat summaantua.

Tehokkain kaikista tunnetuista mitokondriotoksista aineista on *bakteerien tuottama syklinen peptidi, kereulidi* (kuva 46), ja lähes yhtä toksinen *valinomysiini* (kuva 63). Kereulidi ja valinomysiini ovat on rasvaliukoisia ja imeytyvät hengitysteiden, ruuansulatuskanavan ja ihon kautta, kestävät kuumennusta, happoa, emäksiä, hapettimia, desinfiointia. Kereulidia (tunnetaan ruokamyrkytysten yhteydessä myös nimellä oksetustoksiini, emeettinen toksiini) tuottavat *Bacillus cereus* bakteerin epätyypilliset (hemolyysittömät) kannat (Andersson ym., 2004). Keinoa kereulidin tai valinomysiinin inaktivoimiseksi ei vielä ole keksitty. Valinomysiiniä tuottaa *Streptomyces griseus*, joka viihtyy rakennuksissa yhteiskasvustona homeiden kanssa (kuva 37). Sen itiöt kestävät kuivuutta mutta eivät kestä kuumennusta.

Sisäilmaongelmaisissa rakennuksissa valinomysiinin ja kereulidin tuottajakannat olivat tuottajalajiensa enemmistönä, mutta maaperästä ja maatalousympäristöstä niitä ei löydy tai ovat pienenä vähemmistönä (Taulukko 10) (Altayar & Sutherland, 2006; Andersson ym., 2005; 1997, 1998a, Apetroaie-Constantin ym., 2005; 2008). Kalium on rakennuksissa minimiravinne, jonka saannissa *B. cereus* bakteerin kereulidi ja *Streptomyces* valinomysiini avustanevat homeita (Ekman, 2011). Rakennuksessa esiintyvistä raaka-aineista eläinkuidut (villa, kitiini) sopii basilusten ravinnoksi mutta kasvukuidut vasta sen jälkeen kun sellulolyttiset homeet ovat hydrolysoineet kuidut pieniksi molekyyleiksi. Rakennusten *Streptomyces griseus* ja *Bacillus cereus*

rakennuksissa esiintyvät homeiden (*Chaetomium globosum*) seuralaisena, kuten myös amyloosinia tuottava *B. amyloliquifaciens*.

Elintarvikkeista koituu kereulidimyrkytyksiä, eniten niistä elintarvikkeista joita on toistuvasti uusintakuumennettu. Tämä johtuu siitä, että *Bacillusten* kestävät kuumennusta ja kemikaaleja paremmin kuin mikään muu tunnettu eliö (> 5 h, +95°), ja itiöt itävät tehokkaasti kuumennus-shokin jälkeen, joten ne rikastuvat elintarvikkeeseen jokaisen kuumennuksen / käsittelyn yhteydessä (Shaheen, 2009; Apetroaie-Constantin 2008; Jääskeläinen 2008; Ekman 2011). Kaikki, tutkitusti *B. cereus* bakteerin aiheuttamat, vakavat ruokamyrkytykset ovat olleet kereulidin aiheuttamia (Hoornstra, 2014, Jääskeläinen 2008).

Biosidisten antimikrobisten säilöteaineiden joukossa on mitokondriotoksisia: triklosaani, isotiatsolonit, PHMB, PHMG, didekyl-dimetyl-ammonium kloridi ja tertiääriset alky/aryl ammonium yhdisteet (Taulukko 15, Ajao ym., 2015, 201x), joita sisältyy mm. hammastahnoihin, shampoisiin, astian- ja tekstiilipesu- ja käsittelyaineisiin, siivousaineisiin, sekä myös itse tekstiileihin säilöntä-aineeksi kuljetuksen ja varastoinnin aikana. Laajan käytön takia triklosaania löytyy nykyisin ihmisen verestä, virtsasta, äidinmaidosta, vesistöistä, vesieliöistä (Ajao my., 2015). Siivousaine- ja maalikäytön takia isotiatsoloni-biosideja löytyy etsittäessä myös sisäilmasta (Nagorka ym, 2014). Kosmetiikassa käyttöä EU-komissio on rajoittanut triklosaenin maksimipitoisuuteen 15 mg/kg. Biosidiset antimikrobiset aineet imeytyvät ihon läpi mutta aerosolina tehokkaammin hengityselimiin.

Hiilinanokuidut (pituus <0,1 µm) on osoitettu mitokondriotoksisiksi: keuhkosolujen mitokondrioiden kalvopotentiaali (ks. kuva 63) heikkeni 0,25 µg/cm² altistuksessa yhtä paljon kuin asbestialtistuksessa joka oli kymmenkertainen, 2,5 µg/cm². Suorat nanokuidut olivat patologi-
sempia kuin käyrät, lasikuidut eivät olleet mitokondriotoksisia (Catalan ym 2016; Nymark ym. 2015). Mitokondriotoksisuuteen liittyy usein ROS aineiden tuotto itse mitokondriossa: tämä havaittiin soluviljelmässä kasvatetuilla ihmisen bronkioli-epiteelisoluilla BEAS-2B. Koe-eläinaltistuksessa havaittiin MWCNT:n aiheuttavan hypersensitiivisyyttä, vaahtosolujen muodostusta ja fibroosia alahengitysteiden soluissa (Catalan ym 2016; Pacurari ym, 2016; Sayan ym, 2016). Nymark ym, 2015).

Monet rakennuksiin pesittyneiden homeiden tuottamat toksiinit ovat mitokondriotoksisia (Taulukot 8, 9, ks myös luvut 8.5-8.7) joten niillä voi olla additiivisia vaikutuksia bakteeritoksiinien, kemikaalien ja lääkeaineiden kanssa .

Monet lääkeaineet tunnetaan mitokondriotoksisina. Vakava mitokondriomyrkyllisyys on yleisin syy lääkevalmisteiden markkinoilta poisvedolle (Mehta ym., 2008). Kuitenkin markkinoilla on silti myös lääkeaineita, jotka ovat mitokondriotoksisia, syystä että samaan lääkinnälliseen tarpeeseen ei ole haitattomampaa vaihtoehtoa. Näitä ovat mm. asetosalisyylihappo (aspiriini), diklofenac (non-steroidinen tulehduslääke), tetrasykliinit, amiodaroni, perheksiliini, fluoksetiini, buprenorfiini, takriini, valproaatti, ja anti-diabeettiset biguanidit metformiini ja fenformiini, sekä tiatsolidiinidionit, useat antipsykootiset, antikonvulsiviset lääkkeet ja masennuslääkkeet. Sisäilman mitokondriotoksiset altisteet saattavat olla erityisen haitallisia näitä lääkkeitä käyttämään joutuville henkilöille.

8.5. Akrebolit

Akrebolit ovat peptaiboleja, jotka vaikuttavat mitokondrioihin pysäyttämällä elektronien irtoamisen ubikinonista. Tästä seuraa, että elektroni ei etene soluhengitykseen, ei käynnistä hapenkulutusta eikä tuota aerobista energiaa (Kruglov ym., 2009), eli solut tukehtuvat hapenpuutteen

seen. Akrebolien toksiset ominaisuudet muistuttavat myksoitiatsolin ja antimysiinin A:n toksisia ominaisuuksia (Kruglov ym., 2009). Akrebolin läsnä ollessa rasvahappojen hapetus mitokondrioissa pysähtyy, jolloin ruuansulatuksessa hajonneista rasvoista voi verenkiertoon kertyä hajotuksen ensimmäistä välituotetta, diasyyglyserolia (DAG). DAG on entsyymien proteiinkinaasi C ja proteiinkinaasi theta (PK-theta) tärkein aktivaattori. Nämä kaksi entsyymiä säätelevät monia elintärkeitä toimintoja, mm. insuliinireseptoreja ja immuunijärjestelmän T-solujen mikrobivasteita (Manicassamy ym., 2006; Leibowitz ym., 2005). Jos akrebolia pääsee haimaan, haiman insuliinia tuottavissa betasoluissa käynnistyy nekroottinen solutuho ($EC_{50} < 0,25$ mikrogrammaa / ml).

Mitokondriot ovat elimistön tärkein energian (ATP, sähköinen kalvopotentiaali) tuotto laiteisto. Jos happea ei ole, mitokondrio ei voi toimia. Siinä tilanteessa monet kudokset siirtyvät tuottamaan ATP:tä glykolyysillä. Samalla syntyy maitohappoa, joten tätä toimintaa ei voi jatkaa kauaa ilman että veren pH laskee, ellei maitohapolla ole purkureittiä (Kuva 48). Näin käy myös, jos jokin toksini tai kemikaali estää mitokondrioita toimimasta tai on vaurioittanut mitokondrion entsyymejä. Näitä vaurioittajia ovat happiradikaalit (oksidatiivinen stressi).

8.6. Kaliumjoneja kuljettavat toksiinit

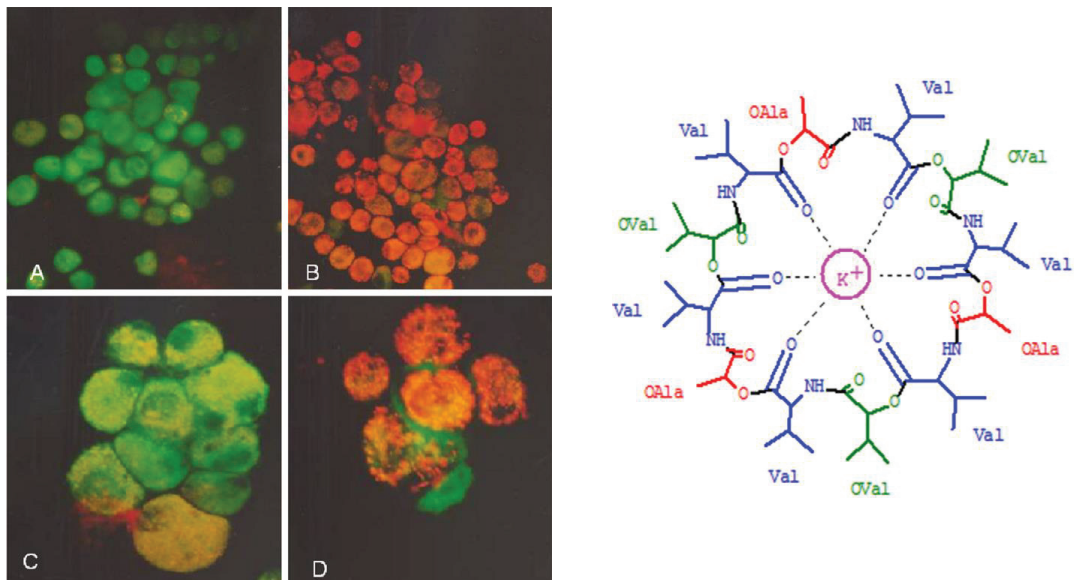
8.6.1. Valinomysiini

Sisäilmaongelmaisista rakennuksista löytyy usein *Streptomyces* -suvun aktinobakteereja. Ne viihtyvät homeiden kanssa ja saattavat elää homeiden kanssa jonkinlaisessa symbioosissa, auttaen homeita kalium-jonien hankinnassa. *Streptomyces griseus* ja *Str. albidoflavus* ja näitä lähellä olevat lajit, voivat tuottaa monia erilaisia mitokondrioihin vaikuttavia toksiineja, kuten antimysiiniä (Rasimus-Sahari ym., 2015; Kotiaho ym. 2009) ja valinomysiiniä (Kuva 49).

8.6.2. Kereulidi

Kereulidi on kaikista tunnetuista mitokondriomyrkyistä toksisin. Sen aiheuttama akuutti mitokondriotoksisuus perustuu kykyyn tehdä sekä solukalvo että mitokondriokalvo kalium-joneja läpäiseväksi (Tonshin ym., 2010; Hoornstra ym., 2013; Rasimus ym., 2015), jolloin mitokondrion sisällä vallitseva negatiivinen sähkövaraus nollaantuu sytoplasmasta mitokondrion sisään (kuva 63). Mitokondriot turpoavat kaliumjonitulvasta, niiden ja niiden ulkokalvo repeää. Mikroskoopissa se näkyy solun ”vakuolisaationa”, eli mitokondrioiden koko kasvaa epänormaaliksi ja ne näyttävät ”ontoilta” (Andersson ym., 2007, Fig. 2). Vakuolisaatio on raportoitu kereulidin aiheuttamien ruokamyrkytyksien uhrien maksan soluissa (Mahler ym. 1997; Posfay-Barbe ym., 2008; Naranjo ym., 2011) ja pitkäaikaisen (vuosia) haitallisesta sisäilmasta altistumisen jälkeen menehtyneen henkilön post-mortem tutkituissa kudoksissa (Andersson & Salkinoja-Salonen, julkaisematon).

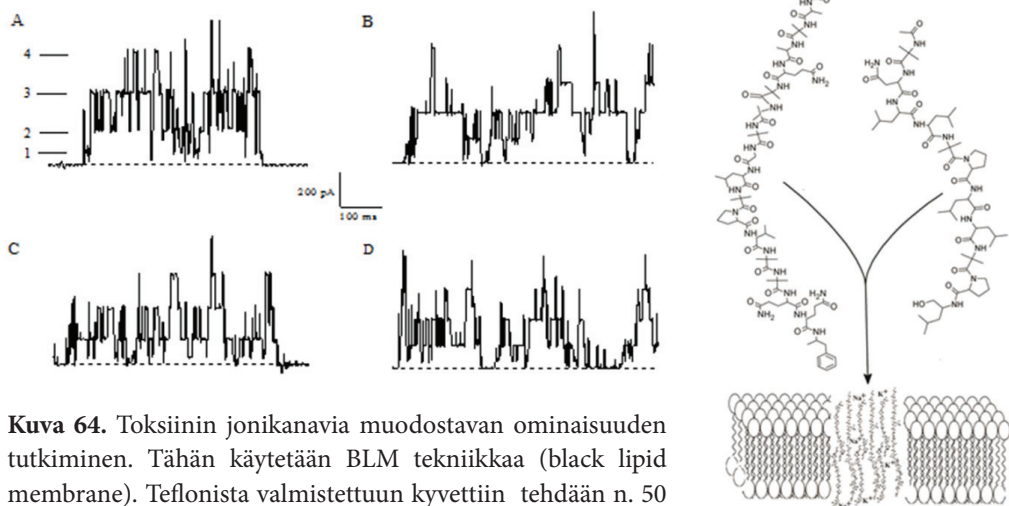
Ne elimistön kudokset, joiden toimintakyky perustuu pääosin tai yksinomaan mitokondrioiden tuottamaan ATP-energiaan ja solun sähkövarauksiin, eivät kestä kereulidin aiheuttamia mitokondriovaurioita, vaan kuolevat (Kuva 65). EC_{50} , annos (=puolet tappava) ihmisen iho keratinoosyyteille (laboratoriossa) ja primäärimonosyyteille (terveen donorin tuoreesta veripussista) mitattiin tasolle $\leq 4 \text{ ng cm}^{-3}$, 24 h (Kuva 65; Andersson ym. 2006, 2007; Virtanen ym., 2008; Hoornstra ym. 2013; Rasimus-Sahari 2016, kuvassa 9, s. 49). Haiman beta-solu saarekkeiden herkkyyden kereulidin aiheuttamalle apoptoosikuolemalle on mitattu tasolle $0,5 \text{ ng/cm}^{-3}$, samalla kun solujen hapenkäyttökyky heikkeni 52% (Vangoitsenhoven ym., 2014).



Kuva 63. Valinomysiinin reaktiot ihmisen keuhkohuuhtelusta saadut keuhkojen epiteelisolut (BAL) altistettiin ongelmasta sisätilasta eristettyjen *Streptomyces griseus* kantojen uutteille. Kuvassa 25 solut oli altistettu kannoille, jotka tuottivat (A,C) tai eivät tuottaneet (B,D) valinomysiiniä. Kumpaakin *S. griseus*-tyyppiä eristettiin saman rakennuksen näytteistä. Kuvat C ja D ovat suurennoksia samoista soluista kuin kuvissa A,B. *Streptomyces* kannoille altistamisen jälkeen solut värjättiin kalvopotentiaalia indikoivalla fluorokromilla. Punaoranssi väri: kalvopotentiaali korkea (150 mV), = solujen mitokondriot toimivat hyvin. Vihreä väri: kalvopotentiaali pudonnut alle 100 mV, joka osoittaa että mitokondriot eivät tuota energiaa. Maria Andersson, Helsingin Yliopisto.

Haiman beta-solut, jotka vastaavat elimistön insuliinin tuotosta (Kuva 65), ovat uusiutumiskyvyttömiä: jokainen kuollut solu vähentää elimistön kykyä tuottaa insuliinia. Betasolujen nekroottinen tuhoutuminen voi käynnistää vasta-aineen tuoton jäljellä olevia betasoluja vastaan, jolloin tuhoutuu vielä lisää betasoluja. Seurauksena on elimistön insuliinituotokyvyn vähentyminen ja sairausena tyypin 1 diabetes. Vangoitsenhoven ym (2015) ehdottivat, tässä raportissa referoituihin tutkimuksiimme viitaten, että kereulidi (ja sen kanssa synergisesti vaikuttavat toksiset aineet) ovat yksi merkittävä tyypin 1 diabetestä aiheuttavista ympäristötekijöistä. Suomessa sairastuvuus tyypin 1 diabetekseen on maailman korkein, 2-3 kertainen muihin EU maihin verrattuna. Suomessa siihen sairastutaan nuorempana kuin missään muualla (huippu on päiväko-ti-ässä) ja sairastuvuus nousee nopeammin kuin muissa maissa (Diamond Project Group, 2006, Harjutsalo ym., 2008).

Muutkin elimistön solut ovat riippuvaisia mitokondrioiden tuottamasta ATP:stä pitkällä aikavälillä, mutta useimmat kudokset pystyvät väliaikaisesti korvaamaan mitokondrio-va-jaatoiminnan aiheuttaman ATP-pulan lisäämällä ATP tuotantoa maitohappokäymisen kautta (aerobinen glykolyysi, Ajao ym, 2015; Rasimus ym., 2015). Pitkään jatkuessa (tunteja tai päiviä) maitohappokäyminen happamoittaa sytoplasman. Se ei kuitenkaan voi jatkua pitkään, koska Mitokondriotoksisuudelle herkkiä kohteita ovat insuliinin tuoton lisäksi muiden sisäeritysrauhasten solut (kilpirauhanen, aivolisäke) ja hermosolut. Happokäyminen ei voi jatkua pitkään eikä monissa elimissä yhtä aikaa, ilman että syntyy pysyviä kudosaivourioita (kuva 62).



Kuva 64. Toksiinin jonikanavia muodostavan ominaisuuden tutkiminen. Tähän käytetään BLM tekniikkaa (black lipid membrane). Teflonista valmistettuun kyvetiin tehdään n. 50 μm^2 kokoinen ikkuna, joka peitetään fosfolipidista tehdyllä kalvolla. Kyvetiin ja sitä ympäröivään altaaseen (jonka nestepinta ulottuu ikkunan yläpuolelle, pipetoidaan suolaliuos: kalium-, natrium- tai kalsiumkloridi, riippuen siitä, minkä jonin läpäisyä on tarkoitettu tutkia. Kyvetin sisään ja ulkoaltaaseen sijoitetaan pikoamperometrin elektrodit, joilla mitataan fosfolipidi-ikkunan läpi kulkeva sähkövirta. Mittaus alkaa siten, että kyvetin sisään injektoidaan tunnettu, pieni pitoisuus tutkittavaa ainetta ja seurataan monitorilta amperometrin ilmaisemaa sähkövirtaa (pA, y-akseli, aika x-akseli, sekuntteja). Jos tutkittava aine aiheuttaa sähkövirran, jonka vahvuus nousee lineaarisesti suhteessa aineen pitoisuuteen kyvetissä, joka sisältää kaliumkloridia, niin kyse on kalium-carrier tyyppisestä aineesta (kereulidi, valinomysiini).

Jos taas sähkövirta nousee sykkeenomaisesti, ja putoaa sykkeen jälkeen nolliin, kunnes taas nousee, niin kyse on jonikanavaa tuottavasta aineesta: kanava aukeaa ja sulkeutuu omaan tahtiinsa (trilongiinit, trikortsianiinit). Jos kanavia muodostuu kaksi, niin pikoampeerimittari antaa kaksinkertaisen pikoampeerilukeman (kummastakin kanavasta kulkee saman verran joneja). Kuvasta näkee, että siinä tutkitun trilongiinin tuottamien kanavien virtamäärät vaihtelivat suhteessa 1:2:3. Kanavia syntyi siis yksi tai kaksi (per ikkuna), joskus kolmekin, jotka sitten vuoronperään sulkeutuivat. Vaihtamalla kyvetin sisältämää liuosta saadaan selville, mitä joneja kanavat läpäisevät: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} vai useampia. Paneleissa A ja B oli sama toksiiniseos (trilongiinit I-IV), paneleissa C, D oli toinen toksiini (trilongiini A1). Kyvetissä A suolana oli KCl, B panelissa NaCl. Tulos osoittaa että trilongiini BI-IV kanava läpäisi molempia, mutta oli läpäisevämpi kaliumin suhteen kuin natriumin. Paneleissa C, D tutkittu toksiini oli trilongiini A1. Trilongiinien aminohapporakenteet on näytetty piirroksessa oikealla, istutettuna fosfolipidikaksoiskerrokseen. Lähde: Mikkola ym., 2012.

8.7. Jonikanavia tuottavat toksiinit

Trichoderma longibrachiatum, jonka kolme hometalosta eristettyä kantaa on tutkittu perusteellisesti, tuottaa kahta eri tyyppistä trilongiinia, 20 ja 11 aminohapon pituisia molekyylejä, mutta kumpaakin oli erilaisina variantteina ja eri kannoissa eri määrasuhteissa (Mikkola ym 2012). Kliinisistä näytteistä eristetyt *Trichoderma longibrachiatum* ihmisessä sairauden aiheuttaneet kaksi kantaa ja neljä erilaisista muista ympäristöistä eristettyä kantaa tuottivat samoja trilongiineja. Kaikki yhdistelmät aiheuttivat samojen solutoimintojen häiriön (kalium-natrium

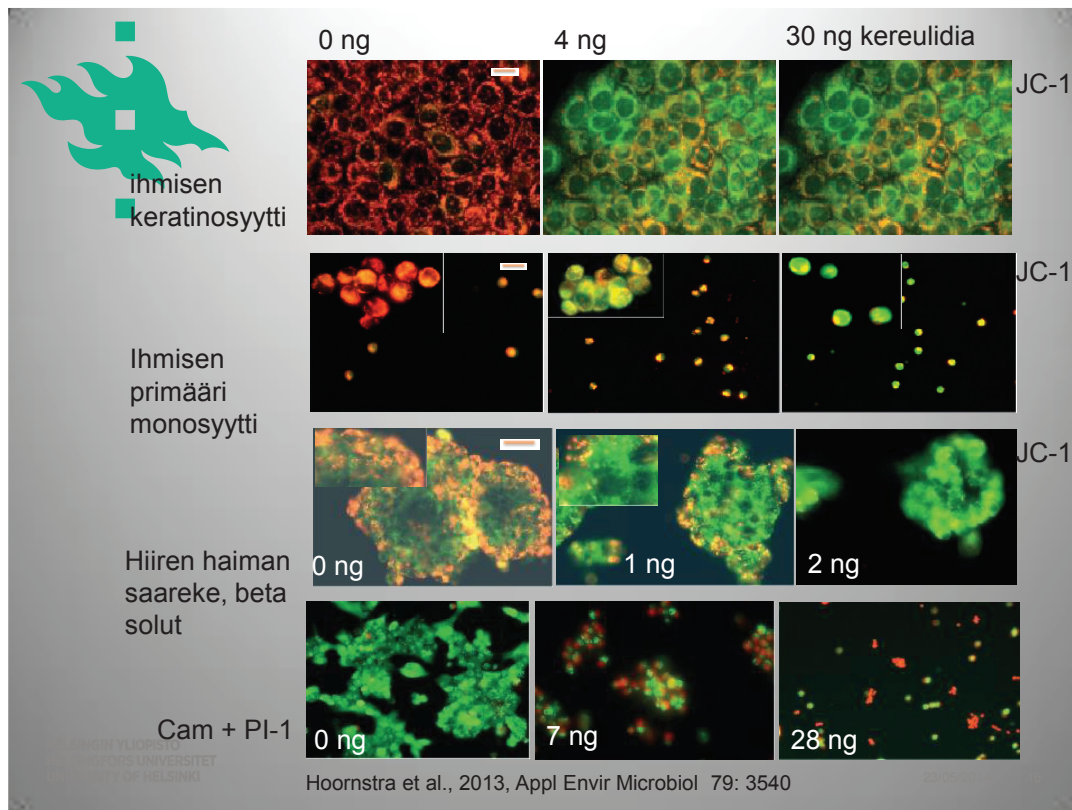
kanavien häiriköinti), mutta toksisen vaikutuksen vahvuus vaihteli molekyylien ja seosten välillä (Mikkola ym 2012). Yksittäisetkin, puhdistetut molekyylit olivat toksisia, mutta seosten ominaistoksisuus oli solutesteillä mitattuna suurempi kuin puhtasaineiden, eli ne vaikuttivat synergisesti. Koska monia trilongiineja voi muodostua yhtä aikaa, eri määrasuhteissa, ihminenkin altistuu aina seokselle.

Trichoderma suvun sienet (*T. longibrachiatum*, *T. atroviride*, *T. harzianum*) ovat yleisiä rakennuksissa, joissa koetaan vakavia, sisäilmaan liittyviä terveyshaittoja, usein ihoon liittyviä. Kaikki Helsingin Yliopistossa tutkitut, toksisiksi havaitut, näiden lajien kannat tuottivat trilongiineja. Trilongiinin myrkyllisyys perustuu sen kykyyn muodostaa jännitteestä ($\Delta\psi$, mV) riippuvia kalium-natrium kanavia solun kalvoin (Kuva 64). Kanava muodostuu spontaanisti, itsejärjestäytyneesti, kun riittävä määrä molekyyliä on läsnä. *T. longibrachiatum* sieni myös aiheuttaa klinisiä infektioita, eli kasvaa ihmisen elimistössä aiheuttaen vakavaa (harvinaista) sairautta. *T. longibrachiatum*'in ihmiselle aiheuttaman sairauden mekanismista saatiin konkreettista tietoa ensi kerran v. 2012, kun sen toksiinien rakenne ja niiden solutuhoa aiheuttavat ominaisuudet selvitettiin (Mikkola ym., 2012, Luku 4.8.2).

Tämän sienen todettiin tuottavan samoja toksisia molekyyliä sienikannan alkulähteestä riippumatta: hometallo, sairaalapotilas, maaperä ja komposti. Sitä on löydetty ympäri maapalloa, jopa etelämantereelta. Toksiini koostuu kahdesta eri perheestä lähisukuisia molekyyliä, trilongiineja, pitkät peptidit, 20 aminohappoa (molekyyllipainot 1936 – 1965 Da) ja lyhyet peptidit, 11 aminohappoa (1175 Da). Kukin kanta tuotti 5 – 8 isomorfista peptidiä. Trilongiinien jäljille päästiin sian siittiöitä testisoluna käyttäen. Sian siittiötestin herkkyys (alle 1 μ M) tälle toksiinille oli oleellinen työkalu joka mahdollisti näiden toksiinien puhtas-aineeksi eristämisen (Mikkola ym., 2012).

Kaikkiaan 8 eri *T. longibrachiatum* kannan toksiinit tutkittiin. Niiden alkuperät olivat tila, johon liittyi vakava sisäilmamyrkytys (3 kanta, Suomi), keskosen kuolemaan johtanut ihon infektoituminen (Espanja), tuberkuloosipotilaan sylkinäyte (Espanja), maanäyte (Antarktis), herkkusieni komposti (Iso-Britannia), biopestisidi (Egypti). Kaikista löytyi peptaiboleiksi tunnistettuja rasvaliukoisia peptidejä, 4 – 8 kpl eri peptaibolia erilaisina kokoonpanoina kustakin homekannasta. Hometalloista eristettyjen kantojen toksiinin tuottavuus oli hyvin korkea, 1 -2 paino% homepesäkkeen bruttopainosta Trilongiinien aminohapoista noin puolet on elimistölle vieraita, eniten on iso-amino-voihappoa. Ihmisen elimistöstä ei ole löydetty entsyymejä, jotka voisivat purkaa tai tehdä vaarattomiksi trilongiini-peptaiboleja. Kaikki löydetyt trilongiinit olivat lämpökestoisia, kemiallisesti kestäviä ja myrkyllisiä, mutta ominaismyrkyllisyyksissä oli eroja. Yhdistelmä oli myrkyllisempi kuin yhden lajin puhdas trilongiini. Trilongiinien myrkyllisyys perustuu niiden kykyyn soluttautua elimistön solukalvoon ja muodostaa siihen natriumia ja kaliumia läpäisevä nanokanava (alle 2 nm).

Trilongiinien vieraspeptideistä koostuva natrium-kaliumkanava häiriköi solun omia kaliumin ja/tai natriumin kuljetukseen erikoistuneita kanavia ja natrium- ja kaliumjoniliikenteeseen perustuvaa soluviestintää. Kalium kanava on kaikkien ihmissolujen tärkein jonikanava. Sen tehtävä on säätää mm. glukoosin ottoa verestä elinsoluihin, se toimii hermostossa sähköisen signaalin kuljettajana, ja kaliumkanava kuuluu osarakenteena lukemattoman moniin solukalvojen reseptoreihin. Trilongiini ja senkaltaiset kaliumia ja natriumia läpäiseviä kanavia tuottavat vieraspeptidit voivat siis aiheuttaa elintoimintahäiriöitä kaikissa niissä elimissä, mihin näitä molekyyliä joutuu. Erityisen uhanalaisia ovat ylähengitysteiden solut. Nenän hajuaistin soluista kulkee hajurata aivojen hajukäämiin.



Kuva 65 Kereulidi käynnistää solukuoleman

Muita kaliumia läpäiseviä häirikkökanavia tuottavia toksiineja tunnetaan hometaloista eristetyistä *T. atroviridae* ja *T. harzianum* kannoista (Molle ym, 1987). Ne tuottavat kalium-joneja läpäiseviä jonikanavia muodostavia peptaiboli-toksiineja (trikortsianiineja, hartsianiineja (Peltola ym., 2004).

8.8. Luontaista immuunijärjestelmää häiriköivät toksiinit

Hometaloista löydetty *Bacillus amyloliquefaciens* ja muutamat muut bacillus lajit (Apetroaie-Constantin ym., 2009) tuottavat amylosiiniiksi nimettyä kalium-natrium-jonikanavia muodostavia peptidejä, joka ovat vahvasti immuunitoksisia (Salkinoja-Salonen ym, 2011; Rasmus-Sahari ym, 2014). Amylosiini estää useiden bakteerien ja homelajien kasvun ja voi siten muuttaa ympäristönsä mikrobiomia. Amylosiinin avulla *B. amyloliquefaciens* tekee kalium-jonin mentävät reiät kohtaamiinsa soluihin, josta seuraa kaliumvuoto ja NLRP3 inflammasomin käynnistyminen. Jo kahdessa tunnissa käynnistyy ihmisen makrofageissa interleukiini 1- β ja IL-18 mRNA tuotanto. *B. amyloliquefaciens* bakteerille tämä voi olla keino vallata reviiriä lypsämällä kaliumjoneja muilta mikrobeilta. Mutta ihmisen solujen ollessa uhrina, seurauksena voi olla tyypillinen sytokiinireaktio lämmön nousuineen ja sytolyysineen. *B. amyloliquefaciens* tuottaa amylosiinin lisäksi useita erilaisia syklisia peptidejä (fengysiinejä, ituriinia ja surfaktiinia) jotka nekin ovat bioreaktiivisia.

8.9. Sisätiloissa käytetyn polyguanidini-desinfiointiaineen aiheuttamat terveyshaitat

”Disinfectant-associated-lung injury”, HDLI). Tätä epidemiaa koskevat lähdeviitteet on koottu nimikkeen ”PHMG-katastrofi” alle.

Polyheksametyleeniguanidi-fosfaatin (PHMG) käyttö sisätiloissa ilmankostuttimien veden desinfiointiin aiheutti Etelä-Koreassa vuosina 1994-2011 vakavan epidemian: keuhkofibroosin, johon liittyi myös kilpirauhasen surkastumista (thymic atrophy). Kyseessä on maailman suurin, perusteellisesti dokumentoitu, sisätilakäytössä olleen kemikaalin aiheuttama epidemia.

Ensimmäiset tapaukset kirjattiin v. 1994 (Kim KW, Ahn K, Yang HJ ym, 2014; Song JA, Park H-J, Yang M-J, 2014). Varmuudella PHMG-vammautuneita rekisteröitiin virallisesti yht. 329 henkilöä, joista 62 menehtyi. Keuhkovammakuolemaan johtaneissa tapauksissa asunnossa sisäilman PHMG pitoisuus oli keskimäärin $800 \mu\text{g}/\text{m}^3$, käyttöaika ≥ 11 tuntia/vrk, 7 päivänä viikossa (Paek D, Koh Y, Park D-U ym., 2015). Suurin kuolleisuus (80%) oli lapsilla, jotka PHMG käytön alkaessa olivat 4 vuotiaita tai sitä nuorempia. Potilaita saattoi olla useita samassa perheessä (Park D, Leem J, Lee K ym., 2014). Tilastollinen todennäköisyys, OR (vetosuhde) kuolemaan johtaneen keuhkofibroosi—sairauden ja PHMG:n käytön välillä aikuisilla oli 116,1 (luottamusväli 6,5 -2,063) (Park J-H, Kim H-J, Kwon G-Y ym, 2016). Joitakin potilaita pelastettiin keuhkojen transplantaatiolla (Jhang WK, Park SJ, Lee E ym., 2016).

Lapsilla tauti nimettiin ”Humidifier disinfectant-associated children’s interstitial lung disease”, chILD. Lapsilla sairaus alkoi yskänä, jota seurasi hengitysvaikeudet (takypnea) ja kuumeilu, altistuksen jatkuessa spontaanit ilmavuodot (Kim KW, Ahn K, Yang HJ ym, 2014).

88,4% tehohoitoon tuoduista potilaista tarvitsi lisähappea, koska $\text{Pa}_{\text{O}_2}/\text{Ft}_{\text{O}_2}$ oli alle 200. Laboratoriolöydöksissä leukosyyttien määrä vaihteli (ka $13'201/\mu\text{l}$; vaihteluväli 2500 – 38'420); lymfosyytit $4107/\mu\text{l}$ (304-23'040); neutrofiilit $8025/\mu\text{l}$ (550-28'080), senkka 20,7 mm/h (2,0 – 62); CRP 1,5 (0-35,4); virustestit negatiivisia (rinovirus, parainfluenza; resp. synsytial virus, influenssavirukset; adenovirukset, koronavirukset), samoin bakteerien viljely syljestä, 7 positiivista/85; ja veriviljely 7 positiivista/127.

Aikuisten potilaiden polyguanidifibroosin diagnostiset tunnusmerkit olivat: 1. bilateraalin, sentrilobulaarinen tai diffuusi mattalasivarjostuma keuhkoissa, joka dokumentoitiin korkean erotuskyvyn tomografialla (HRCT); 2. akuutti, interstitiaali pneumonia; 3. matala happisaturaatio; 4. spontaanit ilmavuodot (air leaks); 5. kohonnut neutrofiilien ja makrofagien määrä veressä, 6. kohonnut transforming-growth factor-beta-1; 7. kilpirauhasen atrofia; 8. 20-54 vuoden ikä; 9. oireet jotka sulkiput pois muut kliiniset diagnoosit. Sairauden vakavuusaste korreloi altistuspitoisuuteen (ilman PHMG-pitoisuus, $\mu\text{g}/\text{m}^3$). Akuutti tilanne (tehoahoito sairaalassa) syntyi etenkin talviaikana, jolloin ilmankostuttimet, kuivasta sisäilmasta johtuen, olivat ahkerassa käytössä. Hoitoon hakeutumisen syynä olivat vakavat hengitysvaikeudet (dyspnoea).

Herkimpiä sairastumaan olivat pikkulapset, < 6 vuotiaat, sekä raskaana olevat (Park DU, Friesen MC, Roh HS ym 2015; Kim YH, Kim WK, Lee KE ym 2015; Yoon HM, Lee E, Lee JS ym, 2016; Song JA, Park H-J, Yang M-J ym., 2014).

Pysyvästi vammautuneiden / menehtyneiden asunnoissa ilmankostuttimiin oli käytetty PHMG-pitoista desinfiointivalmistetta keskimäärin 2,1 vuotta (vaihteluväli 0,1 – 8,4 v), sairauden puhkeamista edeltävien 5 vuoden aikana yhteensä keskimäärin 8,2 litraa (vaihteluväli 0,4 – 28,0 l), 16,7 ml /vrk (vaihteluväli 7,3 – 133,3 ml). Keuhkovamman todennäköisyys nousi (OR 95,4, CI: 8,4 ->999) myös vähäisemmän käytön yhteydessä, 10 - <20 ml/vrk (Hong S-B, Kim HJ, Huh JW 2014; Park J-H, Kim H-J, Kwon G-Y ym, 2016). Sairastumiseen johtaneeseen altistukseen ei todettu liittyvän muiden biosidisten aineiden käyttöä tai homealtistusta (Park J-H,

Kim H-J, Kwon G-Y ym, 2016; Koo HJ, Do K-H & Chae EJ ym, 2016). Koe-eläin (rotta) kokeilla ja solutoksikologisilla mittauksilla tutkittiin PHMG vaikutuksia, neljällä ihmisen solulinjalla: Calu-3 keuhkoepiteelisolu, ihmisen keuhkorakkulan l. alveolin solu A549; THP-1 ihmisen makrofaagiksi differentioituva veren valkosolu; HMC-1 ihmisen syöttö-solu). Tulokset varmistivat, että PHMG-keuhkofibroosin aiheuttaja oli nimenomaan- ja yksinomaisesti polyguanidin desinfiointikemikaali (Jung H-N, Zerlin T, Podder B ym 2014; Kim HR, Lee K, Park CW ym 2016; Park K 2016; Park J-H, Kim HJ, Kwon G-Y ym 2016; Deterding 2014).

Polyguanidi-desinfiointiaineen käytön yhteys keuhkovammoihin ja -kuolemiin Eteläkoreassa alkoi hahmottua elo-syyskuussa 2011. Tuotteita oli silloin markkinoilla yht. 20 eri nimekettä, joista pääosa tuli markkinoille alkuvuodesta v. 2011 (Kim KW, Ahn K, Yang HJ, 2014). Eteläkorean hallitus toimi ripeästi, asetti markkinointikiellon PHMG:tä sisältäville tuotteille, jotka määrättiin poistettaviksi markkinoilta 11.11.2011 (Director Jeon, Byung Yul, Ministry of Health and Welfare of South Korea, 2011, Order_for_withdrawal_of_six_humidifier_disinfectant_products_from_the_market_issued.docx(147KB/ Download:129). Marraskuussa 2011 WHO julkaisi tiedotteen Eteläkorean hallituksen päätöksestä. Kiellon jälkeen ei Eteläkoreasta enää raportoitu uusia sairastumisia (Kim HJ, Lee M-S, Hong S-B ym., 2014).

Suomessa PHMG oli, boorikemikaalien ohella, yleisimmin homeentorjuntaan ja -saneeraukseen myytyjen valmisteiden tehoaine 1990-luvulta vuoteen 2014. Kun v. 2013 astui voimaan EU-direktiivi, joka poisti PHMG:n sallittujen desinfiointibiosiden luettelosta, markkinatuotteissa siirryttiin sen sisaraineeseen, PHMB:hen, jonka toksikologiset mekanismit ovat samat kuin PHMG:n. Molemmilla on sama tehollinen solutoksikologinen EC₅₀ pitoisuus epiteelisoluille (keuhkosolut, munuaissolut, ihon keratinosyytit), 1 – 5 mg/litra (altistusajasta riippuen), eli kauppavalmisteen 1000-5000-kertainen laimennus (Andersson ym, 2013; 2014).

Suomessa PHMG/B tehoaineena sisältäviä tuotteita ovat ilmanvaihtokanavien saneeraukseen, kosteusvaurioisten tai sellaisiksi epäiltyjen sisätilojen (seinät, lattiat, katot, irtaimistot) ja rakenteiden käsittelyyn käytetyt pintalevitysvalmisteet, kuluttajille ja ammattikäyttöön myydyt käsidesit (sairaaloissa, hoitolaitoksissa, burger-ravintoloissa), optikkoliikkeissä asiakaskontaktiin tulevien välineiden desinfiointisuihkeet, jalkojen hoitajien asiakkaan ihon desinfiointiin käyttämät suihkeet, kuntosalien välineiden desinfiointi tuotteet, sisäilmatutkijoiden käyttämät suihkeet sisäilman mikrobiaerosolien mittaukseen käytetyille näytekeräimille, rakennusalan yritysten toimeksiannosta tapahtuvat uusien asuntojen desinfiointikäsittelytuotteet (Kuvat 43, 44). PHMG ja PHMB valmisteet ovat vesiliukoisia jotka sisältävät yleensä 5000 mg PHMG/B tehoainetta / litra. Niitä myydään nesteinä, sumutteina ja suihkeina. Sisätilakäyttöön tarkoitettuja valmisteita oli v. 2013-5 markkinoilla 5 - 10 eri tuotetta (Louhelainen ym, 2016; Andersson ym., 2013; sisäilmayritysten verkkosivut). Suomessa tuotteita käytetään siten, että pinnat käsitellään ja tehoaine jätetään pinnoille. Muissa maissa (USA) käyttö on ollut joko ulkoilmavesialtaissa (leväkasvun estoon), eläinsuojissa tai sisätiloissa rinse-off menetelmällä: käsittelyn jälkeen pinnat huuhdotaan ennen eläinten /ihmisten paluuta tiloihin (EPA, 2004).

Suomessa ei polyguanidisten desinfiointivalmisteiden käytön mahdollisia terveyshaittoja ole tutkittu. Eteläkoreassa syy-yhteys sairastumisiin saatiin selville vasta vuosia tosiasiallisten terveyshaittojen syntymisen jälkeen, koska terveyshaitta-oireita ei osattu yhdistää desinfiointiaineeseen, jonka höyrynpaine on matala ja myrkyllisyys suun ruuansulatuskanavan kautta saatuna vähäinen. Eteläkorean kokemukset osoittavat, kuinka dramaattisen tärkeä on altistumisreitti: hengitysteitse altistuminen oli tässä tapauksessa 1000 kertaa haitallisempi kuin jos aine olisi saatu ravinnon mukana. Tämä saattaa päteä PHMG/B:n lisäksi muihinkin kuluttajakemikaaleihin ja julkisissa tiloissa käytettyihin valmisteisiin (luku 7.2.).

PHMG/B maahantuonti on arvioitu olleen vuositasaan 1 - 10 tonnia (tehoainepitoisuus 20%). Näiden tehoaineiden pääasiallinen käyttökohde Suomessa oli/on sisätilat ja -rakenteet. Vuotuiseksi arvioitu käyttömäärä Suomessa riittäisi terveydelle todistetusti haitalliseen altistukseen (0,8 mg/m³, Paek D, Koh Y, Park D-U ym., 2015) ainakin miljardille ilmakeuutiometrille joka vuosi. Tämän kirjoittajan käsitys on että PHMG/B altistukseen mahdollisesti liittyvää terveyshaittaa on tarpeen selvittää myös Suomessa.

8.10. Mikrobittomuuden aiheuttamia sairauksia

Ihmisen luontainen immuunijärjestelmä on ”tyhjä kirja” lapsen syntyessä. Syntymättömän lapsen iho ja suolistot ovat steriilit. Sen täytteeksi tarvitaan luontaisia ihon mikrobeja. Niiden saanti alkaa äidiltä lapselle jo synnytyksen yhteydessä ja jatkossa kodin muiltakin jäseniltä. Lisäksi lapsen immuunijärjestelmän on tutustuttava turvallisen luonnonympäristön mikro- beihin: kasvit, eläimet, multa. Luontaisen immuunipuolustuksen kypsyminen oikealla tavalla toimivaksi edellyttää jokapäiväistä ”seurustelua” ympäristön monimuotoisen mikrobimaailman kanssa (Rook 2013; Rook & Lowry 2013a, b). Tärkein kypsymisjakso on ennen 3 vuoden ikää, mutta jatkuu nuoruusvuosiin ja aikuisuuteen asti (von Hertzen, Mäkelä, Petäys ym., 2006; Von Hertzen, Hanski, Haahtela, 2011; von Hertzen, Hyvärinen, Laatikainen ym., 2011 ja viitteet Taulukossa 19). Jos luontaisen immuunipuolustuksen kypsyminen jää kesken tai tapahtuu liian hitaasti, riski sairastua kroonisiin autoimmuunitaluteihin kasvaa (Taulukko 19), ym (Turnbaugh ym., 2009). Autoimmuunisairaus tarkoittaa sitä, että ihminen alkaa tuottaa vasta-aineita ja muuta immuunipuolustusta omien solujensa rakenneosia vastaan.

Autoimmuunisairaudet, tyypin 1 diabetes, reuma, astma, tyreoidiitti, allergia, atopia, ALS, dementiat ja muut hermoston rappeumasairaudet (dementiat), suolistosyndroomat (IBD, Crohnin tauti), mutta myös lihavuus ja mielenterveysongelmat kuten masennus, ovat lisääntyneet kaikissa läntisissä teollisuusmaissa 1980-luvulta lähtien, mutta Suomessa erityisesti (Harjutsalo ym., 2008; Jussila ym. 2014a,b, Lehtinen ym. 2011). Sairaudet puhkeavat nuoremmassa iässä kuin aiemmin: Suomessa tyypin 1 diabetekseen sairastuttiin 1970-luvulla keskimäärin lukio-ikäisinä, nyt sairastumisen huippu on päiväkotiiässä. IBD syndrooma ja tyreoidiitit olivat keski-ikäisten sairauksia, nyt niihin sairastutaan teini-ikäisenä tai jopa varhemmin. Tyypin 1 diabetes on nyt Suomessa 2–3 kertaa yleisempää kuin muissa EU maissa (Harjutsalo ym. 2008). Suomalaiset kodit ovat mikrobiköyhempiä kuin rajan takana (Pakarinen ym., 2008). Siitepölyallergiat ja sisäilmanmikrobi-ärsykkeistä sairastuminenkin saattaa osin liittyä mikrobialtistuksen vähyteen. Suuren koulujen sisäilmaan liittyvän HITEA tutkimushankkeen tulokset viittaavat siihen suuntaan (ks. ”HITEA TIIVISTYS”).

Taulukko 19. Autoimmuunisairauksia joilta elinympäristön mikrobiologinen monimuotoisuus suojaa. Lähde: Von Hertzen ym (2011), Hanski ym 2013, Heederik & von Mutius (2012)

Sairaus	Kokeellinen näyttö	Lähdeviite
Astma ja allergiat	ihminen	Sjögren ym 2009
Tyypin 1 diabetes	hiirimalli	Wen ym 2008
IBD (inflammatorinen suolistosairaus)	ihminen, hiirimalli	Round & Masmanian, 2009
Lihavuus	ihminen, hiirimalli	Turnbaugh ym 2009
Käytöshäiriöt	hiirimalli	Bienenstock & Collins, 2010
Krooninen obstruktiivinen keuhkosairaus	ihminen	Hilty ym 2010

HITEA tiiviisti:

Mitä sisäilmaepidemiasta opittiin EU-hankkeessa HITEA?

Suomi (THL) oli koordinaattorina vuosina 2011–2014 toteutetussa suurhankkeessa HITEA (www.hitea.eu), laajin koskaan Euroopassa toteutettu, jonka tavoitteena oli selvittää kosteus- ja homevaurioiden osuus koulujen terveysongelmissa. V. 2015 loppuun mennessä siitä on julkaistu tieteellisessä kirjallisuudessa runsaasti tutkimustuloksia. (Ks. lähdeluettelon kohta ”HITEA”).

HITEAssa tutkittiin 29 home- ja kosteusvaurioisen ja 27 verrokkikoulun yht. 9271 oppilaan terveystilanteet, 9271 lasta 6 – 10 v. ikäisinä, Suomessa, Hollannissa ja Espanjassa, yht. 232 luokkahuonetta samalla tutkimustiimillä ja – menetelmillä. Luokkatiloista kerättiin sisäilmapölyä kolmena vuodenaikana, kukin 8 viikkoa, yht. 700 näytettä, joista tutkittiin mikrobiologiset summaparametrit (endotoksiini, glukaanit, ergosteroli, grampositiivit ja gramnegatiivit bakteerit) ja mitattiin DNA tekniikalla (jolla näkyvät sekä elävät, että ”kuolleet” mikrobit) indikaattoribakteerien, mykobakteerit ja streptomykeetit, ja – indikaattorihomeiden (*Penicillium/Aspergillus/Paecilomyces variotii* ryhmä, *Trichoderma*, *Wallemia*, *Stachybotrys*, *Cladosporium* ja *Eurotium* ryhmät) määrät pölylaskeumissa (pölyn genomeja /m²/ vrk).

HITEA hankkeen tulos osoitti, että summaparametrien (endotoksiini, glukaani, ergosteroli) määrät olivat espanjalais- ja hollantilaiskoulujen sisätilaskeumissa olivat keskimäärin 5 – 10-kertaiset suomalaiskouluihin verrattuna, ja indikaattoribakteerien ja homeiden määrät Hollannin ja Espanjan kouluissa olivat 50 – 100 kertaiset (siis ei 100 % suuremmat, vaan >2500 % !) suuremmat kuin suomalaiskoulujen sisäilmapölyssä. Myös sisäilman suomalaiskoulujen pienhiukkaspitoisuudet olivat vain murto-osa espanjalais ja hollantilaiskoulujen ilman pienhiukkaspitoisuuksista. Tulokset näyttivät että vertailumaiden hankkeessa mukana olleet koulut olivat moninkerroin mikrobiologisesti ”likaisempia” kuin suomalaiskoulut. Kuitenkin suomalaiskoulujen lapset *sairastivat* hollantilais- ja espanjalaiskouluja enemmän sisäilmaongelmiin liitettyjä oireita: astmaa, nenän oireita ja hengitystieoireitten aiheuttamia sairaspotilaita Suomessa oli eniten.

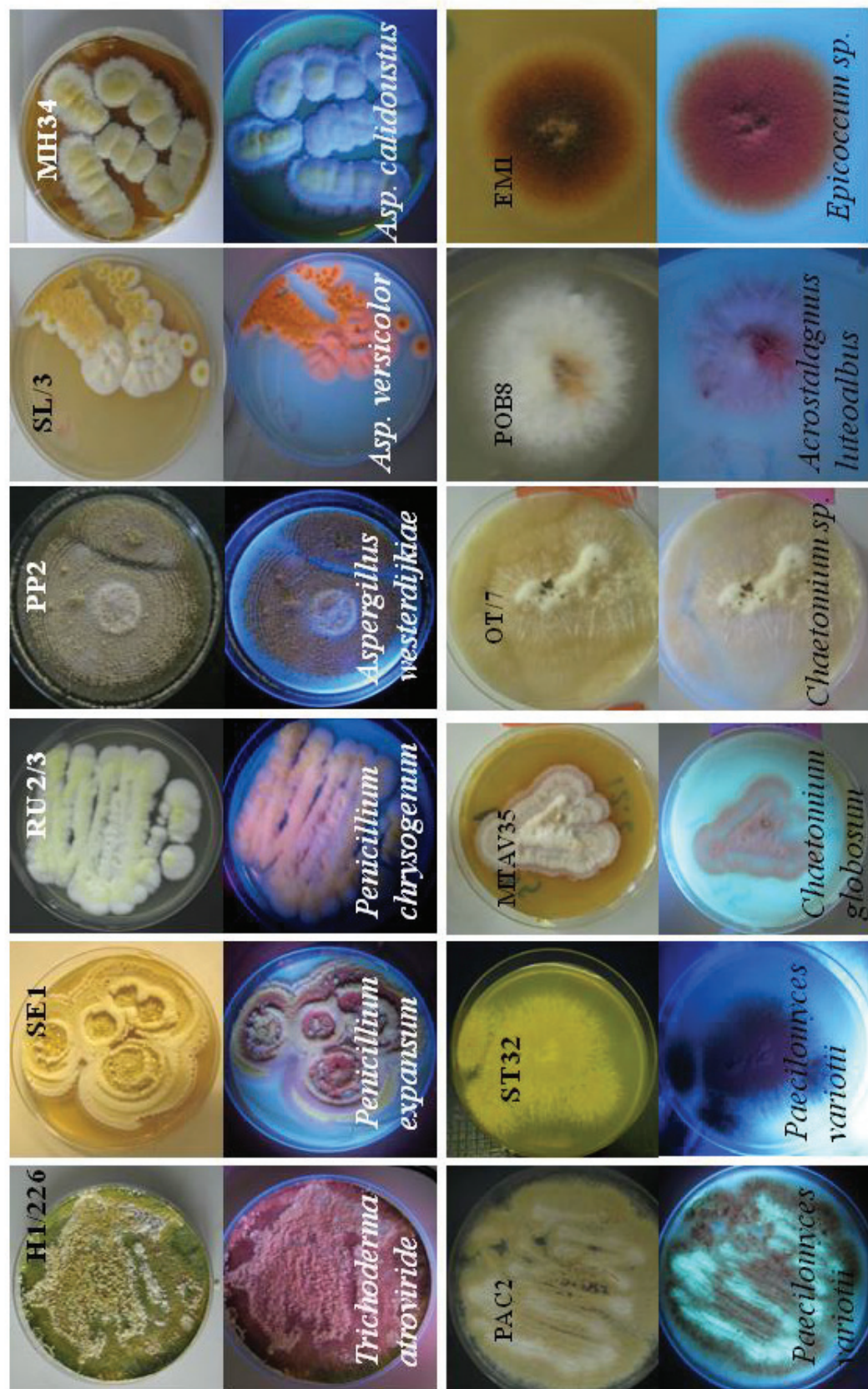
HITEA hankkeessa tutkittiin koulujen sisäilmapölyjen kykyä aktivoida tai vaurioittaa luontaisen immunitetin tärkeitä toimijasoluja. Hiiren makrofageilla tehtyjen mittausten tulokset osoittivat, että espanjalais- ja hollantilaiskoulujen sisäilmapöly aktivoi kaikkia neljää tutkittua makrofagien immunologista markkeria (typpioksidit, interleukiini IL-6, TNF- α ja MIP-2) 4 – 10 kertaisesti tehokkaammin kuin suomalaiskoulujen sisäilmapöly samoilta ajanjaksoilta. Kaikkia mikrobeihin liittyviä parametrejä, sekä myös kosteus- ja homevaurioita, ja sisäilman pienhiukkasia, HITEAn espanjalais- ja hollantilaiskoulu-rakennuksissa siten oli enemmän kuin suomalaiskouluissa (Duo-decim uutistiedote 2013 ja lähdeluettelon HITEA-julkaisut).

Immunologisten parametrien tutkimukset HITEAssa osoittivat, että suomalaiskoulujen pölyillä, koulun vaurioituneisuudesta riippumatta, ei ollut aktivoivaa, mutta ei myöskään tappavaa vaikutusta makrofageihin. Suomalaispölyt olivat immunologisesti inertejä, ikään kuin ”sammutettuja”. Kun taas hollantilais- ja espanjalaiskoulujen pölyt aktivoivat samoja hiirimakrofageja tehokkaasti.

Yleisjohtopäätös HITEA hankkeen tuottamasta valtavasta datamäärästä on, että saatiin paljon mahdollisia aiheuttajia poissulkevaa tietoa, mutta itse kysymys - mikä sisäilmassa sairastuttaa? – jäi vastausta vaille. HITEAn julkaisut on listattuna lähdeluettelon H-kirjaimen kohdalla.

Tutkijoina kysymme: ovatko koulumme ”liian puhtaita”, kuoliaaksi siivottuja / desinfioituja? Miksi sitä mikä suomalaisissa rakennuksissa sairastuttaa, ei löydetty?

Kokemuseräisesti esitetään usein, että rakennuksissa, joissa on *kosteusvaurioita*, sairastetaan keskimääräistä enemmän, totesi Eduskunnan Tarkastusvaliokunnan lausunto (2013). Kosteusvaurioiden syyksi mainitaan korjausvelkaa, huonoa kiinteistöjen hoitoa, välinpitämättömyyttä. Pelkääkö kosteudesta ei voi suomalaisessa sisäilma”epidemiassa” olla kyse, koska Suomi on teollisista länsimaista *kuivin*, vuotuinen sademäärä on EU-maiden alin, alle 700 mm, lumi mukaan lukien. Sisäilman suhteellinen kosteus RH on Suomessa talvisin alle 30 % ja kesäisinkin harvoin ylittää 50 %. Sisäilman suhteellinen kosteus on esimerkiksi Hollannissa vuosikeskiarvona 80 % (73 % - 89 %) ilman että sisäilman kosteuteen liittyen merkittävästi sairastettaisiin (Adan ym., 2011)



JÄLKIPUHE

Tämä kirja on tulos Työsuojelurahaston pitkäaikaisesti tukemasta tutkimustyöstä sen kysymyksen ratkaisemiseksi: *mikä suomalaisissa rakennuksissa sairastuttaa ihmisiä?* Työpaikalla ja kotona, maalla ja kaupungissa.

Jos syitä olisi yksi – tai edes viisi tai kaksikymmentä – asia olisi ratkennut jo vuosia sitten. Tämä olikin paljon monimutkaisempaa kuin työtä alkaessani, 20 vuotta sitten, olin ajatellut tai edes osannut kuvitella.

Nyt tiedämme paljon, ja olemme jo lähellä sitä että osattaisiin rakentaa täysin terve talo ja käyttääkin sitä niin, että talo pysyy terveenä..

Olen kirjoittanut – työtoverieni avulla ja kannustamana – tämä kirjan muistiinpanoiksi ja tietovarastoksi siitä, mitä kaikkea olemme huomanneet ja pitää ajatella ja ottaa huomioon. Siksi, että ei katoaisi se kollektiivinen, hiljainen tieto, jota tämä ryhmä on tuottanut – tilkkutäkki, palasia siitä, mitä vielä pitäisi mitata ja täydentää ennenkuin koossa on kokonaisuuksia jotka läpäisevät tieteellisen julkaisun arvioijan seulan.. Samasta syystä kirja on suomenkielinen – että tulisi laajaan käyttöön, muiden(kin) kuin tutkijoiden.

Tämä kirja on kiitos:

Aalto Yliopistolle, Rakennustekniikan, Materiaalitekniikan, Geotekniikan ja Automaatiotekniikan professoreille, tutkijoille ja opiskelijoille joilta olen saanut oppia ja innostusta viime neljän vuoden aikana. Erityisesti professori Martti Viljaselle, niistä sadoista keskustelutunneista joihin uhrattua aikaa en enää millään voi korvata.

Otan nöyränä vastaan Aalto Yliopiston minulle myöntämän Tekniikan kunniatohtorin arvon 7.10.2016.

Helsingin Yliopiston Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitoksen johtoa ja työtovereita kiitän erinomaisesta tutkimusympäristöstä ja pitkämielisestä suhtautumisesta kun aina kaikki ole sujunut niin kuin oli suunniteltu.

Metropolia Ammattikorkeakoulua, Helsingin, Vantaan, Lahden ja Jyväskylän kaupunkia, Sipoon kuntaa, kiitän yhteistyömahdollisuuksien luomisesta.

Läheisiä työtovereita kiitän, erityisesti Maria Anderssonia, jonka työtä tämänkin kirjan innovaatiot ovat, jolle olen saanut olla kirjurina. Virheet ovat minun.

Suomen Akatemiaa, TEKESiä, EUta kiitän infrasta ja euroista, joita ilman tutkimusta ei voi tehdä.

Viikissä ja Otaniemessä 7.10.2016

Mirja Salkinoja-Salonen

LÄHDEVIITTEET

- Adan OCG, Huinink HP, Bekker M. 2011. Water relations of fungi in indoor environments. Teoksessa: OCG Adan, RA Samson (toim.), Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living. Wageningen Academic Publishers, (Wageningen, NL), 41-66.
- Ajao C., Andersson M., Nelo, K, Salin, P., Salkinoja-Salonen M., Käsikirjoitus valmisteilla (2016).
- Ajao C., Andersson M., Teplova, V.V., Nagy S., Gahmberg C.G., Andersson L.C., Hautaniemi, M., Kakasi B., Roivainen M., Salkinoja-Salonen M. 2015. Mitochondrial toxicity of triclosan. Toxicology Reports (Elsevier), 2, 624-637
- Alenius, H., Pakarinen J., Saris, O., Andersson, M. A. Sirola, K., Majuri, M.L., Leino, M, Niemelä J., Matikainen, S., Wolff, H., von Hertzen, L., Mäkelä, M., Haahtela, T., Salkinoja-Salonen, M.S. 2008. Contrasting immunological effects of two disparate dusts? - preliminary observations. International Archives of Allergy and Immunology, 149(1) 81-90.
- Allen JG, MacIntosh DL, Saltzman LE, Bakker BJ, Matheson JM, Recht JR, Minegishi T, Fragala MA, Myatt TA, Spengler JD, Stewart JH, McCarthy JF. 2012. Elevated corrosion rates and hydrogen sulfide in homes with "Chinese Drywall". Sci Tot Environ 426, 113-119
- Altayar M., Sutherland AD, 2006. *Bacillus cereus* is common in the environment but emetic toxin producing isolates are rare. J Appl Microbiol 100, 7-14.
- Alves M, Novaes P, De Andrade Morraye M, Sol Reinach P, Melani Rocha E. 2014. Is dry eye and environmental disease? Arq Bras Oftalmol 77, 193-200
- Amitani R., Taylor G., Elezis EN, Llewellyn-Jones C., Mitchell J., Kuze F., Cole P.J., Wilson, R. 1995. Purification and characterization of factors produced by *Aspergillus fumigatus* which affect human ciliated respiratory epithelium. Infect. Immun 63, 3266-3271
- Andersen B, Smedsgaard J, Frisvad JC. 2004. *Penicillium expansum*: Consistent Production of Patulin, Chaetoglobosins, and Other Secondary Metabolites in Culture and Their Natural Occurrence in Fruit Products. J Agric Food Chem 52, 2421-2428
- Andersen B, Dosen I, Lewinska AM, Nielsen KF. 2016. Pre-contamination of new gypsum wallboard with potentially harmful fungal species. Indoor Air, doi:10.1111/ina.12298.
- Anderson SE, Shane H, Long C, Lukomska E, Meade BJ, and Marshall NB. 2016. Evaluation of the irritancy and hypersensitivity potential following topical application of didecyl dimethyl ammonium chloride J Immunotoxicol. 2016 July ; 13(4): 557-566. doi:10.3109/1547691X.2016.1140854.
- Andersson M. 1999. Bacterial Diversity and Toxicity in Air, Indoor Environment and Foods. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian lts., Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis, 13/1999. 81 sivua + 6 liitettä.
- Andersson M, Laukkanen M, Nurmiäho-Lassila E-L, Rainey FA, Niemelä SI, Salkinoja-Salonen MS. 1995. *Bacillus thermosphaericus* sp.nov. a new thermophilic ureolytic *Bacillus* isolated from Air. System. Appl. Microbiol., 18, 203-220.
- Andersson MA, Nikulin M, Kõljalg U, Andersson MC, Rainey F, Reijula K, Hintikka E-L, Salkinoja-Salonen M. 1997. Bacteria, molds and toxins in water damaged building materials. Appl Envir Microbiol 63, 387-397.
- Andersson, M.A. Mikkola, R., Helin, J., Andersson M.C. & Salkinoja-Salonen, M.S. 1998a. A novel sensitive bioassay for the detection of *Bacillus cereus* emetic toxin and related depsipeptide ionophores. Appl Envir Microbiol, 4(4),1338-1343.
- Andersson, M.A., Mikkola, R., Helin, J., Rainey, F., Kroppenstedt, R., Sivonen, K., Salkinoja-Salonen, M.S. 1998b. Mitochondrial toxin produced by *Streptomyces* strains isolated from indoor environment is valinomycin. Appl Env Microbiol, 64 (12): 4767-4773

- Andersson, M.A., Weiss, N., Rainey, F.A. & Salkinoja-Salonen, M.S. 1999. Dustborne bacteria in animal sheds, schools and children's day care centers. *J Appl Microbiol*, 86(4): 622-634.
- Andersson M., Tsitko, I., Vuorio, R., Salkinoja-Salonen, M., 1999. Mycobacteria and related genera are major colonizers of a wall in a children's day care center. Teoksessa: *Bioaerosols, Fungi and Mycotoxins: Health Effects, Assessment, Prevention and Control*, toim E. Johanning, Eastern New York Occupational and Environmental Health Center, Albany, New York, USA, sivut 396-402.
- Andersson, M. A., Jääskeläinen, Elina, J., Shaheen, R., Pirhonen, T., Wijnands L. M. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2004. Sperm bioassay for rapid detection of cereulide producing *Bacillus cereus* in food and related environments, *Int J Food Microbiol*, 94(2), 175-183.
- Andersson MA, Mikkola R, Raulio M, Kredics L, Maijala P, Salkinoja-Salonen, MS. 2009. Acrebol, a novel toxic peptaibol produced by an *Acremonium exuviarum* indoor isolate. *J Appl Microbiol* 106, 909-923.
- Andersson MA, Jääskeläinen EL, Mikkola RM, Teplova VV, Veijalainen P, Apetroaie C, Hoornstra D, Kroppenstedt RM, Salkinoja-Salonen MS. 2005. Indoor Bacilli and Streptomyces produce substance toxic to mammalian cells. Teoksessa: *Bioaerosols, Fungi, Bacteria, Mycotoxins and human health: Pathophysiology, Clinical Effects, Exposure Assessment, Prevention and Control in Indoor Environments and Work*. Ed by Eckardt Johanning. Fungal Research Corp, Albany New York USA, pp 292-298.
- Andersson, M.A., Hakulinen, P., Honkalampi-Hämäläinen, U., Hoornstra, D., Lhuguenot, J.-C., Mäki-Paakkanen, J., Savolainen, M., Severin, I., Stamatii, A., Turco, L., Weber, a., von Wright, A., Zucco, F. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2007. Toxicological profile of cereulide, the *Bacillus cereus* emetic toxin, in functional assays with different mammalian and bacterial cells. *Toxicon*, 49, 351-367
- Andersson, MA, Salkinoja-Salonen M., Mikkola R. 2012. Uusi menetelmä sisäilmatoksiinien löytämiseen: LC-MS –biotesti yhdistelmä, Sisäilmastoseminaari SIY Raportti 30, 37-42.
- Andersson, MA, Mikkola R, Salkinoja-Salonen M. 2013. Biosidiset boori ja PHMG/B edistävät toksisten sisätilahomeiden leviämistä rakennuksissa. Sisäilmastoseminaari SIY Raportti 31, 299-304.
- 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. *Toxicology in Vitro*, 24, 2041-2052.
- Andersson M, Salo J, Lipponen O, Salonen P, Viljanen M, Ojamo H, Mikkola R, Sistonen E, Gasik M, Teplova VV, Salin M, Salkinoja-Salonen M. 2014. Rakennusten kemikaalien joukossa on myrkyllisiä, herkistäviä ja haittamikrobeja suosivia yhdisteitä. Sisäilmastoseminaari 2014, Sisäilmayhdistys, SIY Raportti 32, 371-376.
- Andersson MA, Kredics L., Mikkola R., Salo, J., Salkinoja-Salonen MS. 2016. Käsikirjoitus.
- Andersson M, Aattela E, Mikkola R, Atosuo J, Lilius E-M, Suominen E, Lehtinen S, Viljanen M, Salkinoja-Salonen M. 2016. Uusia sisäilman tutkimusmenetelmiä. Sisäilmastoseminaari 2016. SIY Raportti 34, 295- 300.
- Andersson MA, Salkinoja-Salonen M. 2016. Julkaisemattomia tutkimustuloksia.
- Ando K, Yoshihisa K, Aoyagi K, Ishikawa R, Igarashi M, Takahashi M. 2013. Calmodulin-dependent regulation of neurotransmitter release differs in subsets of neuronal cells. *Brain Res* 1535, 1-13.
- Anttila VJ, Kokki, M., Rickardson M. 2003. Kandidat. *Aspergillus*. Teoksessa: *Mikrobiologia ja infektioosairaudet*, Kirja 1., toim P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri, V. Valtonen, Duodecim, Helsinki, ss. 298–304 ja 305-309.
- Antunes G, Sebastiao AM, Simoes de Sousa FM. 2014. Mechanisms of Regulation of Olfactory Transduction and Adaptation in the Olfactory Cilium. *PLoS One* 9, e105531.
- Apetroaie, C., Andersson, M.A., Spröer, C., Tsitko, I., Shaheen, R., Jääskeläinen, E. L., Wijnands, L.M., Heikkilä R., & Salkinoja-Salonen, M.S. 2005. Cereulide producing strains of *Bacillus cereus* show diversity, *Arch Microbiol*, 184: 141-151.

- Apetroaie-Constantin, C., Shaheen, R., Andrup L., Smidt L., Rita, H. and Salkinoja-Salonen, M.S. 2008. Environment driven cereulide production by emetic strains of *Bacillus cereus*. International Journal of Food Microbiology, 127, 60-67.
- Apetroaie-Constantin, Camelia. 2008. Cereulide producing *Bacillus cereus* and amylosin producing *Bacillus subtilis* and *Bacillus mojavensis*. Characterization of Strains and Toxigenicities. Väitöskirja, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, Helsingin Yliopisto, 88 sivua + 4 julkaistua liitettä.
- Apetroaie-Constantin C., Mikkola R., Andersson, M.A., Teplova, V., Suominen, I., Johansson, T. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2009. *Bacillus subtilis* and *Bacillus mojavensis* strains connected to food poisoning produce the heat stable toxin amylosin. Journal of Applied Microbiology, 106, 1976-1985
- Api AM, Belsito D, Bhatia S, Bruze M, Calow P, Dagli ML, Dekant W, Fryer AD, Kromidas L, La Cava S, Lalko JF, Lapczynski A, Liebler DC, Politano VT, Ritacco G, Salvito D, Schulz TW, Shen J, Sipes IG, Wall B, Wilcox DK. 2015. RIFM fragrance ingredient safety assessment, benzyl alcohol, CAS Registry Number 100-51-6. Food and Chemical Toxicology 84: S1-S14.
- Armendariz O, Gil-Morel M, Zulet A, Zabalza A, Royuela M. 2016. Both foliar and residual applications of herbicidal induce alternative respiration and aerobic fermentation in pea roots. Plant Biology 18, 382-390.
- Aubert CE, Michel P-L, Gillery P, Jaisson S, Fonfrede M, Morel F, Hartemann A, Bourron O. 2014. Association of peripheral neuropathy with circulating advanced glycation end products, soluble receptor for advanced glycation end products and other risk factors in patients with type 2 diabetes. Diabetes Metab Res Rev 2014; 30: 679-685
- Atosuo J, Lehtinen J, Vojtek L & Lilius E-M. 2013. *Escherichia coli* K-12 (pEGFoluxABCDEamp): a tool for analysis of bacterial killing by antibacterial agents and human complement activities on a real-time basis. Luminescence 28, 771-779.
- ATSDR, 2014. US Department of Health and Human Services. Agency for Toxic substances and Disease Registry. Public Health Service. 2014 Toxicological Profile for hydrogen sulfide. 200 pages.
- Barker AP, Horan JL, Slechta ES, Alexander BD, Hanson KE. 2014. Complexities associated with the molecular proteomic identification of *Paecilomyces* species in the clinical mycology laboratory. Med. Mycol. 52(5), 537-545.
- Bencsik, O., Papp T., Berta, M., Zana, A., Forgó, P., Dombi, G., Andersson M.A., Mirja Salkinoja-Salonen M.S., Vágvölgyi C., Szekeres A. 2014. Ophiobolin A from *Bipolaris oryzae* perturbs motility and membrane integrities of porcine sperm and induces cell death on mammalian somatic cell lines. Toxins 6, 2857 - 2871.
- Beier RC, Foley SL, Davidson MK, White DG, McDermott PF, Bodeis-Jones S, Zhao S, Andrews K, Crippen TL, Sheffield CL, Poole TL, Anderson RC, Nisbet DJ. 2014. Characterization of Antibiotic and Disinfectant Susceptibility Profiles among *Pseudomonas aeruginosa* Veterinary Isolates Recovered During 1994-2003. J Appl Microbiol, November 2014, DOI:10.1111/jam.12707
- Berthod A, Tomer S, Dorsey JG. 2001. Polyoxyethylene alkyl ether nonionic surfactants: physicochemical properties and use for cholesterol determination in food. Talanta 55, 69-83.
- Bionda N, Pitteloud J-P, Cudic, P. 2013. Cyclic lipodepsipeptides: a new class of antibacterial agents in the battle against resistant bacteria. Future Med Chem, 5(11) doi:10.4155/fmc.13.86
- Bisset. 1987. Fungi associated with urea-formaldehyde foam insulation in Canada. Mycopathologia 99(1), 47-56
- Bloom E, Bal K, Nyman E, Must A, Larsson L. 2007. Mass Spectrometry-based strategy for direct detection and Quantification of some Mycotoxins Produced by *Stachybotrys* and *Aspergillus spp* in Indoor Environments. Appl Envir Microbiol 73, 4211-4217.

- Bloom E, Nyman E, Must A, Pehrson C, Larsson L. 2009. Molds and mycotoxins in indoor environments – a survey in water-damaged buildings. *J. Occup Environ Hyg*, 6, 671-678.
- Boesch-Saadatmandi C, Loboda A, Jozkowicz A, Huebbe P, Blank R, Wolfram S, Dulak J, Rimbach G. 2008. Effect of ochratoxin A on redox-regulated transcription factors, antioxidant enzymes and glutathione-S-transferase in cultured kidney tubulus cells. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2665-2671.
- Borras-Santos A, Jacobs JH, Täubel M, Haverinen-Shaughnessy U, Krop EJM, Huttunen K, Hirvonen M-R, Pekkanen J, Heederik DJJ, 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 doi:10.1136/oemed-2012-101286
- Boukamp P, Petrussevska RT, Hornung J, Markham A, Fusenig NE. 1988. Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. *J. Cell Biol.*, 106, 761-771.
- Brasel TL, Douglas, DR, Wilson SC, Straus DC. 2005a. Detection of airborne *Stachybotrys chartarum* macrocyclic trichothecene mycotoxins on particulates smaller than conidia, *Appl Envir Microbiol* 71, 114-122.
- Brasel TL, Martin JM, Carriker CG, Wilson SC, Straus DC. 2005b. Detection of airborne *Stachybotrys chartarum* macrocyclic trichothecene mycotoxins in the indoor environment. *Appl Env Microbiol* 71, 7376-7388.
- Bregnbak D., Lundov MD, Zachariae C., Menne T., Johansen JD. 2013. Five cases of severe chronic dermatitis caused by isothiazolinones. *Contact Dermatitis*, doi: 10.1111/cod.12081
- Brenneman KA, Meleason DF, Sar M, Marshall MW, Arden-James R, Gross EA, Martin JT, Dorman DC. 2002. Olfactory mucosal necrosis in male CD rats following acute inhalation exposure to hydrogen sulfide: reversibility and the possible Role of Regional Metabolism. *Toxicologic Pathology* 30, 200-2008.
- Buenger J., Westphal, G., Mönnich A., Hinnendahl B., Hallier E., Mueller M. 2004. Cytotoxicity of occupationally and environmentally relevant mycotoxins. *Toxicology* 202, 199-211.
- BY, Suomen Betoniyhdistys. 2011. Betonitekniiikan oppikirja 2004. Betonin osa-aineet. BY201, 31-68.
- Caggiano G, Napoli C, Coretti C, Lovero G, Scarafile G, De Giglio O. Montagna MT.. *BMC Infectious Diseases* 2014, 14:595 <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/595>
- Cahill JL, Toholka RW, Nixon RL. 2014. Methylisothiazolinone in baby wipes: a rising star among causes of contact dermatitis. *Med. J. Aust.* 200, 208.
- Campos C, Cardoso H, Nogales A, Svensson J, Lopez-Raez A, Pozo MJ, Nobre T, Schneider C, Arnoldt-Raez B. 2015. Intra- and inter-spore variability in *Rhizophagus irregularis* AOX gene. *PLOS ONE* doi: 10.1372/journal.pone.0142339
- Carlsaw N. 2013. A mechanistic study of limonene oxidation products and pathways following cleaning activities. *Atmospheric Environment*, 80, 507-513.
- Carlin, Frédéric, Fricker Martina , Pielaat AnneMarie, Shaheen Ranad , Salkinoja Salonen Mirja, Svensson Birgitta, Nguyen-the Christophe, Ehling-Schulz Monika. 2006. Emetic toxin-producing strains of *Bacillus cereus* show a distinct phenotype within the *Bacillus cereus* group. *International Journal of Food Microbiology*, 109, 132-138
- Castagnoli E. Mikkola R, Salo J, Andersson MA, Sistonen E, Vornanen-Winqvist C, Viljanen M & Salkinoja-Salonen M. 2015. Sisäilmahaittaisen tilan tunnusluvut – onko niitä? Sisäilmayhdistys raportti SIY 33, toim. Jorma Säteri & Mervi Ahola. s. 353-358, SIY Sisäilmatieto Oy, Espoo.
- Catalán J, Siivola KM, Nymark P, Lindberg H, Suhonen S, Järventaus H, Koivisto AJ, Moreno C, Vanhala E, Wolff H, Kling KI, Jensen KA, Savolainen K, Norppa H. 2016. In vitro and in vivo genotoxic effects of straight versus tangled multi-walled carbon nanotubes. *Nanotoxicology*. 10(6):794-806. doi: 10.3109/17435390.2015.1132345.

- Cerioni L, De los Angeles Lazarte M, Villegas JM, Rodriguez-Montelongo L., Volentini SI. 2013. Inhibition of *Penicillium expansum* by an oxidative treatment. *Food Microbiology* 33, 298-301.
- CDC (The Centers for Disease Control and Prevention). 2000. Update: Pulmonary Hemorrhage / hemosiderosis among Infants – Cleveland Ohio 1993-1996. *JAMA*, 283, 1951-1953
- Cernansky S, Kolencik M, Sevc J, Urik M, Hiller E. 2009. Fungal volatilization of trivalent and pentavalent arsenic under laboratory conditions. *Bioresource Technology* 100, 1037-1040.
- Claassens OE, Wehr JB, Harrison KL. 2000. Optimising sensitivity of the human sperm motility assay for embryo toxicity testing. *Hum. Reprod* 15(7) 1586-1591.
- Cohen-Abbo A & Edwards KM, 1995. Multifocal osteomyelitis caused by *Paecilomyces varioti* in a patient with chronic granulomatous disease. *Infection* 23, 55-57
- Consalves AB, Russel R., Paterson M, Lima N. 2006. Survey and significance of filamentous fungi from tap water. *Int J Hyg Environ Health* 209, 257-264
- Corps KN, Islam Z, Pestka JJ, Harkema JR. 2010. Neurotoxic, inflammatory, and mucosecretory responses in the nasal airways of mice repeatedly exposed to the macrocyclic trichothecene mycotoxin roridin A: dose-response and persistence of injury. *Toxicol Pathol.* 38(3):429-51. doi: 10.1177/0192623310364026.
- Creppy EE, Stormer FC, Roschenthaler R, Dirheimer G. 1983. Effects of two metabolites of ochratoxin A (4R)-4-hydroxyochratoxin A and ochratoxin alpha, on immune response in mice. *Infect Immun* 39, 1015-1018.
- Crouser ED, Shao G, Julian MW, Macre JE, Shadel GS, Tridandapani S, Huang Q, Wevers MD. 2009. Monocyte activation by necrotic cells is promoted by mitochondrial proteins and formyl peptide receptors. *Crit Care Med* 37, 2000-2009.
- Cvetkovska M, Vanlerberghe GC. 2013. Alternative oxidase impacts the plant response to biotic stress by influencing the mitochondrial generation of reactive oxygen species. *Plant, Cell and Environment*, 36,721-732.
- Decker H, Van Holde KE. 2011. Oxygen, its nature and chemistry; what is so special about this element? *Teoksessa: Oxygen and the evolution of Life*, Chapter 1. Springer Verlag Heidelberg Dordrecht, doi 10.1007/978-3-642-13179-0, sivut 1-19
- De Vries, E. 2006. Biological sulfate removal from construction and demolition debris sand. Wageningen University. Thesis.
- Diamond Project Group. 2006. Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990–1999. *Diabetic Medicine* 23:857–866.
- Di Loreto S, Caracciolo V, Colafarina S, Sebastiani P, Gasbarri A, Amicarelli F. 2004. Methylglyoxal induces oxidative stress-dependent cell injury and up-regulation of interleukin-1 β and nerve growth factor in cultured hippocampal neuronal cells. *Brain Research* 1006:157-167.
- Dinakar C, Vishwakarma A, Raghavendrs AS, Padmasree K. 2016. Alternative oxidase pathway optimizes photosynthesis during osmotic and temperature stress by regulating cellular ROS, malate valve and antioxidative systems. *Frontiers in Plant Science*, vol 7, article 68. doi: 10.3389/fps.2016.00068
- Dong R, Hao, J. 2010. Complex fluids of poly(oxyethylene) monoalkyl ether nonionic surfactants. *Chem Rev*, 110, 4978-5022.
- Duodecim Uutispalvelu 2013, Homekoulut lisäävät lasten hengitysoireita ja poissaoloja. YLE Terveys. 9.10.2013
- Dutkiewicz J, Skorska C, Burrell R, Szuster-Ciesielska A, Sitkowska J. 2005. Immunostimulative effects of repeated inhalation exposure to microvesicle-bound endotoxin of *Pantoea agglomerans*. *Ann. Agric Environ Med* 12:289-294.
- Ebead GA, Overy DP, Berrue F, Kerr RG. 2012. *Westerdykella reniformis* sp nov, producing the antibiotic metabolites melinacidin IV and chetracin B. *IMA Fungus* 3_189-201.

- ECHA, European Chemicals Agency. 2011. Committee for Risk Assessment RAC. Annex 1. Background Document to the Opinion proposing harmonised classification and labelling at Community level of Polyhexamethylene biguanide or poly(hexamethylene) biguanide hydrochloride or PHMB ECHA/RAC/CLH-O-0000001973-68-01/A1 Polyhexamethylene biguanide or Poly(hexamethylene) biguanide hydrochloride or PHMB EC Number: not allocated (polymer) CAS Number: 27083-27-8 or 32289-58-0 9 September 2011 http://echa.europa.eu/web/guest/opinions-of-the-committee-for-risk-assessment-on-proposalsfor-harmonised-classification-and-labeling?seach_criteria=phmb).
- Ekman, Jaakko. 2011. Bacteria colonizing paper machines. Väitöskirja, Elintarvike- ja Ympäristötieteiden laitos, Helsingin Yliopisto. 97 sivua + 4 julkaistua liitettä.
- Ekman J.V., Kruglov, A., Andersson, M.A., Mikkola, R., Raulio, M., Salkinoja-Salonen, M.S. 2012. Cereulide produced by *Bacillus cereus* increases fitness of the producer organism in low potassium environment. *Microbiology*, 158, 1106-1116.
- Elies J,m Scragg JL, Huang S, Dallas ML, Huang D, MacDougal D, Boyle JP, Gamper N, Peers C. Hydrogen sulfide inhibits Cav3.2 T-type Ca²⁺ Channel. *FASEB Journal* Sep 2, 2014. doi:10.1096/fj.14-257113
- El-Khoury R, Kaulio E, Lassila KA, Crowther DC, Jacobs HT, Rustin P. 2016. Expression of the alternative oxidase mitigates beta-amyloid production and toxicity in model systems. *Free Radical Biology and Medicine* 96, 57-66.
- El-Khoury R, Kemppainen KK, Dufour E, Szibor M, Jacobs HT, Rustin P. 2014. Engineering the alternative oxidase gene to better understand and counteract mitochondrial defects: state of the art and perspectives. *British J of Pharmacology* 171, 2243-2249
- EPA. United States Environmental Protection Agency. 2005. PHMB. Prevention, Pesticides and Toxic Substances. PHMB, Reregistration document. Pesticide Docket **OPP-2004-0305**. Available at: <http://www.epa.gov/edockets>.
- Etzel R.A., Dearborn, D.G. 1999. Pulmonary hemorrhage among infants with exposure to toxigenic molds: an update. Teoksessa Bioaerosols, Fungi and mycotoxins: Health effects, assessment, prevention and control (toim. E. Johanning), Eastern New York Occupational and Environmental Health Center. Albany New York sivut. 79 – 83.
- Euroopan Unioni 2005. Euroopan Parlamentin ja Neuvoston asetus (EY) N:o 1048/2005 EY. Diarseenipentoksidin käyttökielto puunsuojaukseen. Voimaan 1.9.2006.
- Euroopan Unioni, 2008. Euroopan Parlamentin ja Neuvoston asetus (EY) N:o 1272/2008, annettu 16 joulukuuta 2008, aineiden ja seosten luokituksesta ja pakkaamisesta sekä direktiivien 67/548/ETY ja 1999/45/EY muuttamisesta ja kumoamisesta ja asetuksen (EY) N:o 1907/2006 muuttamisesta. Euroopan Unionin Virallinen Lehti L353/ 1- 1355.
- Euroopan Unioni 2012. Euroopan Parlamentti ja Neuvosto (EU). Asetukset. Euroopan Parlamentin ja Neuvoston Asetus (EU) N:o 528/2012, Annettu 22 päivänä toukokuuta 2012 biosidivalmisteiden asettamisesta saataville markkinoilla ja niiden käytöstä (ETA:n kanalta merkityksellinen teksti). Euroopan Unionin virallinen lehti L167, 27.6.2012, s. 1–123.
- Euroopan Unioni. 2013. Komission asetus (EU) N:o 944/2013, annettu 2 päivänä lokakuuta 2013, aineiden ja seosten luokituksesta, merkinnöistä ja pakkaamisesta annetun asetuksen (EY) N:o 1272/2008 muuttamisesta sen mukauttamiseksi tekniseen ja tieteelliseen kehitykseen. Euroopan Unionin Virallinen lehti, L261, 5-22.
- Fadey MO, Tham KW, Wu WY. 2015. Impact of asthma, exposure period, and filters on human responses, during exposures to ozone and its initiated chemistry products. *Indoor Air* 25: 512–522
- Federal-provincial Committee on Environmental and Occupational Health (Canada). 1955. Fungal contamination in public buildings: a guide to recognition and management. Environmental Health Directorate, Ottawa, Ontario, Canada.

- Feng H, Guan D, Sun K, Wang Y, Zhang T, Wang R. 2013. Expression and signal regulation of the alternative oxidase genes under abiotic stresses. *Acta Biochim Biophys Sin*, 45:985-994.
- Fiedler N, Kipen H, Ohman-Strickland P, Zhang J, Weisel C, Laumbach R, Kelly-McNeil K, Olejeme K, Lioy P. 2008. *Environmental Health Perspectives* 116: 78-85.
- Fisk, WJ, Lei-Gomez, Q, Mendell, MJ. 2007. Meta-analyses of the associations of respiratory health effects with dampness and mold in homes. *Indoor Air*. 17:284-296. doi: 10.1111/j.1600-0668.2007.00475.x.
- Fliegauf M, Benzing T, Omran H. 2007. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 8, 880–893 (2007); doi:10.1038/nrm2278
- Fogle MR, Douglas, DR, Jumper CA, Straus DC. 2007. Growth and mycotoxin production by *Chaetomium globosum*. *Mycopathologia* 164, 49-56.
- Fogle MR, Douglas, DR, Jumper CA, Straus DC. 2008. Heat stability of chaetoglobosins A and C. *Canadian Journal of Microbiology*, 54, 423-425.
- Garcia-Pena I, Hernandez S, Auria R, Revahl S. 2005. Correlation of Biological Activity and Reactor Performance in Biofiltration of Toluene with the Fungus *Paecilomyces variotii* CBS115145. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 4280-4285.
- Gameiro A, Coutinho I., Ramos L., Goncalo M. 2014. Methyisothiazolinone: second "epidemic" of isothiazolinone sensitization. *Contact Dermatitis*, 70, 238-260
- Garcia-Agudo L, Aznar-Marin P, Galan-Sanchez F, Garcia-Martos P, Marin-Casanova P, Rodriguez-iglesias M. 2011. Otomycosis due to filamentous fungi. *Mycopathologia* 172, 307-310.
- Gareis M, Gottschalk C. 2014. *Stachybotrys spp* and the guttation phenomenon. *Mycotoxin Res* 30, 151-159.
- Gareis M, Gareis E-M. 2007. Guttation droplets of *Penicillium nordicum* and *Penicillium verrucosum* contain high concentrations of the mycotoxins ochratoxin A and B. *Mycopathologia* 163, 207-214.
- Gent JF, Kezik JA, Hill ME, Eling Tsai A, De-Wei Li B, Leaderer BP. 2011. Household mold and dust allergens: Exposure, sensitization and childhood asthma morbidity. *Environ Research* 118, 86-91.
- Gonzalez M, Jegu J, Kopferschmitt, M. -C. Donnay, C, Hedelin, G. Matzinger, F. Velten, M; Guilloux, L. Cantineau, A. de Blay, F. 2016. Asthma among workers in healthcare settings: role of disinfection with quaternary ammonium compounds *Clin Expt, Allergy* 44: 393-406 DOI: 10.1111/cea.12215
- Gorny RL, Reponen T, Willeke K, Schmechel D, Robine E, Boissier M, Grinshpun SA. 2002. Fungal Fragments as indoor air contaminants. *Appl Envir Microbiol*, 68, 3522-3531.
- Gostincar C., Grube M, Gunde-Cimerman N. 2011. Evolution of Fungal Pathogens in domestic Environments? (Review). *Fungal Biology*, 115, 1008-1015. DOI:10.1016/j.funbio.2011.03.004
- Gottschalk C., Bauer J, Meyer K. 2008. Detection of Satratoxin G and H in Indoor Air from a water damaged building. *Mycopathologia* 166, 103-107.
- Grande Burgos MJ, Lopez Aguayo MC, Perez Pulido R, Galvez A, Lopez RL. 2014. Multilocus sequence typing and antimicrobial resistance in *Enterococcus faecium* isolates from fresh produce. *Antonie van Leeuwenhoek* (2014) 105:413–421 DOI 10.1007/s10482-013-0073-4
- Gravesen S, Frisvad JC, Samson RA. 1994. Descriptions of some common fungi. teoksessa: Gravesen S, Frisvad JC, Samson RA (toim), *Microfungi*, (s. 141). Munksgaard kustantamo, Kööpenhamina.
- Gu S, Xu Q, Huang H, Li S. 2014. Alternative respiration and fumaric acid production of *Rhizopus oryzae*. *Appl Microbiol Biotechnol* 98, 5145-5152.
- Guo W, Cheng ZY, Zhu YZ. 2013. Hydrogen sulfide and translational medicine. *Acta Pharmacol Sin*. 34(10):1284-91. doi: 10.1038/aps.2013.127.
- Hagelberg S, Hult K, Fuchs R. 1989. Toxicokinetics of ochratoxin A in several species and its plasma-binding properties. *J. Appl Toxicol* 9, 91-96.

- Hageskal G., Kristensen R., Fristad RF, Skaar I. 2011. Emerging pathogen *Aspergillus calidoustus* colonizes water distribution systems. *Med Mycol* 49, 588-593.
- Hannuksela M. 1986. Rapid increase in contact allergy to Kathon CG in Finland. *Contact Dermatitis* 15, 211-214
- Hanski I, von Hertzen L, Fyhrquist N., Koskinen K, Torppaa K, Tiina Laatikainen, T, Karisola P, Auvinen P, Paulin L, Mäkelä MJ, Vartiainen E, Kosunen TU, Alenius H, Haahtela T. 2013. Environmental biodiversity, human microbiota, and allergy are interrelated, *Proc. Natl Acad Sci USA*, 109(21), 8334 – 39.
- Hari, P., Havimo, M., Koupaei, K. K., Jögiste, K., Kangur, A., Salkinoja-Salonen, M. S., Aakala, T., Aalto, J., Schiestl-Aalto, P., Liski, J. & Nikinmaa, E. 2013. Physical and Physiological Forest Ecology. Hari, P., Heilövaara, K. & Kulmala, L. (eds.). Dordrecht, Heidelberg, New York, London: Springer, p. 349 – 396
- Harjutsalo V, Sjöberg L, Tuomilehto J. 2008. Time trends in the incidence of Type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *The Lancet* 371, 1777-1782.
- Hayashi H, Matsumoto H, Akiyama K. 2004. New insecticidal compounds, communesins C, D and E, from *Penicillium expansum* link MK-57. *Biosci Biotechnol Biochem.* 68(3):753-6.
- Heederik, D., von Mutius, E. 2012. Does diversity of environmental microbial exposure matter for the occurrence of allergy and asthma? *J. Allergy Clin. Immunol.* 130, 44-50
- Heikkilä, H., Kokki M, Richardson M. 2003. Silsasienet. Teoksessa: Mikrobiologia ja infektiosairaudet, Kirja 1., toim P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri, V. Valtonen, Duodecim, Helsinki, ss. 291 – 297.
- Heaney CD, Wing, S, Campbell RL, Caldwell D, Hopkins B, Richardson D, Yeatts K. 2011. Relation between malodor, ambient hydrogen sulfide, and health in a community bordering a landfill. *Environmental Research* 111, 847-852.
- Hernandez O, Araque P, Tamayo D, Restrepo A, Herrera S, Mcewen JG, Pelaez C, Almeida AJ. 2015. Alternative oxidase plays an important role in *Paracoccidioides brasiliensis* cellular homeostasis and morphological transition. *Medical Mycology* 53, 205-214. doi: 10.1093/mmy/myu091
- Hirvonen M-R, Markkanen P, Huttunen K, Hyvärinen A, Täubel M, Järvi K, Nevalainen A, Salkinoja-Salonen M, Andersson MA, Mikkola R, Alenius H, Leino M, Lehto M, Matikainen S, Lilius E-M, Atosuo J. 2013. Toksikologisen menetelmän kehittämissuunnitelma TOXTEST 2010-2012. Toxtest hankkeen loppuraportti ja 11 liitettä 11. Sosiaali- ja terveysministeriö, julkistettu 6.3.2013. http://www.stm.fi/c/document_library/get_file?folderId=6556944&name=DLFE-25910.pdf

HITEA hanke:

- HITEA: Borrás-Santos A, Jacobs JH, Täubel M, Haverinen-Shaughnessy U, Krop EJM, Huttunen K, Hirvonen M-R, Pekkanen J, Heederik DJJ, 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 doi:10.1136/oemed-2012-101286
- HITEA: Casas L., Tischer C., Wouters IM5, Valkonen M., Gehring, U., Doekes G., Torrent M., Pekkanen J., Garcia-Esteban R., Hyvärinen A., Heinrich J, Sunyer J. 2013. Endotoxin, extracellular polysaccharides, and b(1-3)-glucan concentrations in dust and their determinants in four European birth cohorts: results from the HITEA project. *Indoor Air* 23, 208-218.
- HITEA: Casas L, Espinosa A, Borrás-Santos, A., Jacobs J, Krop, E., Heederik, D., Benoit Nemery B., Pekkanen, J., Hyvärinen, A., Täubel, M., Zock J-P. 2015. Domestic use of bleach and infections in children: a multicentre cross-sectional study. *Occup Env. Med.* doi: 10.1136/oemed-2014-102701
- HITEA: Haverinen-Shaughnessy U., Borrás-Santos A., Turunen M., Zock J-P., Jacobs J.J., Krop, EJM, , L. Casas L., Shaughnessy R., Täubel M., Heederik D., Hyvärinen A., Pekkanen J., Nevalainen A. HITEA study group. 2012. Dampness and mould in schools and respiratory symptoms in children: the HITEA study, *Indoor Air* 22, 457-466.

- HITEA: Huttunen K., Tirkkonen J, Täubel M., Krop E., Mikkonen S., Pekkanen J., Heederik D., Zock J.P., Hyvärinen A., Hirvonen M-R. 2015. Inflammatory potential in relation to the microbial content of settled dust samples collected from moisture-damaged and reference schools: results of HITEA study, *Indoor Air* doi: 10.1111/ina.12223
- HITEA: Jacobs JH, Krop EJM1, Borrás-Santos A., Zock J-P, Täubel M, Hyvärinen A., Pekkanen J., Doekes G., Heederik DJJ, on behalf of the HITEA schools study consortium 2014. Endotoxin levels in settled airborne dust in European schools: the HITEA school study. *Indoor Air* 24, 148-157
- HITEA: Jacobs J, Borrás-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 Env Med* 71, 704-712
- HITEA: Peitzsch, M., Sulyok M., Täubel, M., Vishwanath, V., Krop, E, Borrás-Santos, A., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Krska R., Larsson, L. 2014. Microbial secondary metabolites in school buildings inspected for moisture damage in Finland, The Netherlands and Spain. *J. Environ. Monit.*, 2012, 14, 2044, on-line supplement: Electronic Supplementary Material (ESI) for Journal of Environmental Monitoring.
- HITEA: Tischer C., Casas L., Wouters IM, Garcia-Esteban GD, Gehring U., Hyvärinen A., Oldenwening M, Kerkhof M., Sunyer J., Stand M., Thiering E., Torrent M., Heinrich J., for the HITEA study group. Early exposure to bio-contaminants and asthma up to 10 years of age: results of the HITEA study. *Eur Respir J*, 45, 328-337
- Hong S-B, Kim HJ, Huh JW, Do K-H, Jang SJ, Song JS, Choi S-J, Heo Y, Kim Y-B, Lim C-M, Chae EJ, Jung M, Lee K, Lee M-S, Koh Y and Korean Unknown Severe Respiratory Failure Collaborative, the Korean Study Group of Respiratory Failure. A cluster of lung injury associated with home humidifier use: clinical, radiological and pathological description of a new syndrome. 2014. *Thorax* 69, 694-702.
- Hoornastra, D., Andersson, M., Mikkola, R. & Salkinoja-Salonen, M. S. 2003 A new method for in vitro detection of microbially produced mitochondrial toxins. *Toxicology in Vitro*. 17, p. 745-751
- Hoornastra D, Andersson MA, Johansson T, Pirhonen T, Hatakka M, Salkinoja-Salonen MS. 2004. Mitochondrial toxicity detected in a health product with a boar spermatozoan bioassay. *Altern Lab Anim*. 32(4):407-16.
- Hoornastra, 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. *Applied and Environmental Microbiology*. 79, 3534-3543
- Hoornastra, Douwe. 2014. Tracking cereulide producing *Bacillus cereus* in foods, papermaking and bio-waste management. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Elintarvike ja Ympäristötieteiden laitos. Dissertationes Scholae Doctoralis Scientiae Circumiectalis, Alimentarie, Biologicae in Viikki. 3/2014.
- Hopkins LE, Patchin ES, Chiu P-L, Brandernberger C, Smiley-Jewekk S, Pinkerton KE. 2014. Nose-to-brain transport of aerosolized quantum dots following acute exposure. *Nanotoxicology* 8, 885-893.
- Horinek D, Herz, A, Vrbka L, Sedlmeier F, Mamatkulov SI, Netz RR. 2009. Specific ion adsorption at the air/water interface: the role of hydrophobic solvation. *Chemical Physics Letters* 479, 171-183.
- Hossain MS, Dietz K-J. 2016. Tuning of redox regulatory mechanisms, reactive oxygen species and redox homeostasis under salinity stress. *Frontiers in Plant Science* Vol 7, article 548. doi: 10.3389/fps.2016.00548
- Houbraken J, Verweij PE, Rijs AJMM, Borman AM, Samson RA. 2010. Identification of *Paecilomyces variotii* in clinical samples and settings. *J Clin Microbiol* 48, 2754-2761.
- Huerta-Marquez-Ramirez SG, Delgado-Buenrostro NL, Irasema Chirino Y, Gutierrez Iglesias G, Lopez-Marure R. 2012. Titanium dioxide nanoparticles inhibit proliferation and induce morphological changes and apoptosis in glial cells. *Toxicology* 102, 146-156.

- Huhtinen S. 2013. Ongelmalliset sienet. Teoksessa Sienten biologia, toim. S Timonen ja J Valkonen. Gaudeamus Helsinki University Press, s. 363–371.
- Houtappel M, Bruijnzeel-Koomen, H. Röckmann. 2008. Immediate-type allergy by occupational exposure to dodecyl dimethyl ammonium chloride. *Contact Dermatitis* 59, 116–117.
- Hubka V., Kubatova A., Mallatova N., Seelacek P., Melichar J., Skorepova M., Mencl, K., Lyskova P., Sramkova B., Chudickova, M., Hamal, P., & Kolarik M. 2012. Tate and new etiological agents revealed among 178 clinical *Aspergillus* strains obtained from Czech patients and characterised by molecular sequencing. *Med. Mycology* 50, 601–610.
- Huinink HP, Adan OCG. 2011. Fungal Growth and humidity fluctuations: a toy model. Teoksessa: Olaf CG Adan, RA Samson (toim), *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living*. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp 67 – 82.
- Huang S-H, Wu C-H, Chang YC, Kwon-Chung KJ, Brown RJ, Jong A. 2012. Cryptococcus neoformans-derived microvesicle enhance the pathogenesis of fungal brain infection. *PLOS ONE* Vol 7 (11) e48570
- Huttunen K, Alenius H, Hyvärinen A, Lilius E-M, Salkinoja-Salonen M, Lehto M, Leino M, Matikainen S, Täubel M, Järvi K, Nevalainen A, Atosuo J, Andersson MA, Mikkola R, Markkanen P, Riitta Hirvonen M-R. 2013. Toksisuustesti sisäilmanäytteille? TOXTEST-tutkimuksen tuloksia. SIY Raportti, toim. Jorma Säteri ja Helka Backman, (Indoor Climate Society / Sisäilmayhdistys r.y., Espoo) 31, p. 13–18 (ISBN 978-952-5238-41—5)
- Huttunen, K., Tirkkonen J., Täubel M., Krop E., Mikkonen S., Pekkanen J., Heederik D., Zock J.-P., Hyvärinen A., Hirvonen MR. 2015. Inflammatory potential in relation to the microbial content of settled dust samples collected from moisture-damaged and reference schools: results of HITEA study. *Indoor Air*. doi:10.1111/ina.12223
- Hutwimmer S, Wang H, Strasser H, Burgstaller W. 2010. Formation of exudate droplets by *Metarhizium anisopliae* and the presence of destruxins. *Mycologia* 102, 1–10.
- Häggblom, M.M., Apetroaie, C., Andersson, M.A. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2002. Quantitative analysis of cereulide, the emetic toxin of *Bacillus cereus*, produced under different conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(5) 2479–2483.
- Härkönen, M. 2013. Sienet ja Ihminen. Teoksessa Sienten Biologia (Timonen, S., Valkonen J. toim.). Gaudeamus Helsinki University Press. Sivut 341– 71.
- Inamdar, AA., Hossain MM, Bernstein AI, Miller GW, Richardson JR, Wennstrom Bennett J. 2013. Fungal-derived semiochemical 1-octen-3-ol disrupts dopamine packaging and causes neurodegeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 19561–19566
- Inamdar, AA., Moore, JC., Cohen, RI. & Bennett, JW. 2012. A model to evaluate the cytotoxicity of the fungal volatile organic compound 1-octen-3-ol in human embryonic stem cells. *Mycopathologia* 173, 13–20.
- Inamdar, AA., Masurekar, P., Hossain, M., Richardson, JR. & Bennett, JW. 2014. Signaling Pathways Involved in 1-Octen-3-ol-Mediated Neurotoxicity in *Drosophila melanogaster*: Implication in Parkinson's Disease. *Neurotox. Res*. DOI: 10.1007/s12640-013-9418-z
- Jaakkola JJK, Parise H, Kislitsin V, Natalia I. Lebedeva NI, John D, Spengler JD. 2004. Asthma, Wheezing, and Allergies in Russian Schoolchildren in Relation to New Surface Materials in the Home. *American J Public Health*, 94 (4), 560–2
- Jaakkola MS, Jaakkola JJK. 2004. Indoor molds and asthma in adults. (Katsaus) *Adv. Appl Microbiol* 55, 357–61.
- Jaakkola JJK, Hwang BF, Jaakkola N. 2005. Home Dampness and Molds, Parental Atopy, and Asthma in Childhood: A Six-Year Population-Based Cohort Study. *Environ Health Perspect* 113, 357–61

- Jaakkola MS, Jaakkola JJK. 2007. Office Work Exposures and Adult-Onset Asthma. *Environ Health Perspectives* 115 (7), 1008-10.
- 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. 2014a. Dampness, bacterial and fungal components in dust in primary schools and respiratory health in schoolchildren across Europe. *Occup Environ Med*, 71:704–712. doi:10.1136/oemed-2014-102246
- Jacobs JH, Krop EJM, Borràs-Santos A, Zock JP, Täubel M, Hyvärinen A, Pekkanen J, Doekes G, Heederik DJJ. (the HITEA schools study consortium). 2014b. Endotoxin levels in settled airborne dust in European schools: the HITEA school study. *Indoor Air* 24, 148-157
- Jakob R, Roth A, Haas K, Krupp EM, Raab A, Smichowski P, Gomez D, Feldmann J. 2010. Atmospheric stability of arsines and the determination of their oxidative products in atmospheric aerosols (PM₁₀): evidence of the widespread phenomena of biovolatilization of arsenic. *J. Environ. Monit*, 12, 409–416
- Jelen, H.H., Latus-Zietkiewicz, D., Wasowicz, E., Kaminski, E. 1997. Trichodiene as a volatile marker for trichothecenes biosynthesis. *J. Microbiol. Meth.*, 31, 45-49.
- Joseph-Horne T, Wood PM, Wood CK, Moore AL, Headrick J, Hollomon D. 1998. Characterization of a split respiratory pathway in the wheat “Take-All” fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. *The J of Biological Chemistry* 273 (18) 11127-11133.
- Jussila A, Virta LJ, Pukkala E, Färkkilä MA. 2013. Malignancies in patients with inflammatory bowel disease: a nationwide register study in Finland. *Scand J Gastroenterol*. 48(12):1405-13. doi: 10.3109/00365521.2013.846402
- Jussila A, Virta LJ, Pukkala E, Färkkilä MA. 2014. Mortality and causes of death in patients with inflammatory bowel disease: a nationwide register study in Finland. *J Crohns Colitis*. 8(9):1088-96. doi: 10.1016/j.crohns.2014.02.015.
- Jääskeläinen, E.L., Häggblom, M.M., Andersson M.A. & Salkinoja-Salonen, M.S. 2004. Atmospheric oxygen and other conditions affecting the production of cereulide by *Bacillus cereus* in food. *Int. J. Food Microbiology*, 96(1): 75-83.
- Jääskeläinen, Elina. 2008. Assessment and control of *Bacillus cereus* emetic toxin in food. Väitöskirja. Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, Helsingin Yliopisto, 74 sivua, + 4 julkaistua liitettä.
- Karakainen P, Rintala H, Vepsäläinen A, Hyvärinen A, Nevalainen A, Meklin T. 2009. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Science of the Total Environment*, 407, 4673-4680.
- Khan Z., Ahmad, S., Joseph, L. 2014. Aerial prevalence of *Aspergillus calidoustus* isolates in and around tertiary care hospital in Kuwait and assessment of their pathogenicity. *J. Clin. Microbiol* 52, 3402-3405.
- Kijjanapanich P, Annachhatre AP, Esposito G, van Hullebusch ED, Lens PNL. 2013. Biological sulfate removal from gypsum contaminated construction and demolition debris. *J of Environmental Management*, 131, 82-91.
- Kim EJ, Bu SY, Sung MK, Kang MH, Choi MK. 2013. Analysis of antioxidant and anti-inflammatory activity of silicon in murine macrophages. *Biological Trace Element Research* 156: 329-337.
- Kim HJ, Lee MS, Hong SB, Huh JW, Do KH, Jang SJ, Lim CM, Chae EJ, Lee H, Jung M, Park Y-L, Park JH, Kwon GY, Gwack J, Youn SK, Kwon JW, Chun BC, Kim H, Lee K, Koh Y. 2014. A cluster of lung injury disease cases associated with home humidifier use: an epidemiological investigation. *Thorax*, dx.doi.org:10.1136/thoraxjnl-2013-204135
- Kimura H. 2013. Physiological role of hydrogen sulfide and polysulfide in the central nervous system. *Neurochemistry International*, 63, 492-497. (Katsaus).
- Kimura H. 2014. Hydrogen sulfide and polysulfides as biological mediators. (Katsaus). *Molecules* 19, 16146-16157.

- Kirimura K, Matsui T, Sugano S, Usami S. 1996. Enhancement and repression of cyanide-insensitive respiration in *Aspergillus niger*. FEMS Microbiology Letters 141, 251-254.
- Kokki M., Kuusela, P., Richardson M. 2003. Johdanto mykologiaan. Teoksessa: Mikrobiologia ja infektiosairaudet, Kirja 1., toim P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri, V. Valtonen, Duodecim, Helsinki, ss. 288 – 290.
- Kondrashova A, Reunanen A, Romanov A, Karvonen A, Viskari H, Vesikari T, Ilonen J, Knip M, Hyöty H. 2005. A six-fold gradient in the incidence of type 1 diabetes at the eastern border of Finland. Ann Med.; 37(1):67-72.
- Kondrashova A, Viskari H, Haapala AM, Seiskari T, Kulmala P, Ilonen J, Knip M, Hyöty H. 2008. Serological evidence of thyroid autoimmunity among schoolchildren in two different socioeconomic environments. J Clin Endocrinol Metab. 93(3): 729-34
- Kotiaho M, Aittamaa M, Andersson MA, Mikkola R, Valkonen JP, Salkinoja-Salonen M. 2008. Antimycin A-producing nonphytopathogenic *Streptomyces turgidiscabies* from potato. J Appl Microbiol. 104(5): 1332-40.
- Kovac D, Lindic J, Lejko-Zupanc T, Bren AF, Knap B, Lesnik M, Gucek A, Ferluga D. 1998. Treatment of severe *Paecilomyces varioti* peritonitis in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. Nephrol Dial Transplant. 13(11):2943-6
- Kredics L., Hatvani L., Manczinger L., Vágvölgyi C. & Antal Z. 2011. Trichoderma. Teoksessa: The Molecular Detection of human Fungal Pathogens, D. Liu, toim. CRC Press, Taylor & Francis Group, London, sivut: 509-526.
- Krizsán K, Bencsik O, Nyilasi I, Galgóczy L, Vágvölgyi C, Papp T. 2010. Effect of the sesterterpene-type metabolites, ophiobolins A and B, on zygomycetes fungi. FEMS Microbiol Lett. 313(2):135-40. doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.02138.x
- Kruglov AG, Andersson MA, Mikkola R., Roivainen M., Kredics, L., Saris NE, Salkinoja-Salonen MS. 2009. Novel mycotoxin from *Acremonium exuviarum* is a powerful inhibitor of the mitochondrial respiratory chain complex III. Chem Res Toxicol., 22, 565–573
- Kämper J, Kahmann R, Bölker M, Ma L-I, Brefort T, Saville BJ, Banuett F, Kronstad JW, Gold SE, Müller O, Perlin MH, Wösten HAB, de Vries R, Ruiz-Herrera J, Reynaga-Peña CG, Snetselaar K, McCann M, Pérez-Martin J, Feldbrügge M, Basse CW, Steinberg G, Ibeas JI, Holloman W, Guzman P, Farman M, Stajich JE, Sentandreu R, González-Prieto JM, Kennell JC, Molina L, Schirawski J, Mendoza-Mendoza A, Greilinger D, Münch K, Rössel N, Scherer M, Vraneš M, Ladendorf M, Vincon V, Fuchs U, Sandrock B, Meng S, Ho ECH, Cahill MJ, Boyce JK, Klose J, Klosterman SJ, Deelstra HJ, Ortiz-Castellanos L, Li W, Sanchez-Alonso P, Schreier PH, Häuser-Hahn IH, Vaupel M, Koopmann E, Friedrich G, Voss H, Schlüter T, Margolis J, Platt D, Swimmer C, Gnirke A, Chen F, Vysotskaia V, Mannhaupt G, Güldener U, Münsterkötter M, Haase D, Oesterheld M, Mewes H-W, Mauceli EW, DeCaprio D, Wade CM, Butler J, Young S, Jaffe DB, Calvo S, Nusbaum C, Galagan J, Birren JB. 2006. Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*. Nature 444:97-101 doi:10.1038/nature05248
- Kämpfer, P., Andersson MA, Rainey FA, Kroppenstedt RM, Salkinoja-Salonen MS. 1999. *Williamsia muralis*, gen nov sp nov, isolated from the indoor environment of a children's day care centre. Int J Syst Bacteriology, 49, 681-687.
- Laatikainen T, Von Hertzen L, Koskinen J-P, Mäkelä MJ, Jousilahti P, Kosunen TU, Vlasoff T, Ahlström M, Vartiainen E, Haahtela T. 2011. Allergy gap between Finnish and Russian Karelia on increase. Allergy 66:886-692.
- Lai FW, Lichty BD, Bowdish DME. 2015. Microvesicles: ubiquitous contributors to infection and immunity. J of Leukocyte Biology 97: 237- 245.
- Laitinen J, Liesivuori J, Harvima R. 2006. Evaluation of exposure to 1-alkoxy-2-propanols and 1-(2-methoxy-1-methylethoxy)-2-propanol by the analysis of the parent compounds in urine. Toxicology Letters 162: 186-194

- Latge J-P. 1999. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis. Clin. Microbiology Reviews, 12(2) 310-350.
- Latge J-P. 2001. The pathobiology of *Aspergillus fumigatus*. TRENDS in Microbiology, 9(8)382-389.
- Legator MS, Singleton CR, Morris DL, Philips DL. 2001. Health effects from chronic low-level exposure to hydrogen sulfide. Arch Envir Health 56, 123-131
- Lehtinen P, Ashorn M, Iltanen S, Jauhola R, Jauhonen P, Kolho KL, Auvinen A. 2011. Incidence trends of pediatric inflammatory bowel disease in Finland, 1987-2003, a nationwide study. Inflamm Bowel Dis. 17(8): 1778-83. doi: 10.1002/ibd.21550.
- Leibowitz G., Khaldi MZ, Shauer A, Parnes M, Oprescu AI, Cerasi E, Jonas J.-C., Kaiser N. 2005. Mitochondrial regulation of insulin production in rat pancreatic islets. Diabetologia 48, 1549-1559.
- Leiter E, Park H-S, Kwon N-J, Han K-H, Emri T, Olah V, Meszanros I, Dienes B., Vincze J, Csernoch L, Yu J-H, Pócsi I. 2016. Characterization of the *aodA*, *dnmA*, *mnSOD* and *pimA* genes in *Aspergillus nidulans*. Scientific Reports, 6:205523 doi:10.1038/srep20523
- Li D, Ma S, Ellis EM. 2015. Nrf2-mediated adaptive response to methyl glyoxal in HepG2 cells involves the induction of AKR7A2. Chemico-Biological Interactions 234 (2015) 366–371
- Li H, Xiao J, Gao YQ, Tang JJ, Zhang AL, Gao JM. 2014. Chaetoglobosins from *Chaetomium globosum*, an endophytic fungus in Ginkgo biloba, and their phytotoxic and cytotoxic activities. Agric Food Chem. 30;62(17): 3734-41. doi: 10.1021/jf500390h
- Lierman S., De Sutter P, Dhont M, & Van der Elst J. 2007. Double-quality control reveals high-level toxicity in gloves used for operator protection in assisted reproductive technology. Fertil. Steril. 88 (S4), 1266-1272.
- Lignell, U., T. Meklin, H. Rintala, A. Hyvärinen, A. Vepsäläinen, J. Pekkanen and A. Nevalainen. 2008. Evaluation of quantitative PCR and culture methods for detection of house dust fungi and streptomyces in relation to moisture damage of the house. Letters in Applied Microbiology 47, 303-308
- Lim CH, Chung YH. 2014. Effects of Didecyltrimethylammonium Chloride on Sprague-Dawley Rats after Two Weeks of Inhalation Exposure Toxicol. Res. Vol. 30, No. 3, pp. 205-210
- Linden A, Guelden M, Martin H.J, Maser E, Seibert H. 2008. Peroxide-induced cell death and lipid peroxidation in C6 glioma cells. Toxicol. in Vitro, 22, 1371-1376.
- Linder MB, Szilvay GR, Nakari-Setälä T, Penttilä ME. 2005. Hydrophobins: the protein amphiphiles of filamentous fungi. FEMS Microbiology Reviews, 29, 877-896.
- Lip HY, Yang K, MacAllister SL, O'Brien PJ. 2013. Glyoxal and methylglyoxal: Autoxidation from dihydroxyacetone. Chemico-Biological Interactions 202: 267–274
- Ljungkrantz C, Möller G, Petersons N (toim.), Betonghandbok. Material, utgåva 2. Svensk Byggtjänst, 18. painos (2013), 1127 sivua.
- Luebeck M., Poulsen S.K., Luebeck P.S., Jensen D.F., Thrane U. 2000. Identification of *Trichoderma* strains from building materials by ITS ribotyping, UP-PCR fingerprinting and UP-PCR cross hybridization. FEMS Microbiol Lett 185, 129-134.
- Lundov, M.D., Opstrup, M.S. ja Johansen, J.D. 2013. Methylisothiazolinone contact allergy – a growing epidemic. Contact Dermatitis 69, s. 271 - 275.
- Lundov MD, Kolarik, B, Bossi R., Gunnarsen L, Johansen JD. 2014. Emission of isothiazolinones
- Lääketieteellisen Mykologian Seuran Hallitus. 2013. PHMG biosidin käyttö kiellettiin 1.2.2013; PHMB biosidia koskeva velvoittava komission asetus (EU) annettu 2 .10.2013. Sienet ja Terveys, 2, sv.1
- Magnani T, Soriani FM, de Paulo Martins V, de Freitas Policarpo AC, Sorgi CA, Faccioli LH, Curti C, Uyemura SA. 2008. Silencing of mitochondrial alternative oxidase gene of *Aspergillus fumigatus* enhances reactive oxygen species production and killing of the fungus by macrophages. J Bioenerg Biomembr 40: 631-636.

- Mallo N, Lamas J, Leiro JM. 2014. Alternative oxidase inhibitors as antiparasitic agents against scuticociliatosis. *Parasitology* 141, 1311-1321. doi: 10.1017/S0031182014000572
- Manicassamy S, Gupta S., Sun Z. 2006. Selective Function of PKC- θ in T cells. *Cellular & Molecular Immunology*, 3, 263-270.
- Markova J, Hudecova S, Soltysova A, Sirova M, Csaderova L, Lencesova L, Ondrias K, Krizanova O. 2014. Sodium/calcium exchanger is upregulated by sulfide signaling, forms complex with the beta 1 and beta 3 but not beta2 adrenergic receptors, and induces apoptosis. *Eur J Physiol* DOI.10.1007/s0024-013-1366-1
- Martin-Sanchez PM, Novakova A, Bastian F, Alabouvette, Saiz-Jimenez C. 2012. Use of Biocides for the control of fungal outbreaks in Subterranean environments: the case of the Lascaux Cave in France. *Environ Sci Technol* 46, 3762-3770.
- Martins VP, Dinamarco TM, Soriani FM, Tudella VG, Oliveira SC, Goldman GH, Curti C, Uyemura SA. 2011. Involvement of an alternative oxidase in oxidative stress and mycelium-to-yeast differentiation in *Paracoccidioides brasiliensis*. *Eukaryotic cell*, 10(2) 237-248.
- Mattila, Lars-Erik. 2014. Tulevaisuuden kerrostalo. Diplomityö, Aalto Yliopisto, Arkkitehtuurin laitos. https://www.dropbox.com/s/25iar1fastboxnw/MATTILA_LARS-ERIK_TULEVAISUUDEN_KERROSTALO.pdf?dl=0
- McGinty D, Letizia CS, Api AM. 2010. Fragrance material review on dihydromyrcenol. *Food and Chemical Toxicology* 48: S70-S75
- McFadden J.P., Mann J., White JML, Banerjee P, White IR. 2013. Outbreak of methylisothiazolinone allergy targeting those aged ≥ 40 years. *Contact Dermatitis* 69, 53-63.
- McMullin DR, Sumarah MW, Miller JD. 2013. Chaetoglobosins and azaphilones produced by Canadian strains of *Chaetomium globosum* isolated from the indoor environment. *Mycotoxin Res* 29, 47-54
- McNeil VF. 2015. Aqueous organic chemistry in the atmosphere: sources and chemical processing of organic aerosols. *Environ Sci Technol* 49, 1237-1244.
- Mehta R, Chan K, Lee O, Tafazoli S, O'Brien PJ. 2008. Drug associated mitochondrial toxicity. In: James A ,Dykens & Yvonne Will (eds), *Drug induced mitochondrial dysfunction*. John Wiley & Sons Inc, Hoboken NJ, p 71-140
- Mestrot A, Planer-Friedrich B, Feldmann J. 2013. Biovolatilisation: a poorly studied pathway of the arsenic biogeochemical cycle. *Environ Sci Process Impacts*, 15(9): 1639-51. doi: 10.1039/c3em00105a.
- Mikkola, R., Saris, N-E., Grigoriev, P., Andersson, M.A., & Salkinoja-Salonen, M.S. 1999. Ionophoretic properties and mitochondrial effects of cereulide, the emetic toxin of *B. cereus*. *Eur. J. Biochemistry*, 263 (1): 112-117.
- Mikkola, Raimo, Andersson, Maria A., Grigorjev, Pavel, Teplova, Vera V., Saris, Nils-Erik & Salkinoja-Salonen, Mirja. 2004. *Bacillus amyloliquefaciens* strains isolated from moisture damaged buildings produced surfactin and a substance toxic to mammalian cells. *Archives in Microbiology*, 181, 314-323
- Mikkola, R. 2006 Food and indoor air isolated *Bacillus* non-protein toxins: structures, physico-chemical properties and mechanisms of effects on eukaryotic cells. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Dissertations bioscientiarum molecularium Universitatis Helsingiensis in Viikki; no. 33/2006
- Mikkola, Raimo; Maria A. Andersson, Vera Teplova, Pavel Grigoriev, Till Kuehn, Sandra Loss, Irina Tsitko, Camelia Apetroaie, Nils-Erik L. Saris, Pirjo Veijalainen and Mirja S. Salkinoja-Salonen. 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., Kredics, L., Grigoriev, P., 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 Journal*. 279, 22, p. 4172-4190
- Mikkola R., Andersson MA, Atosuo, J., Kredics L, Marik T, Lilius E-M, ym. 2015. Toxic properties of *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus westerdijkiae*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium expansum* and *Trichoderma atroviridae* from health troubled buildings. *Käsikirjoitus*.
- Mikkola, Raimo, Andersson Maria A, Hautaniemi Maria, Salkinoja-Salonen, M. 2015. Toxic indole alkaloids avrainvillamide and stephacidin B produced by a biocide tolerant indoor mold *Aspergillus westerdijkiae*, *Toxicon* 99, 58-67 (Elsevier), 0.1016/j.toxicon.2015.03.011
- Miller J.D., Dales, R., White J. 1999. Exposure measures for studies of mold and dampness and respiratory health. *Teoksessa Bioaerosols, Fungi and mycotoxins: Health effects, assessment, prevention and control* (toim. E. Johanning), Eastern New York Occupational and Environmental Health Center. Albany New York sivut. 298-305.
- Miller, J.D. 2011. Health effects from mold and dampness in housing in western societies: early epidemiology studies and barriers to further progress. *Katsaus julkaistu teoksessa* (toim. O.C.G. Adan ja R.A. Samson): *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living*. Wageningen Academic publishers, The Netherlands, sivut 183–210.
- Mills L, Kelly B, Logan A, Costa ASH, Varma M, Bryant CE, Turlomousis P, Däbritz JHM, Gottlieb E., Latorre I, Corr SC, McManus G, Ryan D, Jacobs HT, Szibor M, Xavier RJ, Braun T, Frezza C, Murphy MP, O'Neill LA. 2016. Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages. *Cell* 167, 1-14.
- Modis K, Panopoulos P, Coletta C, Papapetropoulos A, Szabo C. 2013. Hydrogen sulfide-mediated stimulation of mitochondrial electron transport involves inhibition of the mitochondrial phosphodiesterase 2A, elevation of cAM_iP and activation of protein kinase. *Biochemical Pharmacology* 86, 1311-1318.
- Molle G, Duclohier H, Spach G. 1987. Voltage dependent and multi-state ionic channels induced by re-ichorzanines, antifungal peptides related to alamethicin. *FEBS Letters* 224, 208-212.
- Moore AL, Shiba T, Young L, Harada S, Kita K, Ito K. 2013. Unraveling the heater: new insights into the structure of the alternative oxidase. *Annu. Rev Plant Biol*, 64:637-63.
- Mose, A.P., Frost S., Öhlund U. ja Andersen K.E. 2013. Allergic contact dermatitis from octylisothiazolone. *Contact Dermatitis* 69, s. 49 - 52.
- Mousa,HA. 2014. Short term effects of subchronic low-level hydrogen sulfide exposure on off field workers. *Environ Health Prev Med A-L* doi:10.1007/s12199-014-0415-5
- Mueller C, Renner B. 2006. A new procedure for the short screening of olfactory function using five items from the “Sniffin Sticks” identification test kit. *American Journal of Rhinology*, 20, 113-116.
- Murray RJ, Aravena-Roman M, Kämpfer P. 2007. Endophthalmitis due to *Williamsia muralis*. *J Med Microbiol* 56, 1410-1412.
- Mussalo-Rauhamaa H, Nikulin M, Koukila-Kähkölä P, Hintikka E-L, Malmberg M, Haahtela T. 2010. Health effects of residents exposed to *Stachybotrys* in water-damaged houses in Finland. *Indoor and Built Environment* 19, 476-485.
- Nafstad P, Jaakkola JJK, Skrandal A, Magnus P. 2004. Day care center characteristics and children's respiratory health. *Indoor Air*, 15, 69-75
- Nagorka R, Gelue C, Scheller C, Morikse R-J, Straff W. 2014. Isothiazolone emissions from building products. *Indoor Air* 25: 68-78, doi:10.1111/ina.12126
- Nash D.G., Leith D. 2010. Use of passive diffusion tubes to monitor air pollutants. *J Air Waste Manag Assoc*, 60, 204-209.

- Negri CE, Goncalves SS, Xafranski H, Bergamasco MD, Aquino VR, Castro PTO, Colombo AL. 2014. Cryptic and rare *Aspergillus* Species in Brazil: Prevalence in clinical samples and in vitro susceptibility to triazoles. *J. of Clinical microbiology* 52(10) 3633-3640.
- Nevalainen A, Täubel M, Hyvärinen A. 2015. Indoor Fungi: Companions and contaminants. A Review. *Indoor Air* 25: 125-156, doi:10.1111/ina.12182. (laaja kirjallisuuskatsaus)
- Nichols P, Marshall DC, Cooper CE, Wilson MT. 2013. Sulfide inhibition of and metabolism by cytochrome c oxidase. *Biochem Soc Transa.* 41, 1312-1316.
- Nikaido H., Vaara M. 1985. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability. *Microbiol. Rev.* 49, 1-32.
- Nielsen KF. 2003. Mycotoxin production by indoor molds. *Katsaus. Fungal Genetics and Biology*, 39, 103-117.
- Nielsen KF, Frisvad JC. 2011. Mycotoxins on building materials. Teoksessa: Olaf CG Adan, RA Samson (toim), *Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living*. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, pp 245- 275.
- Nielsen KF, Huttunen K., Hyvärinen, A., Andersen B., Jarvis, B.B., Hirvonen, M.-R. 2001. Metabolite profile of *Stachybotrys spp* isolates from water damaged buildings, and their capability to induce cytotoxicity and production of inflammatory mediators in RAW 264.7 macrophages. *Mycopathologia* 154: 201-205.
- Nieminen, SM, Kärki, R., Auriola S., Toivola M., Laatsch H., Laatikainen R., Hyvärinen A., Von Wright A. 2002. Isolation and identification of *Aspergillus fumigatus* mycotoxins on growth medium and some building materials. *Appl Envir Microbiol* 68, 4871-4875.
- Nymark P, Wijshoff P, Cavill R, van Herwijnen M, Coonen ML, Claessen S, Catalán J, Norppa H, Kleijans JC, Briedé JJ. 2015. Extensive temporal transcriptome and microRNA analyses identify molecular mechanisms underlying mitochondrial dysfunction induced by multi-walled carbon nanotubes in human lung cells. *Nanotoxicology*. 2015;9(5):624-35. doi: 10.3109/17435390.2015.1017022.
- Nørgaard J, Christensen KB, Wolkoff P. 2005. The effect on human eye of exposure to limonene oxidation products and methacrolein. *Toxicology Letters*, 156, 241-251.
- Nørgaard AW, Koefoed-Sørensen V, Mandin C, Ventura G, Mabilia R., Perreca E, Cattaneo A, Spinazzw A, Mihucz VG, Szigeti T, de Kluizenaar Y, Cornelissen HJM, Trantallidi M, Carrer P, Sakellaris I., Bartzis J, Wolkoff P. 2014a. Ozone-initiated terpene reaction products in five European Offices: replacement of a floor cleaning agent. *Environm. Sci Toxicol* 48, 13331-13339.
- Nørgaard AW, Kudal JD, Koefoed-Sørensen V, Koponen JK, Wolkoff P. 2014b. Ozone-initiated VOC and particle emissions from a cleaning agent and an air freshener: Risk assessment of acute airway effects. *Environment International* 68, 209-218.
- Ohnuma A, Toshida H, Fukuyama T, Hayashi K, Yamaguchi S, Ohtsuka R, Sasaki J, Fukumori J, Tomita M, Kojima S, Takahashi N, Takeuchi Y, Kuwahara M, Takeda M, Kosaka T, Nakashima N, Harada T. 2010. Didecyldimethylammonium chloride induces pulmonary inflammation and fibrosis in mice. *Expt Toxicol Pathol*, 62, 643-651
- Ohnuma A, Yoshida T, Horiuchi H, Fukumori J, Tomita M, Kojima S, Takahashi N, Fukuyama T, Hayashi K, Yamaguchi S, Ohtsuka R, Kashimoto Y, Kuwahara M, Takeda M, Kosaka T, Nakashima N, Harada T. 2011. Altered pulmonary defense system in lung injury induced by didecyldimethylammonium chloride in mice. *Inhalation Toxicology*, 2011; 23(8): 476-485.
- Ohnuma-Koyama A, Yoshida T, Tajima-Horiuchi Y, Takahashi N, Yamaguchi S, Ohtsuka R, Takeuchi-Kashimoto Y, Kuwahara M, Takeda M, Nakashima N, Harada T. 2013. Didecyldimethyl ammonium chloride induces pulmonary fibrosis in association with TGF-signaling in mice. *Experimental and Toxicologic Pathology* 65 (2013) 1003- 1009

- Oka T, Ekino K, Fukuda K, Nomura Y. 2014. Draft genome sequence of the formaldehyde-resistant fungus *Byssoschlamys spectabilis* nr 5 (Anamorph *Paecilomyces variotii* No. 5). *Genome Announc*, pii:e01162-13
- O'Muirheartaigh C, Eckam S, Smith S. 2009. Statistical design and estimation for the national social life, health, and aging project. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 64, Suppl 1: i12-19.
- Opetusalan Ammattiliitto OAJ. 2014. Opetusalan sisäilmatutkimus. OAJ:n julkaisusarja 1:2014, 21 sivua.
- Oppender FR, Butenko A, Flegontov P, Yurchenko V, Lukes J. 2016. Comparative metabolism of free-living *Bodo saltans* and parasitic Trypanosomatids. *J of Eukaryotic Microbiology* ISSN 1066-5234
- Ostry V, Malir F, Ruprich J. 2013. Producers and important dietary Sources of Ochratoxin A and citrinin. *Toxins* 5, 1574-1586. doi: 10.3390/toxins5091574
- OVA-ohje, Rikkivety. 15.8.2014 ©Työterveyslaitos, pdf. Verkosta: <http://www.ttl.fi/ova/rikkivet.html>
- Paananen A., Mikkola R., Sareneva T., Matikainen S., Andersson M., Julkunen I., M.S. Salkinoja-Salonen, Timonen T. 2000. Inhibition of Human NK Cell Function by Valinomycin, a Toxin from *Streptomyces griseus* in Indoor Air. *Infect Immun* 68:165-169
- Paananen, A., Mikkola, R., Sareneva T., Matikainen, S, Hess, M., Andersson, M.A., Julkunen, I., Salkinoja-Salonen, M. & Timonen T. 2002. Inhibition of human natural killer cell activity by cereulide, an emetic toxin from *Bacillus cereus*. *Clinical and Experimental Immunology*, 129:420-428
- Paananen, Auli. 2004. Regulation of Human NK cells by Cytokines and by Exposure to Bacterial Toxins Valinomycin and Cereulide. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis, 5/2004.
- Paananen, A., Järvinen K., Sareneva, T. Salkinoja-Salonen, M.S., Timonen, T., Hölttä, E. 2005. Valinomycin induced apoptosis of human NK cells is predominantly caspase independent. *Toxicology*, 212 (2005) 37-45.
- Pacurari M, Lowe K, Tchounwou PB, Kafoury R. 2016, A Review on the Respiratory System Toxicity of Carbon Nanoparticles. *Int J of Environm.l Res. & Public Health*. 13, 335-319.
- Pakarinen, J., Hyvärinen A., Salkinoja-Salonen MS, Laitinen, S., Nevalainen, A., Mäkelä, M J., Haahtela M., von Hertzen, L. 2008. Predominance of Gram-positive bacteria in house dust in the low-allergy risk Russian Karelia. *Environmental Microbiology*, 10, 3317-3325.
- Pakarinen, Jaakko, Von Hertzen, Leena, Jousilahti, Pekka, Kosunen, Timo U, Laatikainen, Tiina, Mäkelä, Mika, Salkinoja-Salonen, Mirja, Vartiainen, Erkki, Haahtela, Tari. 2009. Allergian juurilla Karjalassa (In Karelia, at the roots of allergy, in Finnish), Idäntutkimus (Finnish Review of East European Studies), 16(3), 24-33
- Palomäki, J. Sund J, Vippola M, Kinaret P, Greco D, Savolainen K, Puustinen A, Alenius H. 2015. A secretomics analysis reveals major differences in the macrophage responses towards different types of carbon nanotubes. *Nanotoxicology* 17: 1-10.
- Paradells S, Rocamonde B, Llinares C, Herranz-Perez V, Jimenez M, Garcia-Verdugo JM, Zipancic I, Soria JM, Garcia-Esparza A. 2014. Neurotoxic effects of ochratoxin A in the subventricular zone of adult mouse brain. *J. Appl. Toxicol.* DOI 10.1002/jat.3061
- Park D, Leem J, L, Park J, Choi Y, Lee K, Lim H, Choi Y, Ahn JJ, Lim S, Park J, Choi K, Lee N, Jung H, Ha J, Paek D. 2014. Exposure characteristics of familial cases of lung injury associated with the use of humidifier disinfectants. *Environmental Health* 13:70
- Passagne I, Morille M, Rousset M, Pujalte I, l'Azu B. 2012. Implication of oxidative stress in size-dependent toxicity of silica nanoparticles in kidney cells. *Toxicology* 299, 112-124.
- Paulussen C, Hallsworth JE, Alvarez-Perez S, Nierman WC, Hamill PG, Blain D, Redliers H, Lievens B. 2016. Ecology of Aspergilliosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microbial Biotechnology* , doi: 10.1111/1751-7915.12367

- Pegas PN, Alves CA, Numes T., Bate-Epey EF, Evtyugina M, Pio CA. 2012. Could houseplants improve indoor air quality in schools? J of Toxicol & Envir Health Part A, 75, 1371-1380
- Peitsch, M., Sulyok M, Täubel M, Vishwanath V, Krop E, Borrás-Santos A, Hyvärinen A, Nevalainen A, Krška R, Larsson L. 2012. Microbial secondary metabolites in school buildings inspected for moisture damage in Finland, The Netherlands and Spain. J Environ Monit 14, 2044-2053.
- Peltola, J. 2001. Microbial growth in building materials and toxigenic microbes in indoor environment. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis, 19/2001. 69 sivua & 6 liitettä.
- Peltola J, Andersson MA, Haahtela T, Mussalo-Rauhamaa H, Rainey FA, Kroppenstedt RM, Samson RA, Salkinoja-Salonen MS. 2001a. Toxic-metabolite producing bacteria and fungus in an indoor environment. Appl Envir Microbiol 67, 3269-3274.
- Peltola JSP, Andersson MA, Kämpfer P, Auling G, Kroppenstedt RM, Busse H-J. 2001b. Isolation of toxigenic *Nocardiopsis* strains from indoor environments and description of two new *Nocardiopsis* species, *N. exhalans* sp nov and *N. umidischolae*, sp. nov. Appl Environ Microbiol 67, 4393-4304.
- Peltola J, Niessen L, Nielsen KF, Jarvis BB, Andersen B, Salkinoja-Salonen M, Möller EM. 2002. Toxigenic diversity of two different RAPD group of *Stachybotrys chartarum* isolates analysed by potential for trichothecene production and for boar sperm motility inhibition. Can J Microbiol, 48, 1017-1029
- Peltola J., Ritieni A., Mikkola, R., Grigorjiev P., Pocsfalvi G., Anderson, M.A., Salkinoja-Salonen, M.S. 2004. Biological effects of *Trichoderma harzianum* peptaibols on mammalian cells. Appl Environ Microbiol 70, 4996-5004.
- Pennisi R, Salvi D, Brandi V, Angelini R, Ascenzi P, Polticelli F. 2016. Molecular evolution of alternative oxidase proteins: a phylogenetic and structure modeling approach. J. Mol Evol 82, 207-218.
- Pessi A-M, Rantio-Lehtimäki A. 2005. Gypsum in nutrient medium enhances growth of *Stachybotrys chartarum*. Teoksessa: Bioaerosols, Fungi, Bacteria, Mycotoxins and human health: Pathophysiology, Clinical Effects, Exposure Assessment, Prevention and Control in Indoor Environments and Work. Ed by Eckardt Johanning. Fungal Research Corp, Albany New York USA, sivut 308 -314.
- Pestka, JJ., Bondy G.S. 1990. Alterations of immune function following dietary mycotoxin exposure. Can. J. Physiol Pharmac. 68, 1009-1016.
- Pezzoli L, Campbell C, Lamagni TL, Johnson E, Saei A, Duckworth G. 2009. A methodological approach to investigating nationwide specimen contamination problem in England. Eurosurveillance 14(23) 11 s. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19234>
- Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA. 2007. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. Mol. Nutr Food Res 51, 61-99

PHMG katastrofi

- Ahn, J-J. 2015. The humidifier disinfectant incident and the self-examination of environmental toxicology and public health experts. Envir. Health. Toxicol., 30. article ID:e2015016
- Choi Y, Paek D. 2016. Humidifier disinfectants, unfinished stories: Environ Health Toxicol 31 Article ID. e2016004
- Hong S-B, Kim HJ, Huh JW, Kyung-Hyun D, Jang SJ, Song JS, Choi S-J, Heo Y, Kim Y-B, Chae-Man L., Chae EJ, Lee H, Jung M., Lee K, Lee M-S, Koh Y. 2014. A cluster of lung injury associated with home humidifier use: clinical, radiological and pathological description of a new syndrome. Thorax, 69:694-702.
- Jhang WK, Park SJ, Lee E, Yang SI, Hong SJ, Seo J-H, Kim H-Y, Park J-J, Yun T-J, Kim HR, Kim Y-H, Kim DK, Park S-I, Lee S-O, Hong S-B, Shim T-S, Choi I-C, Yu J. 2016. The first successful heart-lung transplant in a Korean child with humidifier disinfectant associated interstitial lung disease. J Korean Med Sci, 31, 817-821

- Jung H-N, Zerlin T, Podder B, Song H-Y, Kim Y-S. 2014. Cytotoxicity and gene expression profiling of polyhexamethylene guanidine hydrochloride in human alveolar A549-cells. *Toxicology in Vitro*, 28, 684-692.
- Kim HJ, Lee M-S, Hong S-B, Huh JW, Do K-H, Lim C-M, Chae EJ, Lee H, Jung M, Park Y-J, Park J-H, Kwon G-Y, Gwack J, Youn J-W, Yang B-G, Jun B-Y, Kim Y, Cheong H-K, Chun B, Kim H, Lee K, Koh Y. 2014. A cluster of lung injury cases associated with home humidifier use: an epidemiological investigation. *Thorax*, 0: 1-6.doi:10.1136/thoraxjnl-2013-204132
- Koo HJ, Do K-H, Chae EJ, Kim HJ, Song JS, Jang SJ, Hon S-B, Huh JW, Lee E, Hong S-J. 2016. Humidifier disinfectant-associated lung injury in adults: Prognostic factors in predicting short-term outcome. *Eur. Radiol.*, DOI: 10.1007/s00330-016-4367-6
- Kim UH, Kim KW, Lee KE, Lee M-J, Kim S-K, Kim SH, Shim HS, Lee CY, Kim M-J, Sohn MH, Kim K-E. 2016. Transforming growth factor-beta 1, in humidifier disinfectant-associated children's interstitial lung disease. *Pediatric Pulmonology* 51: 173-182.
- Lee JH, Kim YH, Kwon JH. 2012. Fatal misuse ofhang CL, Gho YS. 2015. Proteomics. DOI: 10.1002/pmic.201500037.
- Lee J-H., Kim Y-H, Kwon J-H. 2012. Fatal misuse of humidifier disinfectants in Korea. Importance of chemicals in consumer products. *Environ. Sci. Technol.*, 46;2498-2500.
- Li L, Bhatia M, Zhu ZZ, Chu YC, Ramnath RD, Wang ZJ, Anuar FBM, Whiteman M, Salto-Tellez M, Moore PK. 2005. Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse. *The FASEB Journal*, doi: 10.1096/fj.04-3583fje
- Paek D, Koh Y, Park D-U, Cheong H-K, Do K-H, Lim C-M, Hong S-J, Kim Y-H, Leem J-H, Chung K.H, Choi Y-Y, Lee J-H, Lim SY, Chung E-H, Cho Y-A, Chae EJ, Joh J-S, Yoon Y, Lee K-H, Choi BY, Gwack J. 2015. Nationwide study of humidifier disinfectant lung injury in South Korea, 1994-2011. Incidence and Dose-Response Relationships. *Ann. Am Thorac Soc*, Vol 12, pp1813-1821.
- Park J-H, Kim H-J, Kwon G-Y, Gwack Jm Park Y-J, Youn S-K, Kwan J-W, Yang B-G, Lee M-S, Jung H-L., Jun B-Y, Lim H-S. 2016. Humidifier Disinfectants are a cause of lung injury among adults in South Korea: A Community-based Case-Control Study. *PLOS One* , DOI 10.1371/journal.pone.0151849.
- Park K. 2016. An analysis of a humidifier disinfectant case from a toxicological perspective. *Environmental Health and Toxicology*, 31, article ID: e2016013. <http://dx.doi.org/10.5620/eh.t.e2016013>
- Park DU, Friesen MC, Roh HS, Choi YY, Ahn JJ, Lim HK, Kim SK, Koh DH, Jung HJ, Lee JH, Cheong HK, Lim SY, Leem JH, KimYH, Paek DM. 2015. Estimating retrospective exposure of household humidifier disinfectants. *Indoor Air* 25:631-640.
- Park D, Leem J, Lee K, Lim H, Choi Y, Ahn J-J, Lim S, Park J, Choi K, Lee N, Jung H, Ha J, Paek D. 2014. *Environmental Health*, 2014, 13:70, <http://www.ehjournal.net/content/13/1/70>
- Park D. 2014. Major concerns regarding lung injury and related health conditions caused by the use of humidifier disinfectant. *Environmental Health and toxicology* 31,Article ID: e2016014.
- Song JA, Park H-J, Yang M-J, Jung KJ, Yang H-S, Song C-W. Polyhexamethyleneguanidine phosphate induces severe lung inflammation, fibrosis and thymic atrophy. *Food Chem Toxicol* 69, 267-275.
- Song JA, Park H-J, Yang M-J, Jung K-J, Yang H-S, Song C-W., Lee K. 2014. Park D. 2014. Major concerns regarding lung injury and related health conditions caused by the use of humidifier disinfectant. *Environmental Health and toxicology* 31,Article ID: e2016014
- Yoon HM, Lee E, Lee JS, Do K-H, Jung AY, Yoon CH, Kim S-O, Jang S-J, Hong S-J, Cho YA. 2016. Humidifier disinfectant-associated children's interstitial lung disease: Computed tomographic features, histopathologic correlation and comparison between survivors and non-survivors. *Eur Radiol* 26: 235-243.

XX

- Piecková E, Kunová Z. 2002. Indoor fungi and their ciliostatic metabolites. *Ann Agric Environ Med* **9**, 59–63.
- Piecková E. 2003. *In vitro* toxicity of indoor *Chaetomium* Kunze ex Fr. *Ann Agric Environ Med*, 10, 9–14.
- Pieckova E, Wilkins K. 2004. Airway toxicity of house dust and its fungal composition. *Ann Agric Environ Med* **11**, 67–73.
- Pietarinen V-M, Rintala, H., Hyvärinen, A., Lignell U., Kärkkäinen, P. & Nevalainen A. 2008. Quantitative PCR analysis of fungi and bacteria in building materials and comparison to culture based technique. *J. Env. Monit.*, 10, 655–663.
- Pimentel M, Mathur R, Chang C. 2013. Gas and the microbiome. *Curr Gastroenterol Rep* **15**, 356–362.
- Pinto JM, Wroblewski KE, Kern DW, Schumm LP, McClintock MK. 2014. Olfactory Dysfunction Predicts 5-Year Mortality in Older Adults. *PLOS One*, 9, e107541. doi: 10.1371/journal.pone.0107541
- Pohjanvirta R. 2007. Mykotoksiinit. Teoksessa: Elintarvikehygienia, ympäristöhygienia, elintarvike- ja ympäristötoksikologia (toim. Hannu Korkeala), WSOY oppimateriaalit, s. 276–279
- Polizzi V, Delmulle B, Adams A, Moretti A, Susca A, Picco AM, Roseel Y, Kindt R, Van Bocxlaer J, De Kimpe N, Van Peteghem C, De Saeger S. 2009. Fungi, mycotoxins and microbial volatile organic compounds in mouldy interiors from water-damaged buildings. *J Envir Monit* **11**, 1849–1858
- Polizzi V, Adams A, De Saeger S, Van Peteghem C, Moretti A, De Kimpe N. 2012. Influence of various growth parameters on fungal growth and volatile metabolite production by indoor molds. *Sci Tot Envir* **414**, 277–286
- Pu X, Tan T, Fu F, Qin G, Lin H. 2015. Roles of mitochondrial energy dissipation systems in plant development and acclimation to stress. *Annals of Botany*, 116: 583–600.
- Prados-Rosales R, Weinrick BC, Pique DG, Jacobs WR, Casadevall A, Rodriguez GM. 2014. *J of Bacteriology* **196**(6)1250–1256.
- Qu K, Lee SW, Bian JS, Low C-M, Wong PT-H. 2008. Hydrogen sulfide: Neurochemistry and neurobiology. *Neurochem Internat.* **52**: 155–165
- Rantala A, Jaakkola JJK, Jaakkola MS. 2011. Respiratory Infections Precede Adult-Onset Asthma *PLOS One* **6**(12) e27912
- Rasimus, S., Mikkola, R., Andersson MA, Teplova VV, Venediktova N., Ek-Kommonen C. & Salkinoja-Salonen, M. 2012. Psychrotrophic *Paenibacillus tundrae* isolates from barley grains produce new cereulide-like depsipeptides (paenilide and homopaenilide) that are highly toxic to mammalian cells. *Appl Environ Microbiol* **78**, 3732–3743.
- Rasimus-Sahari, S., Teplova, VV., Anderson MA, Mikkola, R., Kankkunen P., Matikainen S., Gahmberg, CG, Andersson LC., Salkinoja-Salonen MS. 2015. The peptide toxin amylosin of indoor *Bacillus amyloliquefaciens* is immunotoxic, induces potassium efflux from mammalian cells and has antimicrobial activity. *Appl Envir Microbiol*, **82**(8) 2939–2949 doi:10.1128/AEM.03430-14
- Rasimus-Sahari, Stiina. 2016. Effects of microbial mitochondriotoxins from food and indoor air on mammalian cells. Väitöskirja, Elintarvike- ja ympäristötieteiden laitos, Helsingin Yliopisto. 86 sivua ja 4 julkaistua liitettä.
- Reinhard E, Waeber R, Niederer M, Maurer T, Maly P, Scherer S. 2001. Preservation of products with MCI/MI in Switzerland. *Contact Dermatitis*, **45**, 257–264.
- Reusser F. 1968. Mode of action of melinacidin, an inhibitor of nicotinamide acid biosynthesis. *J. Bacteriol* **96**, 1285–1290.
- Reichart O, Mohácsi-Farkas C. 1994. Mathematical modelling of the combined effect of water activity, pH and redox potential on the heat destruction. *Int J Food Microbiol.* **24**(1–2):103–12.

- Riahi S, Rowley CN. 2014. Why can hydrogen sulfide permeate cell membrane? J American Chemical Societies, 136, 15111-15113.
- Rivera-Contreras I, Zamora-Hernandez T, Huerta-Heredia AA, Capataz-Tafur JC, Barrera-Figueroa BE, Juntawong P, Pena-Castro JM. 2016. Transcriptomic analysis of submergence-tolerant and sensitive *Brachypodium distachyon* ecotypes reveals oxidative stress as a major tolerance factor. Scientific reports 6:27686. DOI: 10.1038/srep27686
- Rogov AG, Zvyagilskaya RA. 2015. Physiological role of alternative oxidase (from yeasts to plants). Biochemistry (Moscow) 80(4) 400-407
- Rook GA. 2013. Regulation of the immune system by biodiversity from the natural environment. An ecosystem service essential to health. Proc Natl Acad Sci USA, 110, 18360 – 18367.
- Rook GAW, Lowry CA. 2013. The hygiene hypothesis and psychiatric disorders. Trends in Immunology, 29 (4) 150-158.
- Rook GAW, Lowry CA, Raison CL. 2013. Microbial 'Old friends': immunoregulation and stress resilience. Evol Med & Public Health, 2013, s. 46-64
- Rozanova E., Heilig P, Godnuc-Cvar. 2009. The eye – a neglected organ in environmental and occupational medicine: an overview of known environmental and occupational non-traumatic effects on the eyes. A review. Arh Hig Toksikol, 60, 205-215.
- Räsänen S, Salkinoja-Salonen MS. 1983. Klooratuista dioksiineista ja furaaneista. Kemia-Kemi 11, 903-908.
- Salin, P.J., Salin J.T, Andersson M.A., Holma, T., Nelo, K., Salkinoja-Salonen, M. 2012a Sisätilanäytteiden toksisuus ja terveyshaittaoireet kouluissa. Sisäilmastoseminaari, toim J. Säteri, H. Backman), SIY Raportti 30, sivut 159-164.
- Salin PJ, Salin JT, Nelo K, Salkinoja-Salonen M. 2012b. Helsingin koulut – sisäilmaan liittyvän oireilun ja toksisuuden tutkimus. Loppuraportti Työsuojelurahaston Hankkeesta Tsr111126. InspectorSec Oy ja Helsingin Yliopiston Elintarvike- ja Ympäristötieteiden Ilt, 26 sivua.
- Salkinoja-Salonen MS, Valo R, Apajalahti J, Hakulinen R, Silakoski L, Jaakkola T. 1984. Biodegradation of chlorophenol compounds in wastes from wood-processing industry. Teoksessa: Perspectives in Microbial Ecology, toim. MJ Klug, CA Reddy. American society for microbiology, Washington DC sivut 668-676.
- Salkinoja-Salonen M, Valo R, Kitunen V, Boeck R, Räsänen S. 1985. Polykloorattujen bifenyyliden (PCB), dibentsofuraanien (PCDF) sekä polykloorattujen fenolien (PCP) esiintyminen työympäristössä, erityisesti sahoilla sekä näiden aineiden mikrobiologinen hajottaminen. Loppuraportti Työsuojelurahaston hankkeesta 27/1983, 52 sivua.
- Salkinoja-Salonen, MS, Andersson MA, Mikkola, R., Paananen A., Peltola, J., Mussalo-Rauhamaa H., Vuorio R., Saris, NE., Grigorjiev P., Helin J., Kõljalg, U., Timonen T.U.1995. Toxigenic microbes in indoor environment: identification, structure and biological effects of the aerosolizing toxins. Teoksessa: Bioaerosols, Fungi, Bacteria, Mycotoxins and human health: Pathophysiology, Clinical Effects, Exposure Assessment, Prevention and Control in Indoor Environments and Work. Ed by Eckardt Johanning. Fungal Research Corp, Albany New York USA, pp 359-374.
- Salkinoja-Salonen, Mirja. 1999. Myrkylliset mikrobit sisätiloissa. Tekijät: Maria Andersson, Urmas Kõljalg, Raimo Mikkola [et al]. Helsinki : Helsingin yliopisto Helsingin yliopisto. Mikrobiologian julkaisuja, ISSN 1238-1136 ; 45: ISBN 951-45-8031-1
- Salkinoja-Salonen M. 2002. Anaerobinen soluhengitys. Teoksessa Mikrobiologian Perusteita, toim. Salkinoja-Salonen, sivut 236-243. Mikrobiologian julkaisuja 49/2001. ISBN 951-45-9502-5, ISSN1238-1136.
- Salkinoja-Salonen, M. 2009. Mikrobitoksiinit sisätiloissa. Teoksessa: Jorma Säteri and Helka Backman (toim.): SIY Raportti, Vol 27 (toim H. Backman & J Säteri), sivut 19-24. Sisäilmayhdistys r.y. , Espoo.

- Salkinoja-Salonen, M., Mikkola, R., Andersson, M.A., Alenius, H., Matikainen, S., Salin, P., Rasimus, S., Mattila, S. 2010. Solumyrkyllisiä aineita työpaikkailmassa. SIY Raportti Vol 28 (toim H. Backman & J Säteri), sivut 93-98. Sisäilmayhdistys ry (Espoo).
- Salkinoja-Salonen Mirja, Maria A. Andersson, Stiina Rasimus, Pekka Salin, Raimo Mikkola, Harri Alenius, Sampsa Matikainen, Marina Leino, Risto Salin (ToxicDust konsortio). 2011. Bioaerosolien toksisiin tuotto ja hiukkaskoko työtilojen sisäilman puhtauden mittarina. SIY raportti (toim. Jorma Säteri ja Helka Backman), vol 29, sivut 103-109. Sisäilmayhdistys r.y., (Espoo)
- Salkinoja-Salonen M & työryhmä. 2015. PHMB-desinfiointiaineiden, polyaminopropyli biguanidi ja polyheksametyleni biguanidi, käyttö sairaaloiden ja hoitolaitosten työ- ja yleisötilojen käsidesinfiointisuihkeissa Käyttötietokooste (desinfektol, avalon) kerätty 1.1 – 31.8.2015.
- Salo, J. 2014. Rakennuksen homeiden aineenvaihduntatuotteiden mittaamiseen perustuvan analytiikan kehittäminen. Diplomityö. Rakennustekniikan laitos, Aalto Yliopisto. 106 sivua.
- Salo, J., Andersson MA, Mikkola, R., Viljanen M., Salkinoja-Salonen, M. 2014. Sisäilman tiivisteveden toksisuuden mittaaminen. Keksintöilmoitus jätetty 11/2014.
- Salo J, Andersson MA, Mikkola R, Kredics L, Viljanen M, Salkinoja-Salonen M. 2015. Vapor as a carrier of toxicity in a health troubled building. ISIAQ Healthy Buildings Paper ID346, Eindhoven The Netherlands, May 18–20, 2015, 8 pp.
- Samson, RA. 2011. Ecology and general characteristics of indoor fungi. Teoksessa: Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living (toim. O.C.G. Adan , R.A. Samson), Wageningen Academic Publishers, Alankomaat, sivut 101-116.
- Sato M., Kakisawa H. 1976. Structures of three new C16 terpenoids from an *Acrostalagmus* fungus. J. Chem Soc Perkin Transactions, 22, 2407–2413.
- Sauni R, Uitti J, Jauhiainen M, Kreiss K, Sigsgaard T, Verbeek JH. 2011. Remediating buildings damaged by dampness and mould for preventing or reducing respiratory tract symptoms, infections and asthma. Cochrane Database of Systematic Reviews Art. No.: CD007897. DOI: 10.1002/14651858.CD007897.pub2.
- Sava V, Reunova O, Velasquez A, Harbinson R, Sanchez.Ramos J. 2006. Acute neurotoxic effects of the fungal metabolite ochratoxin –A. Neurotoxicology 27, 82-92.
- Sava V, Velasquez A, Song S, Sanchez-Ramos J. 2007. Adult hippocampal neural stem / progenitor cells in vitro are vulnerable to the mycotoxin ochratoxin A. Toxicol Sci 98, 187-197.
- Sayan M, Mossman BT. 2016. Review. The NLRP3 inflammasome in pathogenic particle and fibre-associated lung inflammation and diseases. Particle & Fibre Toxicol. 2015; 13: 51. doi: 10.1186/s12989-016-0162-4
- Schinagl CW, Vrabl P, Burgstaller W. 2016. Adapting High-Resolution Respirometry to Glucose-limited steady state mycelium of the filamentous fungus *Penicillium ochrochloron*: method development and standardization. PLOS ONE doi:10.1372/journal.pone.0146878.
- Schultz ES, Gruziova O, Bellander T, Bottai M, Hallberg J, Kull I, Svartengren M, Melen E, Pershagen G. 2012. Traffic related air pollution and lung function in children at 8 years of age: a birth cohort study. Am J Respir Crit Care Med 186, 1286-91.
- Schumacher N, Meyer D, Mauerman A, von der Heyde J, Wolf J, Schwarz J, Knittler K, Murphy G, Michalek M, Garbers C, Bartsch JW, Guo S, Schacher B, Eikholz P, Chalaris A, Rose-John S, Rabe B. 2015. J. of Biological Chemistry 290:26059-26071
- Schwob, J.E., 2002. Neural regeneration and the peripheral olfactory system. Anat. Rec. 269, 33–49.
- Schwob JE. 2005. Restoring olfaction: A view from the olfactory epithelium. Chem Senses 30(Suppl 1):i131–i132

- Scott JA, Summerbell RC, Green BJ. 2011. Detection of indoor fungi bioaerosols. Teoksessa: Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living (toim. O.C.G. Adan, R.A. Samson), Wageningen Academic Publishers, Alankomaat, sivut 353–379.
- Shukla P, Singh S, Dubey P, Singh A, Singh AK, 2015. Ecotoxicology & Environmental Safety, 120:59-63
- Shaheen, Ranad. 2009. *Bacillus cereus* spores and cereulide in food-borne illness. Vaitöskirja, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, Helsingin Yliopisto. 50 sivua + 5 julkaistua liitettä.
- Sharabani G, Manulis-Sasson S, Borenstein M, Shulhani R, Lofthouse M, Chalupowicz L, Shtienberg D. 2013. The significance of guttation in the secondary spread of *Clavibacter michiganensis* subssp. *michiganensis* in tomato greenhouse. 2013. Plant Pathology 62:578-586 DOI: 10.1111/j.1365-3059.2012.02673.x
- Singh S. 2014. Guttation: quantification, microbiology and implications for phytopathology, Teoksessa: U. Luetge ym. (toim) Progress in Botany, 75, sivut 187–214. Springer Verlag Berlin Heidelberg. DOI 10.1007/978-3-642-38797-5-7
- Singh S, Singh TN. 2013. Guttation 1: chemistry, crop husbandry and molecular farming. Phytochem Rev 12:147-172. Doi: 10.1007/s11101-012-9269-x
- Sjögren YM, Jenmalm MC, Böttcher MF, Björkstén B, Sverremark-Ekström E. 2009. Altered early infant gut microbiota in children developing allergy up to 5 years of age. Clin Exp Allergy. 39(4): 518-26. doi: 10.1111/j.1365-2222.2008.03156.x.
- Smith D, Onions A.H.S. 1994. The preservation and maintenance of living fungi. 2nd Edition, International Mycological Institute CABI, Egham UK, 122 sivua.
- Smith D. 1984. Maintenance of fungi. Teoksessa: Maintenance of Microorganisms. A manual of laboratory methods. Toim. B.E. Kirsop & J.J.S. Snell. Academic Press London Orlando New York, Tokyo. sivut 83–87.
- Snell JJS. 1984. General introduction to maintenance methods. Teoksessa: Maintenance of microorganisms. A manual of laboratory methods. Toim. BE Kirsop & JJS Snell, Academic Press, London, San Diego, New York, sivut 11-21
- Sogin ML, J. Jones WJ, 7, Bruce A. Roe BA, Jason P. Affourtit JP, Egholm M, Henrissat B.5, Andrew C. Heath2, Rob Knight4 & Jeffrey I. Gordon Solini A, Chiozzi P, Morelli A, Fellin R, Di Virgilio F. 1999. Human primary fibroblasts in vitro express a purinergic P2X₇ receptor coupled to ion fluxes, microvesicle formation and IL-6 release. J of Cell Science 112:297-305.
- Sosiaali- ja terveystieteiden ministeriö (STM), Hallituksen esitys eduskunnalle laiksi terveydensuojelulain muuttamisesta. Tarkoitettu tulemaan voimaan 1 päivänä huhtikuuta 2014. 27 s.
- STM. 2003. Sosiaali- ja Terveystieteiden ministeriön Asumisterveysohje. Asuntojen ja muiden oleskelutilojen fyysiset, kemialliset ja mikrobiologiset tekijät. Valtuutussäännös: Terveydensuojelulaki (763/94) 12§. Voimassa 1.5.2003 - toistaiseksi.
- Sturm, R. 2014. Clearance of carbon nanotubes in the human respiratory tract – a theoretical approach. Ann. Transl. Med. 2, 46 doi: 10.3978/j.issn.2305-5839.2014.04
- Su S, Zeng X, Bai L, Jiang X, Li L. 2010. Bioaccumulation and biovolatilisation of pentavalent arsenic by *Penicillium janthinellum*, *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma asperellum* under laboratory conditions. Curr Microbiol. 61(4):261-6. doi: 10.1007/s00284-010-9605-6.
- Su Y, Qadri SM, Wu L, Liu L. 2013. Methylglyoxal modulates endothelial nitric oxide synthase-associated functions in EA.hy926 endothelial cells. Cardiovascular Diabetology 2013, 12:134
- Suomen Betoniyhdistys. 2011. Betonitekniikan oppikirja 2004. Betonin osa-aineet. BY201, 31-68.
- Suominen I, Andersson MA, Andersson MC, Hallaksela AM, Kämpfer P, Rainey FA, Salkinoja-Salonen M. 2001. Toxic *Bacillus pumilus* from indoor air, recycled paper pulp, Norway spruce, food poisoning outbreaks and clinical samples. Syst Appl Microbiol. 24(2):267-76.

- Suominen, K. P., Wittmann, C., Liukkonen, M., Kahkonen, M. A. and Salkinoja-Salonen, M. S. 1999. Ecotoxicological assessment of a recipient lake sediment of bleached-kraft pulping discharges. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18 (10), 2262-2267
- Suzman R. 2009. The National Life, Health and Aging Project: an introduction. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 64, Suppl 1:i5-11.
- Tarkkanen A, Raivio V, Anttila V-J, Tommila P, Ralli R, Merenmies L, Immonen I. 2004. Fungal endophthalmitis caused by *Paecilomyces variotii* following cataract surgery: a resumed operating room air-conditioning system contamination. *Acta Ophthalmol Scand* 82, 232-235
- Teplova, V. V., Mikkola, R., Tonshin, A. A., Saris, N. E. and Salkinoja-Salonen, M.S. 2006. The higher toxicity of cereulide relative to valinomycin is due to its higher affinity for potassium at physiological plasma concentration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 210(1-2): 39-46.
- Thrane U, Poulsen SB, Nirenberg HI, Lieckfeldt E. 2001. Identification of *Trichoderma* strains by image analysis of HPLC chromatograms. *FEMS Microbiol Lett.* 25; 203(2):249-55.
- Tiittanen K., Blomqvist H. 1982. Sales of pesticides in Finland in 1981. Vuosittainen julkaisu Kemia-Kemi lehdessä, yleensä lokakuun numerossa, sisältää lähdeviitteet aiempiin vuosiin.
- Timonen S. ja J Valkonen. 2013. Sienten biologia. Gaudeamus Helsinki University Press
- Tischer C, Casas L, Inge M. Wouters IM, Doekes G, Garcia-Esteban R, Gehring U, Hyvärinen A, Oldenwening M, Kerkhof M, Sunyer J, Standl M, Thiering E, Torrent M, Heinrich J (HITEA study group). 2014. Early exposure to bio-contaminants and asthma up to 10 years of age: results of the HITEA study. *Eur Resp J* DOI: 10.1183/09031936.00060214
- Tonshin AA, Teplova VV, Andersson MA, Salkinoja-Salonen MS. 2010. The *Fusarium* mycotoxins enniatins and beauvericin cause mitochondrial dysfunction by affecting the mitochondrial volume regulation, oxidative phosphorylation and ion homeostasis. *Toxicology*. 30; 276(1):49-57. doi: 10.1016/j.tox.2010.07.001.
- Trono D, Laus MN, Soccio M, Alfarano M, Pastore D. 2015. Modulation of potassium channel activity in the balance of ROS and ATP production by durum wheat mitochondria – an amazing defense tool against hyperosmotic stress. *Frontiers in Plant Science* 6, article 1072
- Tsitko, Irina. 2007. Characterisation of Actinobacteria degrading and tolerating organic pollutants. Väitöskirja, Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Dissertationes Bioscientiarum molecularium Universitatis Helsingiensis in Viikki, 1/2007, 67 sivua + 5 liitettä.
- Tuomi T, Reijula K, Johnsson T, Hemminki K, Hintikka E-L, Lindroos O, Kalso S, Koukila-Kähkölä P, Mussalo-Rauhamaa H, Haahtela T. 2000. Mycotoxins in Crude Building Materials from Water-Damaged Buildings. *Appl Envir Microbiol* 66, 1899-1904.
- Tuomi T, Johnsson T, Hintikka E-L, Reijula, K. 2001. Detection of aflatoxins (G1-1, B1-2), sterigmatocystin, citrinin and ochratoxin A in samples of contaminated by microbes. *Analyst* 126, 1545-1550.
- Turnbaugh PJ, Hamady M, Tanya Yatsunenko T, Brandt L, Cantarel, Duncan A., Ley RE, . 2009. A core gut microbiome in obese and lean twins. *Nature* Vol 457|22 doi:10.1038/nature07540
- Työterveyslaitos. 2014. Työterveyslaitoksen käyttämiä viitearvoja sisäympäristön ongelmien tunnistamisessa toimistoympäristöissä. Päivitetty versio verkkosivuilla 18.3.2014.
- Uotila, J. 1993. Dehalogenases for Polyhalogenated aromatic compounds in *Rhodococcus chlorophenolicus* PCP-1 and *Mycobacterium fortuitum* CG-2. Ph.D. Thesis. University of Helsinki, Department of applied Chemistry and Microbiology, Helsinki, Finland. 57 pages
- US EPA. 2007 Environmental Protection Agency (www.epa.gov/nerlcwww/moldtech.htm) . USA:n Ympäristöviraston julkaisemat PCR alukkeet.

- Vaarala O., Seppänen, M., Miettinen, A. 2003. Immuunisairaudet. Teoksessa: Mikrobiologia ja infektiosairaudet, Kirja 1., toim P. Huovinen, S. Meri, H. Peltola, M. Vaara, A. Vaheri, V. Valtonen, Duodecim, Helsinki, sivut 842–873.
- Valo R, Kitunen V, Salkinoja-Salonen M & Räisänen S. 1984. Chlorinated phenols as contaminants of soil and water in the vicinity of two Finnish saw mills. *Chemosphere* 13(8): 835-844.
- Valo RJ, Häggblom MM, Salkinoja-Salonen MS. 1990. Bioremediation of chlorophenol containing simulated ground water by immobilized bacteria. *Water Res.* 24:253-258.
- Valvarcel-Ares MN, Riveiro-Naveira RR, Vaamonde-Garcia C., Loureiro J, Hermida-Carballo L., Blanco FJ, Lopez-Armada MJ. 2014. Mitochondrial dysfunction promotes and aggravates the inflammatory response in normal human synoviocytes. *Rheumatology* 53, 1332-1343.
- Vangoitsenhoven R, Rondas D, Crevecoeur I, D'Hertog W, Baatsen P, Massini M, Andjelkovic M, Van Loco J, Matthys C, Mathieu C, Overbergh L, Van der Schueren B. 2014. Foodborne cereulide causes beta-cell dysfunction and apoptosis. *PLOS One*, 9 (8) e104866.
- Van Goitsenhoven R, Maris M, Overbergh L, Van Loco J, Mathieu C, van der Schueren B. 2015. Cereulide food toxin, beta cell function and diabetes: Facts and hypotheses. *Diabetes Res and Clinical Practice*, 109, 1-5.
- Van Oss CJ, Giese RF, Docoslis A. 2001. Water, treated as the continuous liquid in and around cells. *Cellular and Molecular Biology*, 47, 721-733.
- Van Oss CJ. 2003. Long-Range and short-range mechanisms of hydrophobic attraction and hydrophilic repulsion in specific and aspecific interactions. *J Mol Recognit* 16, 177-190.
- Van Oss CJ, Giese RF, Docoslis A. 2005. Hyperhydrophobicity of the water-air interface. *J of Dispersion Science and Technology*, 26, 585-590.
- Van Oss CJ. 2008. The apolar and Polar properties of liquid water and other condensed-phase materials p. 13-30; Surface thermodynamic properties of water with respect to condensed phase materials immersed in it. p. 49-71; Cluster formation in liquid water, p. 133-139. Teoksessa: The properties of Water and their role in colloidal and biological systems. *Interface Science and Technology*, Vol 16, Elsevier- Academic Press, Amsterdam, Boston. ISBN 978-0-12-374303-5
- Van Oss CJ, Giese RF. 2010. On the structure of poly-(ethylene oxide) when immersed in water. *J of Dispersion Science and Technology*, 31:1697-1703. DOI: 10.1080/01932690903297447
- Vanlerberghe GC, Martyn GD, Dahal K. 2016. Alternative oxidase: a respiratory electron transport chain pathway essential for maintaining photosynthetic performance during drought stress. *Physiologia Plantarum*, doi:10.1111/ppl.12451
- Varga, J., Houbraken, J., Van der Lee HAL, Berweij PE, Samson RA. 2008. *Aspergillus calidoustus* sp. nov., causative agent of human infections previously assigned to *Aspergillus ustus*. *Eukaryotic cell*, 7, 630 – 638.
- Vicente-Carrillo A, Edebert I., Garside H., Cotgreave I., Rigler R., Loitto V., Magnusson K; Rodriguez-Martinez H. 2014. Boar spermatozoa successfully predict mitochondrial modes of toxicity: implications for drug toxicity testing and the 3R principles. *Toxicol in Vitro* 29(3): 582-591.
- Vinha J. 2014. Rakennusfysikaalinen suunnittelu. Ulko- ja sisäolosuhteiden määrittäminen. Luku 2.2.4 Teoksessa: Rakennusfysiikka 1. Rakennusfysikaalinen suunnittelu ja tutkimukset. s. 65-72. Suomen Rakennusinsinöörien liitto RIL ry. Helsinki.
- Virtanen SM, Roivainen M, Andersson MA, Ylipaasto P, Hoornstra D, Mikkola R., Salkinoja-Salonen MS. 2008. In vitro toxicity of cereulide on porcine pancreatic Langerhans islets. *Toxicon* 51, 1029–1037
- Visagie CM, Varga J, Houbraken J, Meijer M, Kocsube S, Yilmaz N, Fotedar R, Seifert KA, Samson RA. 2014a. Ochratoxin production and taxonomy of the yellow aspergillus (*Aspergillus* section *Circumdati*). *Studies in Mycology*, 78, 1-61

- Visagie CM, Houburken J, Frisvad JC, Hong SB., Klaassen CHW, Perrone G, Seifert KA, Varga J, Yaguchi T, Samson RA. 2014b. Identification and Nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology* 78, 343-371
- Vishwakarma A, Dalal A, Tetali SD, Kirti PB, Padmasree K. 2016. Genetic engineering of AtAOX in *Saccharomyces cerevisiae* prevents oxidative damage and maintains redox homeostasis. *FEBS Open Bio* 6, 135-146
- von Hertzen L, Mäkelä M, Petäys T, Jousilahti P, Kosunen TU, Laatikainen T, Vartiainen E, Haahtela T. 2006. Growing disparities in atopy between the Finns and the Russians: A comparison of 2 generations. *J Allerg Clin Immunol* 117, 151-7
- von Hertzen, L., Hyvärinen A., Laatikainen, T, Mäkelä, MJ, Nevalainen A., Vartiainen, E., Haahtela T. 2010. Risk of atopy associated with microbial components in house dust. *Ann. Allerg, Asthma & Immunol* 104, 269-270.
- Von Hertzen, L., Hanski, I., Haahtela T. 2011. Natural Immunity. *EMBO reports*, 12, 1089-1093.
- von Hertzen, L., Hyvärinen A., Laatikainen T., Mäkelä MJ, Nevalainen A., Vartiainen E. 2011. Risk of Atopy associated with microbial components in house dust. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 104, 268-9.
- von Hertzen L. ja 25 muuta kirjoittajaa. 2015. Helsinki alert of biodiversity and health. *Annals of Medicine*, 47, 218-225. Raportti kansainvälisestä asiantuntijasymposiosta, Helsinki, (Hilma ja Yrjö Jahnssonin Säätiö).
- Vuorio, R., M..A. Andersson, Rainey FA, Kroppenstedt RM, P Kämpfer, H-J. Busse, M. Viljanen, M. Salkinoja-Salonen. 1999. A new rapidly growing mycobacterial species, *Mycobacterium murale* sp. nov., isolated from the indoor walls of a children's day care centre. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 49, 25-35.
- Wang L, Li Y, Ping Yua, Xieb Z, Luoa Y, Lina Y. 2010. Biodegradation of phenol at high concentration by a novel fungal strain. *Paecilomyces variotii* JH6. *Journal of Hazardous Materials* 183, 366-371.
- Wang, F-Z, Huang Z., Shi X-F, Chen, Y-C., Zhang, W-M., Tian, X-P, Li J., Zhang, S. 2012. Cytotoxic indole diketopiperazines from the deep sea-derived fungus *Acrocalymus luteoalbus* SCSIO F457. *Bioorg. Med Chem. Lett.*, 22, 7265-7267.
- Wang F, Wang X, Zhao C, Wang J, Li P, Dou Y, Bi Y. 2016. Alternative pathway is involved in the tolerance of highland barley to the low-nitrogen stress by maintaining the cellular redox homeostasis. *Plant Cell Rep* 35, 317-328
- Warny M, Kelly CP. 1999. Monocytic cell necrosis is mediated by potassium depletion and caspase-like proteases. *Am J Physiol* 276, C717-724
- Weinhold B. 2013. Trilongins offer insight into mold toxicity. *Envir. Health Perspect.* <http://ehp.niehs.nih.gov/pdf-files/2013/Feb>
- Wessels S, Ingmer H. 2013. Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 67: 456-467
- Wilkins C.K. 2000. Volatile sesquiterpenes from *Stachybotry chartarum*. Indicators for trichothecene producing mold species? *Env Sci Pollut Res*, 7, 77-78.
- Wilkins HM, Carl SM, Weber SG, Ramanujan SA, Festoff BW, Linseman DA, Swerdlow, RH. 2015. Mitochondrial lysates induce inflammation and Alzheimer's disease-relevant changes in microglial and neuronal cells. *Journal of Alzheimer's Disease* 45, 305-318.
- Winterhalter, Kati. "Kaksi työmaadokumenttia – kaksi näkökulmaa 1800-luvun rapatun julkisivun ornamentiikkaan ja materiaaleihin", diplomityö, Aalto Yliopisto, Arkkitehtiosasto.
- Wolkoff P, Kajergaard SK. 2007. The dichotomy of relative humidity on indoor air quality. *environment International* 33, 850-857.

- Wolkoff P. 2008. "Healthy eye in office-like environments. A review. *Environment International* 34, 1204-1214.
- Wolkoff P. 2010. Ocular discomfort by environmental and personal risk factors altering the precorneal tear film. A minireview. *Toxicology Letters* 199, 203-212.
- Wong, DT, Hamill RL. 1976. Viriditoxin induces swelling and ATPase by activation of calcium transport in liver mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 71, 332-338.
- Wu R, Pan S, Li Y, Wang L. 2015. Atmospheric Oxidation Mechanism of Toluene, | *J. Phys. Chem. A* 118, 4533-4547. [dx.doi.org/10.1021/jp500077f](https://doi.org/10.1021/jp500077f)
- Yang HJ, Kim HJ, Yu J, Lee E, Jung YH, Kim HY, Sep JH, Kwon GY, Park JH, Gwack J, Youn SK, Kwon JW, Jun BY, Kim KW, Ahn K, Lee SY, Park JD, Kwon JW, Kim BJ, Lee MS, Do KH, Jang SJ, Pyun BY, Hong SJ. 2013. Inhalation toxicity of humidifier disinfectants as a risk factor of children's interstitial lung disease in Korea: a case-control study. *PLOS One*, 8:6 e64430.
- Yazdi AS, Guarda G, Riteau N, Drexler SK, Tardivel A, Goullin I, Tschopp J. 2010. Nanoparticles activate the NLR pyrin domain containing 3 (Nlrp3) inflammasome and cause pulmonary inflammation through release of IL-1 α and IL-1 β . *Proc Natl Acad Sci USA*, 107, 19449-19454.
- Yeatts KB, El-Sadig M, Leith D, Kalsbeek W, Al-Maskari F, Couper D, Funk WE, Zoubeidi T, Chan RL, Trent CB, Davidson CA, Boundy MG, Kassab MY, Rusyn I, MacDonald Gibson J, Olshan A F. 2012. Indoor Airpollutants and Health in the United Arab Emirates. *Environmental Health Perspectives*, 120, 687-694.
- Yekkour A, Tran D, Arbelet-Bonnin D, Briand J, Mathieu F, Lebrihi A, Errakhi R, Sabanou N, Bouteau F. 2015. *Plant Science* 238: 148-157
- Yliopiston Apteekki. 2014. Neoamisept tuotteen koostumus. <http://www.yliopistonapteekki.fi/fi/apteekki-palvelut/tuotteet/pages/product.aspx?pagetype=2&catalog=yasalescatalog&productid=236414%28yabasecatalog%29>
- Ympäristöministeriö. 2014. Uudet Rakennusmääräykset. Tiedotustilaisuus 4.9.2014 (Katja Outinen).
- Yoshida T, Ohnuma A, Horiuchi H, Harada T. 2011. Pulmonary Fibrosis in Response to Environmental Cues and Molecular Targets Involved in Its Pathogenesis. A review. *J Toxicol Pathol* 2011; 24: 9-24
- Youssefi S, Waring MS. 2014. Transient secondary organic aerosol formation from limonene ozonolysis in indoor environments: Impacts of air exchange rates and initial concentration ratios. *Environ Sci Technol* 48, 7899-7908.
- Yuan G, Wei Q, Tie J, Wang C, Rao L, Zhang W. 2014 Synergistic sporicidal effect of ethanol on a combination of orthophthalaldehyde and Didecyldimethylammonium chloride. *Letters in Applied Microbiology* 59, 272-277.
- Zalutskaya Z, Lapina T, Ermilova E. 2015. The *Chlamydomonas reinhardtii* alternative oxidase 1 is regulated by heat stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 97, 229-234.
- Zhang J, Wang X, Chen Y, Wanzhen Y. 2014. Correlation between levels of exhaled hydrogen sulfide and airway inflammatory phenotype in patients with chronic persistent asthma. *Respirology*, 19, 1165-1169.
- Zhang L, Liu J. 2016. Enhanced fatty acid accumulation in *Isochrysis galbana* by inhibition of the mitochondrial alternative oxidase under nitrogen deprivation. *Bioresource Technology* 211: 783-786
- Zheng QC, Kong MZ, Zhao Q, Chen GD, Tian HY, Li XX, Guo LD, Li J, Zheng YZ, Gao H. 2014. Chaetoglobosin Y, a new cytochalasan from *Chaetomium globosum*. *Fitoterapia* 93, 126-131.
- Zock JP, Plana, E., Jarvis D, Anto JM, Kromhout H, Kennedy SM, Kuenzli N, Villani S, Olivieri M, Toren K, Radon K, Sunyer SM, Dahlman-Hoglund A, Norbäck D, Kogevinas M. 2007. The use of household cleaning sprays and adult asthma. An international longitudinal study. *American J of Resp and Critical Care Medicine*, 176, 735-741.