

Tuula Laakso, Joanna Peltola, Seija Kalso, Timo Vartiala ja Seppo Ahonen

Asuntojen rakennusmateriaalien sekä niiden ja sisäilman mikrobien myrkyllisyys karjun siittiötestissä

SISÄLLYS

Yhteenveto

1. Johdanto	1
2. Materiaalit ja menetelmät	2
2.1. Rakennusmateriaalien metanoliuutteiden myrkyllisyys	2
2.2. Nuoret asunnot	4
2.2.1. Materiaalien mikrobiviljelyt	3
2.2.2. Lattiamateriaaleista haihtuvien yhdisteiden myrkyllisyys	4
2.3. Fluoresoivien väriaineiden käyttö myrkyllisyyden vaikutusmekanismiin tunnistamisessa	4
2.4. Kasvunestotestit	5
3. Tulokset	6
3.1. Rakennusmateriaalien metanoliuutteiden myrkyllisyys	6
3.2. Nuoret asunnot – muovimatot	7
3.2.1. Viljelytulokset	7
3.2.2. Muovimattojen myrkyllisyys karjun siittiöille	8
3.3. Kasvunestokokeet	10
3.3.1. Sisäilmanäytteiden Andersen-maljat	10
3.3.2. Rakennusmateriaalinäytteiden TSA-maljat	10
4. Pohdinta	10
5. Lähteet	15

YHTEENVETO

Asuntojen epäillyistä terveyshaitoista ja niiden mahdollisesta yhteydestä sisäilman mikrobiologiseen laatuun on paljon tietoa. Mikrobin tuottamia myrkyllisiä yhdisteitä voidaan tutkia kemiallisella analytiikalla, eläinkokein tai soluviljelmien avulla. Tässä selvityksessä rakennusmateriaalien metanoliuotteiden, materiaaleista haihtuvien yhdisteiden sekä eristettyjen mikrobikantojen myrkyllisyyttä tutkittiin käyttäen testisoluina karjun siittiöitä.

Erityisesti tutkimuksessa on keskitytty ns. nuorten asuntojen eli 1-10 vuotta vanhojen rakennusten lattiamattojen tutkimuksiin. Tutkimuksessa testattiin myös asuntojen sisäilma- ja rakennusmateriaalinäytteiden bakteerikantojen myrkyllisyyttä käyttäen testisoluina karjun siittiöiden lisäksi bakteereja. Testi perustuu tutkittujen mikrobikantojen kykyyn estää tiettyjen testimikrobien (*Micrococcus luteus*, *Dietzia maris* ja *Saccharomyces cerevisiae*) kasvu eli ns. antagonismivaikutukseen.

Nuorten asuntojen muovimatoista tehdyt uutteet olivat kaikki myrkyllisiä karjun siittiöille. Myrkyllisyyteen ei vaikuttanut, sisälsikö näyte runsaasti vain vähän eläviä mikrobeja. Todennäköisesti siis muovimatot itsessään ilman mikrobikasvua olivat myrkyllisiä. Erään muovimaton metanoliuutetta tutkittaessa sen todettiin tuhoavan siittiösolun mitokondrioiden membraanipotentiaalin.

Käyttämättömistä rakennusmateriaaleista, kuten muovimattoliimasta, M1-luokan muovimatosta nro 1 ja luokittelemattomasta muovimatosta nro 4 sekä kuudesta nuoresta asunnosta otetusta muovimatonäytteestä todettiin haihtuvan karjun siittiöille myrkyllisiä aineita, joiden alustavasti havaittiin aiheuttavan siittiöiden solukalvon vaurioitumisen. Näissä näytteissä todettiin enemmän fenolia kuin muissa tutkituissa näytteissä.

Muovimatot kiinnitetään liimalla tasoitteeseen, joka on emäksistä. Muovimatonäytteiden viljelytuloksista näkyy, että bakteeripitoisuuteen ei merkittävästi vaikuttanut se, oliko näyte viljelty neutraalissa vai korkeammassa pH:ssa. Tulosten perusteella on kuitenkin suositeltavaa käyttää rakennusmateriaalien viljelyissä useampaa kuin yhtä elatusainetta, jotta mahdollisimman laaja kirjo mikrobeja saadaan esiin.

Eräistä rakennusmateriaali- ja sisäilmanäytteistä tutkittiin muiden mikrobien kasvua estävien bakteerien ja homesienten esiintymistä. Löydökset olivat vähäisiä ja johtopäätösten teko edellyttäisi merkittävästi suurempaa tutkimusaineistoa. Sisäilmanäytteiden ns. antagonismiko-

keiden tekeminen on kuitenkin yksinkertaista ja nopeaa, joten sitä voisi jatkossa käyttää tiedon kartuttamiseen.

Yhdellä biologisella testillä ei voida kattavasti arvioida mikrobien haitallisuutta, vaan yleensä tarvitaan useampi eri vaikutustapaa mittaava testi. Siittiötoksisuus- ja antagonismitesteihin voidaan myös liittää esimerkiksi *Vibrio fischeri* –valobakteeritesti tai ympäristölaboratorion si-nilevätutkimuksissa aiemmin käyttämä surviaissääskentoukkatesti. Tällöin saadaan monipuolisempaa tietoa näytteiden myrkyllisyydestä ja biologisista vaikutuksista. Muita siittiötoksisuustestin käyttökohteita voisivat olla elintarvikkeisiin mikrobitoiminnan vaikutuksesta muodostuneet toksiinit.

1. JOHDANTO

Epäterveellinen sisäilma saattaa aiheutua rakennusten vesi- tai kosteusvaurioista ja niiden aiheuttamista mikrobikasvustoista rakennusmateriaaleissa. Mikrobikasvu voi aiheuttaa rakennuksessa oleskeleville henkilöille terveydellisiä haittoja (mm. ärsytysoireita, allergioita ja jopa myrkytysoireita). Helsingin ympäristökeskuksen ympäristölaboratoriossa on jo kahden vuosikymmenen ajan tehty asuntojen kosteusvaurioihin liittyviä mikrobiologisia ja kemiallisia tutkimuksia.

On kuitenkin tilanteita, joissa asunnossa ei havaita silminnähden eikä perinteisten mikrobiologisten tutkimusten avulla mikrobikasvustoa, mutta asukkaiden oireilu kuitenkin vahvasti viittaa siihen. Ympäristökeskuksen asunnontarkastuksessa on viime vuosina todettu ongelmia osassa uusia (1-10 v.) asuinkerrostaloja, joissa asukkaat oireilevat, mutta mitään varsinaista mikrobiologista tai kemiallista ongelmaa ei näyttäisi olevan. Usein ei esiinny mitään erityistä hajuakaan. Asuntojen muovimattojen vaihto on yleensä vähentänyt asukkaiden oireita.

Sairastumista aiheuttavat mikrobit tai mikrobiryhmät sekä niiden tuottamat yhdisteet ovat kuitenkin puutteellisesti tunnettuja. Tähän mennessä toteutetut tutkimukset ole osoittaneet selkeää yhteyttä ilmassa esiintyvien elävien bakteerien, sienten, niiden itiöiden määrän tai tuottamien yhdisteiden ja havaittujen oireiden välillä. Oireiden aiheuttajiksi on epäilty mm. mikrobien soluseinien endotoksiineja ja β -D-glukaaneja, mykotoksiineja, sytotoksisia aineita tuottavia *Streptomyces* -sukuisia sädesieniä ja mikrobien tuottamia haihtuvia yhdisteitä (Flannigan ym. 1994; Andersson ym. 1998; Rylander 1998; Paananen ym. 2000).

Sairastuvuusrisikin arvioiminen kosteus- ja mikrobivauriot tunnistamalla on tärkeää jo ennen kuin varsinaisia terveydellisiä haittoja alkaa esiintyä. Siksi menetelmien kehittäminen myrkyllisiä yhdisteitä tuottavien mikrobien ja näiden myrkkyjen nopeaan havaitsemiseen on tärkeää.

Karjun siittiöiden liikkuvuuden inhibitiotestin eli siittiötoksisuustestin avulla voidaan todeta mitokondrioille ja solukalvolle haitalliset myrkyt rakennusmateriaaleista (Andersson ym. 1997, Peltola ym. 1999). Siittiösolujen lisäksi myös tiettyjen bakteereiden kasvun estymistä eli inhibitiota voidaan käyttää toisen bakteeri- tai sienikannan myrkyllisyyden testaamiseen samalla tavalla kuin bakteerien kasvun estymistä käytetään yleisesti antibioottien testaamiseen.

Helsingin yliopiston soveltavan kemian ja mikrobiologian laitoksella on kehitetty testi, jolla myrkylliset aineet todetaan suoraan rakennusmateriaaleista tai niiden uutteista käyttäen testisoluina sian siittiöitä. Testissä ei voida tunnistaa myrkyllisiä yhdisteitä, vaan tätä varten tarvitaan materiaalien kemiallisia tutkimuksia. Myrkytön vaikutusta mitokondrioihin tai solukalvoon voidaan tutkia spesifisellä solujen värjäystekniikalla ja mikroskooppisella tutkimuksella. FM Joanna Peltola on osallistunut siittiösolutestin ja toksisten yhdisteiden vaikutusmekanismien tutkimustyöhön ja hän suoritti ympäristölaboratoriossa testin käytön sisäänajon syys-marraskuussa vuonna 2000. Myrkyllisyystestin käytölle ja soveltamiselle ympäristölaboratoriossa asetettiin kolme tavoitetta:

- 1) käyttöönottaa rakennusmateriaalien metanoliuutto ja karjun siittiöiden toksisuustesti ja perehdyttää ympäristölaboratorio näihin menetelmiin,
- 2) selvittää onko nuorten asuntojen ongelmassa kyse mikrobiologisesta ongelmasta,
- 3) selvittää bakteeri- ja hiiva-kasvunestotestien soveltuvuutta sisäilmassa tai rakennusmateriaaleissa esiintyvän mikrobikasvun myrkyllisyyden osoittimeksi.

Rakennusmateriaalien myrkyllisyyttä siittiösoluille testattiin sekä niiden uutteista että altistamalla siittiöt materiaaleista vapautuville haihtuville yhdisteille. Haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (volatile organic compounds, VOC) analytiikan avulla pyrittiin selvittämään siittiösoluvaikutusten aiheuttajia kemiallisina yhdisteinä ja värjäystekniikan avulla niiden vaikutusmekanismeja solutasolla.

2. MATERIAALIT JA MENETELMÄT

2.1. Rakennusmateriaalien metanoliutteiden myrkyllisyys

Rakennusmateriaalien metanoliutteista tehtävään siittiöiden liikkuvuuden estotestiin käytetyt materiaalit ja menetelmät on yksityiskohtaisesti kuvattu ympäristölaboratorion menetelmäohjeessa. Menetelmän periaatteena on, että rakennusmateriaali tai mikrobipuhdasviljelmä uutetaan metanoliin ja uutteen kuiva-ainepitoisuus määritetään punnitsemalla. Uutteen myrkyllisyyttä karjun siittiöille tutkitaan altistamalla

siittiöt uutteelle tai sen laimennokselle. Siittiöiden liikkuvuutta seurataan mikroskopoimalla yhden ja kolmen vuorokauden kuluttua altistuksen aloittamisesta.

Rakennusmateriaalinäytteen metanoliuuttoa varten punnittiin 10 g pieneksi paloiteltua rakennusmateriaalia uuttoastiaan. Siihen lisättiin 100 ml metanolia ja ravisteltiin tasoravistelijassa yön yli. Uutos suodatettiin paperisuodattimen läpi kolviin ja haihdutettiin pyöröhaihduttimella kuiviin. Kolviin jäänyt eli metanoliin uuttunut materiaali liuotettiin 2 ml:aan metanolia ja siirrettiin esipunnittuun lasiampulliin. Metanoli haihdutettiin tyypellä kuiviin ja ampulli punnittiin uudestaan. Tämän ja tyhjän ampullin painon erotuksena saatiin uutteen kuivapaino. Ampullissa oleva uutos liuotettiin metanoliin siten, että kuiva-aine pitoisuudeksi saatiin 10 tai 100 mg/l. Uutetta säilytettiin pakastimessa.

Mikrobipuhdasviljelmien uutto tehtiin vastaavalla tavalla. Lähtömateriaalina oli sopivalla elatusaineella 10 vrk kasvatettu mikrobimassa, joka kerättiin uuttoastiaan ja punnittiin. Mikrobimassa pakastettiin ja sulatettiin kolme kertaa, jotta solut rikkoutuisivat. Mikrobimassaan lisättiin metanolia ja uuttoa jatkettiin kuten rakennusmateriaalien kohdalla.

Siittiösolutestiä varten siittiöerän liikkuvuus tarkastettiin mikroskopoimalla ennen kokeen aloittamista. Mikäli yli 50 % siittiöistä ui vilkkaasti, ne soveltuivat käytettäväksi testissä. 2 ml karjun siittiöliuosta koeputkissa altistettiin metanoliuutteelle (kuivapaino 10 mg/ml) pipetoimalla sitä vähintään 1 µl ja enintään 20 µl siittiöliuokseen. Kokeissa käytettiin kontrolleina pelkkää siittiöliuosta, siittiöliuokseen lisättyä metanolia, siittiöille myrkytöntä *Bacillus cereus* –vesiuutetta sekä myrkyllistä *B. cereus* –vesiuutetta. Siittiöliuoksia inkuboitiin huoneenlämmössä kolme vuorokautta. Siittiöiden liikkuvuutta tarkasteltiin yhden ja kolmen vuorokauden kuluttua altistuksen aloittamisesta.

Myrkyllisiksi luokitellaan ne rakennusmateriaaleista tai mikrobipuhdasviljelmistä valmistetut metanoli- tai vesiuutteet, jotka pienissä pitoisuuksissa (rakennusmateriaalin metanoliuute: < 10 µg/ml; mikrobimetanoliuute: < 50 µg/ml; vesiuute 40 µl) pysäyttävät karjun siittiöiden uintiliikkeen. EC₅₀ (effective concentration eli tehoava pitoisuus) on se uutteen pitoisuus, joka pysäyttää liikkeen 50 %:sta siittiöitä verrattuna pelkällä metanolilla altistettuihin siittiöihin. Tulos ilmoitetaan EC₅₀ -arvona. Esimerkiksi EC₅₀ 5-50 µg/ml tarkoittaa sitä, että uutteen myrkyllisyys on pitoisuusvälillä 5-50 µg/ml.

Materiaalien uuttomenettelyä ja myrkyllisyystestin käyttöönottoa varten valmistettiin reagenssi- ja välinekontrollit käyttämällä näytteenä puhdasta 100- tai 95-prosenttista metanolia. Reagenssi- ja välinekontrollit eivät olleet myrkyllisiä karjun siittiöille. Edellä mainitut kontrollit valmistettiin ja testattiin neljä kertaa. Siittiötoksisuustestin positiivinen ja negatiivinen kontrolli (vesiuutteet myrkyllisestä ja myrkyttömästä *Bacillus cereus* -kannasta) on myös valmistettu ja testattu ympäristölaboratoriossa.

2.2. Nuoret asunnot

2.2.1. Materiaalien mikrobiviljelyt

Koska nuorten asuntojen ongelmien uskottiin liittyvän jollakin tavalla niissä käytettyihin lattiamattomateriaaleihin, keskityttiin niiden tutkimukseen.

Lattiamateriaalinäytteiden pH-arvot mitattiin ennen niiden mikrobiologista viljelyä Sosiaali- ja terveysministeriön Sisäilmaohjeen (1997) mukaisilla elatusaineilla, tryptoni-hiivauute-glukoosiagarilla (=THG) ja 2% mallasagarilla bakteeri- ja sieni-itiöpitoisuuden selvittämiseksi. Lisäksi viljelyt tehtiin Tryptic soya –agarilla (TSA) neutraalissa (pH 7) ja korkeassa pH:ssa (pH 10).

2.2.2. Lattiamateriaaleista haihtuvien yhdisteiden myrkyllisyys

Lattiamateriaalien haihtuvien aineiden myrkyllisyyden tutkimista varten suunniteltiin suljettu systeemi, jossa tutkittavan materiaalin annettiin kyllästyä eksikaattorin ilmatila.

Etanolilla (70 %) hyvin puhdistettuun eksikaattoriin (Ø 10 cm) punnittiin noin 50 g rakennusmateriaalinäytettä. Eksikaattorin posliinivälilevyn yläpuoliseen tilaan laitettiin neljä noin 1,5 × 5 cm:n kokoista näytepalaa ja sen alapuoliseen tilaan laitettava loppunäyte pilkottiin noin 1 × 1 cm:n kokoisiksi paloiksi. Posliinivälilevyn päälle laitettiin 70 % etanolilla huuhdottu pieni lasinen petrimalja (Ø 6 cm) ja eksikaattori suljettiin kannella ja tiivistettiin parafilmillä. Kannen hiokseen laitettiin 70 % etanolilla huuhdottu lasinen nesteannostelija, jonka lasihioshana suljettiin.

Eksikaattorin annettiin kyllästyä materiaalinäytteestä haihtuvilla yhdisteillä 5-6 vrk, minkä jälkeen nesteannostelijan kautta pieneen petrimaljaan lisättiin 10 ml karjun siittiöitä. Inkubointia jatkettiin vielä kaksi vuorokautta ja tarkistettiin siittiöiden liikkuvuus.

2.3. Fluoresoivien väriaineiden käyttö myrkyllisyyden vaikutusmekanismin tunnistamisessa

Fluoresoivia väriaineita voidaan käyttää selvittäessä siittiöiden liikkeen hiipumisen syytä eli onko kyse solukalvo- vai mitokondriovaurioista. Solukalvovärjäys suoritettiin propidium jodidilla ja SYBR-14:lla (Live/dead sperm viability kit; Molecular Probes, Eugene, Oreg.). Propidium jodidi fluoresoi punaisena, kun se sitoutuu DNA:han, mutta

tarvitsee soluun päästäkseen rikkoutuneen plasmamembraanin. SYBR-14 puolestaan läpäisee membraanin, värjää DNA:n ja fluoresoi kirkkaan vihreänä (Garner ym. 1999). Yksi mikrolitra laimennettua (1:50) SYBR-14 sekoitettiin 200 µl:n karjun siittiösoluja ja inkuboitui 10 minuuttia 36°C:ssa ja 1 µl prodipium jodidia lisättiin. Inkubointia jatkettiin 5-10 minuuttia 36°C:ssa, jonka jälkeen näyte oli valmis mikroskopoitavaksi epifluoressimikroskoopilla (Peltola ym. 2001).

Mitokondriovärjäykseen käytettiin kationista JC-1-väriä (Molecular Probes), joka on spesifinen mitokondrion membraanipotentiaalille (Bernardi ym. 1999; Salvioli ym. 1997). Säilynyt mitokondrion membraanipotentiaali havaitaan epifluoressimikroskoopilla kelta-oranssina fluoresenssina; vihreä fluoresenssi osoittaa potentiaalin hävonneen (Peltola ym. 2001). 0,7 µl JC-1 (1 mg/ml DMSO) lisättiin 200 µl:aan 36°C:ssa 5 minuuttia inkuboituja siittiöitä. Inkubointia jatkettiin 3-5 minuuttia 36°C:ssa ja näytettä tarkasteltiin epifluoressimikroskoopilla (Andersson ym. 1995; Peltola ym. 2001).

2.4. Kasvunestotestit

Bakteerien kasvunestotestit testitiin 10 asunnon ja yhden päiväkodin sisäilmanäytteiden Andersen-keräimellä otetuilla bakteeriviljelymaljoilla. Testimikrobit, *Micrococcus luteus* DSM 20030, *Dietzia maris* Ma-148 ja *Saccharomyces cerevisiae* H-785, levitettiin pehmytagarissa maljojen pinnalle.

Testibakteerikantoja (*Micrococcus luteus* DSM 20030 ja *Dietzia maris* MA-148) kasvatettiin TSA-agarilla ja testihivakantaa (*Saccharomyces cerevisiae* H-785) 2% mallasagarilla 2 vuorokautta +25°C:ssa. Silmukallinen bakteerikantaa siirrostettiin 100 ml:aan Nutrient Broth-pehmytagaria tai silmukallinen testihivakantaa 100 ml:aan 2% mallas-pehmytagaria ja sekoitettiin hyvin. Noin 10 ml testikantaa valettiin Andersen-keräimellä otettujen bakteeri-ilmanäytemaljojen päälle sekä puhtaalle maljalle kontrolliksi. Maljoja viljeltiin 1-2 vrk 25°C:ssa ja laskettiin ne sisäilman mikrobipesäkkeet, jotka estivät testikantojen kasvun.

Ilma- tai rakennusmateriaalinäytteistä eristettyjen mikrobien puhdasviljelmät siirrostettiin sopivalle agarmaljalle (TSA- tai 2% mallasagar) yhdeksi viivaksi ja viljeltiin 10 vrk +25°C:ssa. Testiä jatkettiin kuten edellä, paitsi ilmanäytemaljojen tilalla käytettiin 10 vuorokautta kasvatettua mikrobipuhdasviljelmää.

3. TULOKSET

3.1. Rakennusmateriaalien metanoliuutteiden myrkyllisyys

Rakennusmateriaalinäytteet (21 kpl) uutettiin 95 tai 100 %:een metanoliin ja uutteen myrkyllisyys karjun siittiöille testattiin.

Rakennusmateriaaliuutteiden myrkyllisyydestä ja mikrobiologisten viljelyjen tulokset on koottu taulukkoon 1. Rappausnäytteiden uutoksista todettiin siittiötoksisuustestillä selvästi myrkylliseksi yksi hormista otettu näyte (nro 5). Kyseisestä materiaalista kasvoi viljelyssä 10^4 - 10^5 kpl/g mikrobeja. Samasta näytteestä tunnistettiin mm. *Stachybotrys*-, *Acremonium*-, *Aspergillus*- ja *Penicillium*-sukuisia homeita. Rappausmateriaalin nro 6 mikrobipitoisuus oli kohonnut ja näytteestä tehty metanoliuute oli myrkyllinen karjun siittiösoluille. Korkeita mikrobipitoisuuksia todettiin myös mineraalivillanäytteissä nro 8 ja 9 sekä näytteessä 13, mutta näistä näytteistä tehdyt metanoliuutteet eivät olleet näytteen nro 8 uutetta lukuun ottamatta merkittävästi myrkyllisiä karjun siittiöille. Mineraalivillanäytteet 8 ja 9 ovat samasta kohteesta, nro 8 oli ollut alasidepuuta vasten ja nro 9 tuulensuojalevyä vasten.

Alasidepuuta vasten ollut näyte oli selvästi tummuneempi kuin tuulensuojalevyä vasten ollut, ja se todettiin karjun siittiöille myrkyllisemmäksi. Kummassakin näytteessä oli samankaltainen homesienisuvusto (*Penicillium*, *Oidiodendron*, *Chrysosporium*). Näissä näytteissä samoin kuin myrkyttömäksi todetussa mineraalivillanäytteessä nro 13 ja puunäytteessä nro 20 todettiin runsaasti sädesieniä. Eristemateriaali, jonka piti olla kontrollimateriaali (nro 15), oli myrkyllisempi kuin varsinainen näytemateriaali (nro16).

Vanhan eristevillanäytteen (nro 14) metanoliuute oli myrkyllinen karjun siittiöille. Näyte sisälsi runsaasti sädesieniä. Fluoresoivilla väriaineilla värjätessä havaittiin, että uute todennäköisesti aiheutti mitokondriovaurion karjun siittiöille.

Tutkituista näytteistä otettiin talteen sädesieniä ja joidenkin kantojen myrkyllisyys karjun siittiösoluille testattiin Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitoksella. Kolmesta eristevillanäytteestä eristettyjen sädesienien metanoliuutteiden todettiin olevan myrkyllisiä siittiöille. Yhdestä näytteestä eristetyt kannat puolestaan eivät olleet toksisia kuten ei materiaalikaan. Kaikki kolme näytteestä 14 eristettyä sädesienikantaa samoin kuin eristevillan metanoliuute olivat myrkyllisiä. Näytteestä 8 eristettiin neljä kantaa, joista yksi oli myrkyllinen. Materiaalin metanoliuute oli vain lievästi myrkyllinen. Näytteestä 13 eristettiin ainoastaan yksi kanta, joka oli myrkyllinen, sitä vastoin materiaalin metanoliuute ei ollut. Ainoan rappausmateriaalista nro 6 eristetyn sädesienikannan metanoliuute ei ollut myrkyllistä, mutta materiaalin metanoliuute oli.

Taulukko 1. Rakennusmateriaalinäytteiden metanoliuotteiden myrkyllisyystestien tulokset sekä näytteiden bakteeri-, sädesieni- ja homeitiöpitoisuudet tai määrät.

Materiaali nro		EC50 µg/ml	Mikrobipitoisuus kpl/g bakteerit	homeet
RAPPAUSPINTA				
Ulkoseinä	1	>40	<100	<100
	2	>40	<100	$2,7 \times 10^2$
	3	40	$4,7 \times 10^5$	$4,2 \times 10^4$
	4	20-40	<100	<100
Hormi	5	<10	$1,4 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$
RAPPAUS	6	n. 10	+++ (8×10^4 ss*)	10^4
RAPPAUS	7	n. 25	++ (5×10^4 ss) 10^5	
MINERAALI-VILLA	8	<12,5	$6,3 \times 10^5$ ($2,8 \times 10^4$ ss*)	$1,5 \times 10^5$
	9	n. 25	$6,6 \times 10^5$ ($2,6 \times 10^4$ ss*)	$4,8 \times 10^5$
	10	5-12,5	<1000	<1000
	11	≥ 50	<1000	<1000
	12	>50	<1000	<1000
	13	>50	$1,1 \times 10^7$ ($3,6 \times 10^6$ ss*)	<1000
VANHA				
ERISTEVILLA	14	<5	$4,4 \times 10^7$ (9×10^4 ss*)	$1,9 \times 10^5$
ERISTE	15	n. 12,5	-	-
	16	25-50	$2,0 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$
KOVALEVY	17	n. 25	-	-
LASTULEVY	18	25-50	+++ (++ ss*)	10^5
PUULEVY	19	n. 50	-	-
PUU	20	>50	+++ (7×10^5 ss*)	10^5
KLINKKERI	21	n. 50	+++	10^5

* ss= sädesienipitoisuus kpl/g ; ++ = kohtuullinen kasvusto ; +++= runsas kasvusto; - = ei tutkittu

3.2. Nuoret asunnot – muovimatot

3.2.1. Viljelytulokset

Ympäristölaboratoriossa määritettiin 13 muovimatonäytteen mikrobipitoisuudet (taulukko 2). Näytteet 1 ja 2 oli toimitettu laboratorioon aikaisempien asunnontarkastusten yhteydessä, muut näytteet otettiin tutkimuksen aikana. Mattojen pH-arvot vaihtelivat 7,8-10,8 keskiarvon ollessa 8,1. Vanhoissa näytteissä kasvoi korkeamman pH:n elatusai-
neella huomattavasti enemmän bakteereja kuin neutraalissa pH:ssa.

Muovimatonäytteiden bakteeripitoisuudet olivat yleensä matalia (korkeintaan 10^3 kpl/g). Tutkimuksessa oli mukana myös kaksi tasoite-
näytettä, jotka molemmat olivat kosteita. Käytetyillä viljelymenetelmillä

ei näistä näytteistä saatu esille bakteeri- tai homesienikasvustoa. Näytteiden 5 ja 6 bakteeri- ja homeitiöpitoisuudet ($5,7 \times 10^4$ ja $5,2 \times 10^5$ kpl/g) viittaavat siihen, että kyseessä on kosteusvauriorakenteesta otettu näyte. Näyte 10 oli paksun pölykerroksen peittämä, tämä pöly otettiin talteen ja käsiteltiin erillisenä näytteenä. Pölyn bakteeri- tai homeitiöpitoisuus ei ollut merkittävä, mutta siitä löytyi sädesieniä. Kun ne tutkittiin erikseen, todettiin, että kaksi kolmesta eristetystä sädesienikannasta osoittautui myrkyllisiksi karjun siittiöille metanoliuutteenä.

Taulukko 2. Nuorten asuntojen muovimatonäytteiden bakteeripitoisuudet eri elatusaineilla.

Näyte nro	TSA-agar	TSA-agar	Bakteeripitoisuus kpl/g		THG-agar + sykloheksimidi pH 7
	pH 7	pH 10	THG-agar pH 7	THG-agar pH 10	
1	-	-	<100	$9,5 \times 10^3$	<100
2	-	-	-	$1,6 \times 10^6$	$1,2 \times 10^3$
3	$2,0 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$	<100	$1,0 \times 10^2$	$3,0 \times 10^2$
4	$1,6 \times 10^3$	$1,0 \times 10^2$	$3,2 \times 10^3$	$1,7 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$
5	$1,5 \times 10^6$	$5,9 \times 10^5$	-	-	$1,4 \times 10^6$
6	$1,4 \times 10^7$	$8,9 \times 10^6$	-	-	$9,1 \times 10^6$
7	$1,2 \times 10^3$	$2,6 \times 10^3$	-	-	$1,3 \times 10^3$
8	$2,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	-	-	$1,3 \times 10^3$
9	$1,4 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$	-	-	$1,1 \times 10^2$
10	$1,0 \times 10^3$	$3,0 \times 10^2$	-	-	$3,0 \times 10^3$
11	<100	$1,0 \times 10^2$	-	-	$5,4 \times 10^2$
12	$3 \dots 9 \times 10^3$	$7,0 \times 10^2$	-	-	$2,4 \times 10^3$
13	$1,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$	-	-	$4,0 \times 10^2$

- = ei tutkittu

3.2.2. Muovimattojen myrkyllisyys karjun siittiöille

Muovimatonäytteiden metanoliuutto oli ongelmallinen, koska uutteen jäivät geelimäisiksi ja kuivapainon määrittäminen oli siten mahdotonta. Testatuista muovimatoista tehty uutteen olivat kaikki ainakin jossain määrin myrkyllisiä karjun siittiöille (taulukko 3). Alustavissa fluoresoivilla väriaineilla tehdyissä kokeissa huomattiin, että muovimatonäytteestä nro 4 tehty metanoliuute sisälsi yhdisteitä, jotka tuhosivat karjun siittiöiden mitokondrioiden membraanipotentiaalin. Muovimattojen metanoliuutteiden myrkyllisyyteen ei vaikuttanut sen mikrobipitoisuus.

Haihtuvien aineiden myrkyllisyyden mittaamista varten suunniteltiin suljettu systeemi, jossa tutkittavan materiaalin annettiin kyllästää eksi-kaattorin ilmatila ja 5-6 vuorokauden kuluttua karjun siittiösolut altistet-

tiin materiaalista haihtuneille yhdisteille. Asuntojen muovimatonäytteiden haihtuvien yhdisteiden myrkyllisyystestissä vertailumateriaalina käytettyjen muovimattoliiman, kaupan M1-luokan muovimaton nro 1 ja luokittelemattoman muovimaton nro 4 todettiin sisältävän karjun siittiöille myrkyllisiä haihtuvia aineita. Näin todettiin myös kuudesta asunnoista otetusta muovimatonäytteestä (taulukko 3).

Taulukko 3. Nuorten rakennusten muovimatonäytteiden ja neljän eri valmistajan muovimaton myrkyllisyys metanolituutteen (EC 50 µg/ml) ja eksikaattorikokeessa siittiösolutestillä määritettynä.

Näyte nro	Myrkyllisyys	
	EC50 µg/ml	Eksikaattori (kyllästysaika, vrk)
1	-	-
2	-	-
3	<5	-
4	<5	-
5	5-50	-
6	5-50	-
7	5-50	-
8	<5	Myrkyllinen (5)
9	<5	Myrkyllinen (5)
10	5-50	Myrkyllinen (5)
11	5-50	Myrkyllinen (6)
12	5-50	Myrkyllinen (6)
13	5-50	Myrkyllinen (6)
Käyttämättömät muovimatot:		
Matto 1	-	Myrkyllinen (5)
Matto 2	-	Ei myrkyllinen (5)
Matto 3	-	Ei myrkyllinen (5)
Matto 4	-	Myrkyllinen (5)

- = ei tutkittu

Metanolituutteen kuivapainon määrittäminen ei sen geelimäisyyden takia ollut mahdollista.

Muovimatoista haihtuvat yhdisteet (VOC) mitattiin purge & trap-termodesorptio/GC-MS –menetelmällä. Siittiösoluille myrkyllisten näytteiden todettiin sisälsivät fenolia enemmän kuin muut näytteet. Luokittelematon muovimatto nro 4 sisälsi lisäksi aromaattisia yhdisteitä enemmän kuin muut materiaalinäytteet. M1-luokan muovimatto nro 1 taas sisälsi runsaasti tunnistamattomia hiilivetyjä ja aromaattisia yhdisteitä.

Alustavissa fluoresoivilla väriaineilla tehdyissä kokeissa havaittiin, että siittiöiden liikkeen loppuminen saattaisi johtua niiden solukalvon vaurioitumisesta. M1-luokan muovimatosta nro 1 haihtuvien yhdisteiden todettiin tuhoavan karjun siittiöiden solukalvoja sen jälkeen, kun siittiöitä oli altistettu 12 vuorokautta.

3.3 Kasvunestokokeet

3.3.1. Sisäilmanäytteiden Andersen-maljat

Andersen-keräimellä otettujen sisäilmanäytteiden elatusainemaljoilta etsittiin sellaisia bakteeri- ja homepesäkkeitä, joiden ympärillä oli estovyöhyke ts. ne estivät muiden sisäilmamikrobien kasvua. Näitä onnistuttiin löytämään neljän asunnon ilmanäytteistä: neljä bakteerikantaa ja yksi homesienikanta. Muiden mikrobien kasvua estävien mikrobien pitoisuudet sisäilmanäytteen kokonaismikrobipitoisuudesta viljelytekniikalla määritettynä olivat keskimäärin 2,5 % ja korkeimmillaan 4,7 %. Siittiösoluille myrkylliseksi osoittautui yksi sisäilmanäytteestä eristetty bakteerikanta. Muiden sisäilman homeiden kasvua estävä home (*Beauveria bassiana*) ei ollut myrkyllinen siittiösoluille.

3.3.2.1. Rakennusmateriaalinäytteiden TSA –maljat

Rakennusmateriaalinäytteitä viljeltiin TSA-elatusaineella. Tarkoituksena oli etsiä myös näiltä maljoilta muiden bakteerien kasvua estäviä bakteeripesäkkeitä. Elatusaineeseen ei lisätty sienten kasvua estävää antibioottia, jotta olisi mahdollista löytää myös sienille antagonistisia pesäkkeitä. Muiden mikrobien kasvua estävien mikrobikantojen myrkyllisyys karjun siittiöille testattiin eikä niiden todettu olevan toksisia.

TSA- elatusaineelle tehdyistä rakennusmateriaalien viljelmistä löytyi ainoastaan yhdestä lattiamattonäytteestä muiden mikrobien kasvua estävä bakteeri. Tutkimuksessa huomattiin kuitenkin, että TSA-elatusaine on parempi rakennusmateriaalien bakteeripitoisuuden määrittämisessä kuin ympäristölaboratorion Sosiaali- ja terveysministeriön suosituksesta käyttämä THG, koska TSA-elatusaineella bakteerien lukumäärä ja diversiteetti oli suurempi. Lisäksi tutkimuksen yhteydessä löydetty sädiesienet on eristetty TSA-maljoilta. Samoista näytteistä ja laimennoksista THG-agarille tehty viljelyt eivät joko sisältäneet ollenkaan tai sisälsivät vähemmän sädiesieniä.

4. POHDINTA

Asuntojen epäillyistä terveyshaitoista ja niiden mahdollisesta yhteydestä sisäilman mikrobiologiseen laatuun on runsaasti tietoa. Tavalli-

simmin asukkaiden oireet ovat väsymystä, päänsärkyä, pahoinvointia, allergiaa, silmä-, poskiontelo- ja hengitystieinfektioita tai jopa masennusta. Varsinaisia homemyrkyjä ei kuitenkaan yleensä löydetä tai niiden määrät ovat niin vähäisiä, ettei niillä ainakaan yksin voi oireilua selittää.

Mikrobien tuottamia myrkyllisiä yhdisteitä voidaan tutkia kemiallisella analytiikalla, eläinkokein tai soluviljelmillä. Joitakin homeiden tuottamia yhdisteitä voidaan myös tutkia spesifisillä menetelmillä. Koska rakennusmateriaalien ja sisäilman myrkyllisyyttä ja sen yhteyttä asukkaiden oireiluun ei ole pystytty ratkaisemaan, on edelleen kehitetty uusia menetelmiä selittämään aineiden vaikutusta solujen energia-aineenvaihduntaan, immuunipuolustukseen ja viestiliikenteeseen (Andersson ym. 1999). Tavoitteena on ollut, että näihin toimintoihin vaikuttavien myrkyllisten aineiden tutkimuksella päästäisiin käsiksi yhteyteen, joka mahdollisesti selittäisi asuntojen mikrobiotisuuden vaikutusta asukkaiden oireiluun.

Sian siittiöt ovat kaupallisesti saatavilla, koska niitä käytetään keinosiemennykseen. Ne ovat halpoja ja säilyvät huoneenlämmössä 1-2 viikkoa. Sian siittiöiden liikkuvuus on sidoksissa solun mitokondrioiden tuottamaan energiaan, joten häiriöt mitokondriotoinnassa saavat nopeasti aikaan liikkuvuuden heikkenemisen (Mann ja Lutwak-Mann, 1982). Siittiöiden aktiivireaktioita, kuten uintinopeutta, uimisen suuntaa ja uintitapaa voi tutkia mikroskooppisesti. Sian siittiön solukalvossa on asetyylikoliinireseptoreita ja ne säätelevät siittiön liikkeitä. Asetyylikoliini on parasympaattisen autonomisen hermoston impulssien välittäjäaine, joten siittiösolu reagoi autonomisen hermoston välittäjäaineiden toimintaan vaikuttaville myrkyille (Mann ja Lutwak-Mann, 1982).

Myös bakteereja käytetään testisoluina. Bakteerin kasvun estymisen eli inhiboitumisen testisoluina on tässä tutkimuksessa käytetty *Micrococcus luteus* ja *Dietzia maris* –bakteerikantoja sekä *Saccharomyces cerevisiae* –hiivakantaa. *M. luteus* bakteerikanta valittiin, koska sen tiedetään osoittavan muiden mikrobien kyvyn tuottaa peptidiantibiootteja, kuten nisiiniä ja sädesienien tuottamaa depsi-peptidiantibioottia (Perkins ym. 1990). *M. luteus* on nopeakasvuinen ja herkkä myös valinomysiinille. *D. maris* –kannalla korvattiin kirjallisuudessa käytetty *Corynebacterium renale* (Crupper ym. 1997), koska se soveltuu paremmin rutiinikäyttöön. Antagonismi eli muiden mikrobien kasvun estäminen ja antibioottien tuotto on yleistä sädesienillä ja muilla gramposiitiivisilla bakteereilla (Gräfe 1992; Jack ym. 1995).

Tässä työssä tutkittiin eri rakennusmateriaalien metanoliuutteiden ja rakennusmateriaaleista haihtuvien yhdisteiden myrkyllisyyttä sian siittiöille toksisuustestillä. Erityisesti oltiin kiinnostuneita nuorten asuntojen lattiamattojen myrkyllisyydestä. Tutkimuksessa testattiin myös asuntojen sisäilma- ja rakennusmateriaalinäytteiden bakteerikantojen myrkyllisyyttä mikrobikantojen kasvunestotestein.

Rappausmateriaalinäytteiden uutoksista todettiin siittiötoksisuustestillä selvästi myrkylliseksi yksi hormista otettu näyte. Materiaalista kasvoi viljelyssä 10^4 - 10^5 kpl/g mikrobeja. Näytteestä tunnistettiin mm. *Stachybotrys* -suvun homeetta. Rakennusmateriaaleista eristettyjen *Stachybotrys* -kantojen on aikaisemmin todettu tuottavan siittiöiden solukalvoa tuhoavaa yhdistettä (Peltola ym. 1999). Näytteen myrkyllisyys karjun siittiöille voi siis hyvinkin johtua *Stachybotrys* -homeen tuottamista myrkyllisistä aineista.

Eristemateriaalinäyte (nro15) jonka piti olla vertailunäyte, oli myrkyllisempi kuin varsinainen näytemateriaali. Vertailumateriaalin myrkyllisyys karjun siittiöille voi johtua rakennusmateriaalin sisältämistä yhdisteistä, kuten esimerkiksi karbonaateista, jotka aiheuttavat karjun siittiöiden "klimppiytymisen". Tästä johtuen rakennusmateriaalinäytteet on aina myös viljeltävä mikrobikasvuston esille saamiseksi. Myös uutoissa on aina oltava mukana varsinaisen rakennusmateriaalinäytteen kanssa samaa koostumusta oleva vertailumateriaali, jotta nähtäisiin johtuuko myrkyllisyys itse rakennusmateriaalista vai siinä kasvavista mikrobeista.

Nuorten asuntojen muovimatoista tehdyt uutteet olivat kaikki myrkyllisiä karjun siittiöille. Myrkyllisyyteen ei vaikuttanut, oliko testi tehty paljon vai vähän mikrobeja sisältävästä näytteestä. Todennäköisesti siis muovimatot itsessään ilman mikrobikasvua olivat myrkyllisiä karjun siittiöille. Tätä päätelmää tukee myös se, että käyttämättömästä lattiatasoitteesta ja mattoliimasta tehdyt metanoliuutteet eivät olleet niin myrkyllisiä kuin muovimattouutteet.

Tulosten perusteella näyttää siis siltä, että rakennusmateriaaliuutteen myrkyllisyys karjun siittiöille ei aina korreloi näytteestä mikrobiologiassa viljelyssä saadun tuloksen kanssa. Siis paljon mikrobeja sisältävät rakennusmateriaalit eivät aina ole myrkyllisiä karjun siittiöille. Eräs muovimaton metanoliuute sisälsi yhdisteitä, jotka tuhosivat karjun siittiöiden mitokondrioiden membraanipotentiaalin. Toistaiseksi ei ole tietoa, sisälsivätkö muovimatot yleensäkin sellaisia uuttuvia, karjun siittiöiden mitokondrioiden membraanipotentiaalin tuhoavia yhdisteitä.

Koska siittiösolutestiä on tarkoitus käyttää tukemaan asunnontarkastusta arvioitaessa sisäilman mahdollista terveydellistä haittaa, ei näytemateriaalien uuttaminen ja uutteiden toksisuuden tutkiminen vaikuttanut lupaavalta nimenomaan tähän tarkoitukseen. Testiä kehitettiinkin vastaamaan paremmin asukkaiden altistumista hengitysteitse rakennusmateriaalien myrkyllisille yhdisteille. Tällöin rakennettiin yksinkertainen koejärjestelmä, jossa siittiösolut altistettiin rakennusmateriaaleista tietyssä ajassa haihtuville yhdisteille.

Muovimateriaaleista emittoituvien yhdisteiden, lähinnä ftalaattien on epäilty aiheuttavan pienille lapsille alahengitystieoireita (Jaakkola ym. 2000). Käyttämättömistä rakennusmateriaaleista, kuten muovimattoliimasta, M1-luokan muovimatosta nro 1 ja luokittelemattomasta

muovimatosta nro 4 sekä kuudesta asunnoista otetusta muovimatto-näytteestä todettiin haihtuvan karjun siittiöille myrkyllisiä aineita. Alustavissa fluoresoivilla väriaineilla tehdyissä kokeissa havaittiin, että siittiöiden liikkeen loppuminen saattaisi johtua niiden solukalvon vaurioitumisesta. Alustavien tulosten perusteella ei vielä voida kuitenkaan varmasti sanoa, mikä kemiallinen yhdiste aiheutti karjun siittiöiden uintiliikkeen lamaantumisen eksikaattorikokeissa, mutta fenolia on mahdollinen.

Muovimatoista haihtuvat orgaaniset aineet mitattiin purge&trap–termodesorptio/GC-MS –menetelmällä ja tuloksista voitiin todeta, että siittiösolutestissä myrkylliset materiaalinäytteet sisälsivät enemmän fenolia kuin muut näytteet. Fenoli on ns. irtikytijä eli se tuhoaa solukalvojen protonigradientin. Hapen läsnäollessa karjun siittiöt saavat energian uintiliikkeeseensä ATP:stä, jonka synteesiä protonigradietti pitää yllä (Andersson ym. 1999). On siis mahdollista, että fenoli aiheutti karjun siittiöiden uintiliikkeen lamaantumisen eksikaattorikokeessa. Monet helposti haihtuvat terpeenit, aromaattiset ja fenoliset yhdisteet voivat akkumuloitua lipidikalvoon ja aiheuttaa sen tuhoutumisen (Sikkema ym. 1995).

Muovimatoille tyypillisiä TXIB -yhdisteitä löytyi kaikista tutkituista materiaaleista, eniten kuitenkin siittiösoluille myrkyttömästä muovimatoista, joten niiden määrällä ei materiaalien myrkyllisyyttä voida selittää. Lisäksi on mielenkiintoista huomata, että haihtuvien aineiden kokonaispitoisuus karjun siittiöille myrkyllisissä näytteissä oli pienempi kuin myrkyttömiksi havaituissa näytteissä. On kuitenkin epätodennäköistä, että dynaamisessa purge&trap-termodesorptio/GC-MS –menetelmässä näkyisivät kaikki bioaktiiviset yhdisteet, joten biologisia testejä on hyvä käyttää kemiallisten analyysien rinnalla.

Eksikaattorikokeet vaikuttivat käyttökelpoisemmilta kuin materiaalien metanoliuuttuihin perustuvat siittiöiden myrkyllisyystestit. Tarvitaan kuitenkin paljon enemmän tutkimustuloksia eri materiaaleista erilaisissa kosteusolosuhteissa, jotta nähtäisiin esimerkiksi se, haihtuuko matoista enemmän vai vähemmän myrkyllisiä aineita kun ne kastuvat. Vastaavasti on mahdollista tutkia myös homeisista rakennusmateriaaleista haihtuvien aineiden myrkyllisyyttä karjun siittiöille. Todennäköisesti kuitenkin homeisten rakennusmateriaalien sisältämien mikrobien tuottamat myrkylliset aineet liikkuvat itiöiden tai muiden hiukkasten mukana. Näiden keräämiseen ja myrkyllisyyden tutkimiseen tarvittaisiin systeemi, jossa ilma kiertäisi. Tämän tyyppinen järjestelmä oli ympäristölaboratoriossa käytössä, kun tutkittiin homeisista rakennusmateriaaleista haihtuvia yhdisteitä kemiallisin menetelmin. Suunniteltu eksikaattorikoejärjestely soveltuu materiaalista haihtuvien myrkyllisten aineiden havaitsemiseen, mutta on epävarmaa pystyykö sillä tutki-
maan mikrobiperäisiä myrkyjä.

Muovimatot kiinnitetään liimalla tasoitteeseen. Tasoite on emäksistä, ja käytännössä asunnosta lattiamattonäytettä otettaessa mukaan tu-

lee aina myös jonkin verran tasoitetta. Tasoitemateriaaleja ympäristölaboratoriossa viljeltäessä ei käytännössä juuri koskaan ole saatu esille merkittävää bakteeri- tai homesienikasvustoa, vaikka olosuhteet asunnossa olisivat olleet sille edulliset. Tästä syystä on askarruttanut se, olisiko viljelyissä käytettävän elatusaineen pH:n kohottamisella vastaamaan materiaalin pH-arvoa merkitystä mikrobikasvuston esille saamiseksi laboratoriossa.

Muovimattonäytteiden viljelytuloksista näkyy, että bakteeripitoisuuksiin ei merkittävästi vaikuttanut näytteiden viljely neutraalissa tai korkeammassa pH:ssa. Osa korkean pH:n elatusaineilta eristetyistä bakteereista ei kasvanut lainkaan neutraalissa pH:ssa. Tämä tarkoittaa todennäköisesti sitä, että käyttämällä vain yhtä elatusainetta bakteerien määrää näytteessä aliarvioidaan. Jatkossa olisi hyvä käyttää Sosiaali- ja terveysministeriön ohjeen mukaisten elatusaineiden rinnalla esimerkiksi neutraalia TSA-elatusainetta ja TSA-elatusainetta, jonka pH on säädetty näytteen pH:n mukaan. Käytännössä kunkin viljelyissä käytettävän elatusaineen pH-arvon säätäminen optimitasolle on työlästä, joten useamman kuin yhden elatusaineen käytöllä voitaisiin paremmin vaikuttaa viljelytulokseen ja sen käytettävyyteen.

Yleisesti huomattiin, että TSA-elatusaine on parempi elatusaine bakteeriviljelyyn kuin Sosiaali- ja terveysministeriön Sisäilmaoppaan suosittelema THG-agar, koska TSA:lla bakteerien lukumäärä oli korkeampi ja lajikoostumus vaihtelevampi. Ympäristölaboratorion käyttämän viljelytekniikan laajentaminen Sosiaali- ja terveysministeriön Sisäilmaohjeen mukaisen elatusaineen lisäksi myös TSA:lle on suositeltavaa, koska edellä mainittu agar aliarvioi sädesienten määrää. Rakennusmateriaalien siittiösolutestien tekeminen ja viljelytekniikan monipuolistaminen edellyttää kuitenkin nykyistä suurempaa näytekokoa. Riittävän näytemäärän saaminen on hankalaa, koska asunnontarkastuksen yhteydessä ei rikota rakenteita.

Eräistä rakennusmateriaalinäytteistä eristettiin sädesieniä puhdasviljelmiksi. Näiden bakteerien metanoliuutteiden myrkyllisyys karjun siittiösoluille testattiin Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitoksella. Rakennusmateriaalien home- ja bakteerikasvua tutkitaan määrittämällä siinä esiintyvien mikrobien määrä. Yhdessä näytteessä voi esiintyä useampiakin sädesienikantoja ja niiden valikoituminen eristysvaiheessa aiheuttaa epävarmuutta niiden metanoliuutteiden ja materiaalien metanoliuutteiden toksisuuden vertailuun. Jotta tutkimuksella saataisiin luotettavampi kuva rakennusmateriaalissa esiintyvien viljeltävien mikrobien toksisuudesta siittiösoluille, tulisi mikrobikantoja eristää testeihin niin runsaasti, ettei se ole mahdollista muuta kuin tieteellisessä työskentelyssä.

Ilmanäytteissä esiintyvien muille mikrobeille antagonististen mikrobien määrä oli kokonaismikrobimäärään nähden vähäinen. Eniten esiintyi *Micrococcus luteus* antagonistisia bakteeripesäkkeitä. *M. luteus* on herkkä kaliumionoforille ja valinomysiinille ja sitä voisi käyttää An-

dersen-keräimellä otettujen sisäilmanäytteiden mikrobien testaamiseen, jolloin tulokset olisivat enemmän vertailukelpoisia keskenään. Lisäksi näin saataisiin helposti paljon tietoa ionoforien tai sen kaltaisten yhdisteiden tuottajien esiintymistiheydestä sisäilmassa. Testi on myös erittäin helppo toteuttaa eikä vaadi muutoksia asunnontarkastusten yhteydessä otettujen sisäilmanäytteiden ottoon.

Sisäilmanäytteiden sisältämät testimikrobien kasvua estävät kannat eivät kuitenkaan välttämättä olleet karjun siittiöille myrkyllisiä. Tämä tarkoittaa todennäköisesti sitä, että tällaiset mikrobikannat tuottavat sellaista yhdistettä, joka eivät vaikuta karjun siittiön solukalvoon eivätkä mitokondrioihin. Kyseessä voivat olla esimerkiksi proteiini- tai nukleiinihappometaboliaan vaikuttavat yhdisteet, jotka eivät estä karjun siittiöiden uintiliikettä. Antagonismi ja antibioottien tuotto on yleistä sädesienien ja myös muiden grampositiivisten bakteerien keskuudessa (Gräfe 1992, Jack ym. 1995). Yhdellä biologisella testillä ei voida kattavasti arvioida mikrobien haitallisuutta vaan yleensä tarvitaan useampi eri asiaa mittaava testi.

Siittiötoksisuustestiin voidaan yhdistää muita biologisia testejä, esimerkiksi ympäristökeskuksessa jo sinilevätoksiinien testauksessa käytössä oleva *Vibrio fischerii* –valobakteeritesti ja aiemmin ympäristölaboratoriossa käytössä ollut surviaissääskentoukkatesti (*Artemia salina*). Näin saataisiin monipuolisempi käsitys näytteiden myrkyllisyydestä ja biologisista vaikutuksista. Muita siittiösolutestin käyttökohteita voisivat olla elintarvikkeisiin mikrobitoiminnan vaikutuksesta muodostuneet toksiinit. *Bacillus cereus* –bakteerin oksennusoireita aiheuttavaa toksiinia on Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitoksella tutkittu suoraan elintarvikkeista ja bakteerikannoista uuttamalla. Testillä on haettu myös muiden *Bacillus* –lajien toksiineja.

5. LÄHTEET

Andersson MA, Laukkanen M, Nurmiäho-Lassila E-L, Rainey FA, Niemelä S, Salkinoja-Salonen M. 1995. *Bacillus thermosphaericus* sp.nov.: a new thermophilic ureolytic *Bacillus* isolated from air. Systematic and applied microbiology, 18:203-220.

Andersson MA, Nikulin M, Köljalg U, Andersson MC, Rainey F, Reijula K, Hintikka E-L, Salkinoja-Salonen M. 1997. Bacteria, Molds, and Toxins in Water-Damaged Building Materials. Applied and environmental microbiology, 63:387-393.

Andersson MA, Mikkola R, Kroppenstedt R, Rainey F, Peltola J, Helin J, Sivonen K, Salkinoja-Salonen M. 1998. Mitochondrial toxin produced by *Streptomyces* strains isolated from indoor environment is valinomycin. *Applied and environmental microbiology*, 64:4767-4773.

Andersson MA. 1999a. Bacterial diversity and toxicity in indoor air, indoor environment and foods. Väitöskirja, Helsingin yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis 13/1999.

Bernardi P, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Di Lisa F. 1999. Mitochondria and cell death (a review): mechanistic aspects and methodological issues. *European Journal of Biochemistry*, 264:687-701.

Crupper SS, Gies AJ, Iandolo JJ. 1997. Purification and characterization of staphylococcin BacR1, a broad-spectrum bacteriocin. *Applied and environmental microbiology*, 63:4185-4190.

Garner DL, Thomas CA, Gravance CG. 1999. The effect of glycerol on the viability, mitochondrial function and aerosomal integrity of bovine spermatozoa. *Reproduction in domestic animals*, 34:399-404.

Gräfe U. 1992. Biosynthesen ausgewandten Strukturklassen. Teoksessa: *Biochemie der Antibiotika: Struktur-Biosynthese-Wirkmechanismus*. pp. 219-318. Heidelberg: Spektrum Akademischer-Verlag GmbH.

Flannigan B, Miller DJ. 1994. Health implications of fungi in indoor environments – An overview. Teoksessa: Samson RA, Flannigan B, Flannigan ME, Verhoeff AP (toim.). *Health implications of fungi in indoor environments*. Amsterdam, Elsevier. s. 3-26.

Jaakkola JJK, Verkasalo P, Jaakkola N. 2000. Plastic interior materials and respiratory health in young children. *Proceedings of Healthy Buildings 2000*. Vol. 1:139-143.

Jack RW, Tagg RJ, Ray B. 1995. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiological reviews*, 59:171-200.

Mann T, Lutwak-Mann C. 1982. Male reproductive function and semen. Springer Verlag, Heidelberg.

Perkins JB, Guterman SK, Howitt CL, Williams VE, Pero J. 1990. *Streptomyces* genes involved in biosynthesis of the peptide antibiotic valinomycin. *Journal of bacteriology*, 172:3108-3116.

Paananen A, Mikkola R, Sareneva T, Matikainen S, Andersson M, Julkunen I, Salkinoja-Salonen M, Timonen T. 2000. Inhibition of human (natural killer) NK cell function by valinomycin, a toxin from *Streptomyces griseus* in indoor air. *Infection and Immunity*, 68:165-169.

Palmgrem U, Ström G, Blomquist G, Malmberg P. 1986. Collection of airborne microorganisms on nucleopore filter, estimation and analysis-CAMNEA method. *Journal of applied bacteriology*, 61:401-406.

Peltola J, Andersson MA, Mikkola R, Mussalo-Rauhamaa H, Salkinoja-Salonen M. 1999. Membrane toxic substances in water-damaged construction materials and fungal pure cultures. Teoksessa: *Bioaerosols, fungi and mycotoxins: Health effects, assessment, prevention and control*. Eastern New York Occupational and Environmental health Center, Albany, New York, s.432-443.

Peltola J, Andersson MA, Haahtela T, Mussalo-Rauhamaa H, Rainey FA, Kroppenstedt RM, Samson RA, Salkinoja-salonen M. 2001. *Applied and environmental microbiology*, 67:3269-3274.

Perkins JB, Guterman S, Howitt L, Williams V, Pero J. 1990. *Streptomyces* genes involved in biosynthesis of the peptide antibiotic valinomycin. *Journal of bacteriology*, 172:3108-3116.

Rylander R. 1998. Microbial cell wall constituents in indoor air and their relation to disease. *Indoor Air* 4 (Suppl.): 59-65.

Saraf A, Larsson L, Burge H, Milton D. 1997. Quantitation of ergosterol and 3-hydroxy fatty acids in settled house dust by gas chromatography-mass spectrometry: comparison with fungal culture and determination of endotoxin by a *Limulus* amebocyte lysate assay. *Applied and environmental microbiology*, 63:2554-2559.

Salkinoja-Salonen M, Andersson MA, Koljag U, Mikkola R, Peltola J, Vuorio R. 1999. Myrkylliset mikrobit sisätiloissa. Loppura-portti Työsuojelurahastolle tutkimushankkeesta 94281. *Mikrobiologian julkaisuja* 45, 1999. Helsingin yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos. ISBN 951-45-8031-1.

Savioli S, Arduzzoni A, Franceschi C, Cossarizza A. 1997. JC-1, but no DiOC₆ or rhodamine 123, is a reliable fluorescent probe to assess ?? in intact cells: implications for studies on mitochondrial functionality during apoptosis. *FEBS Letters*, 411:77-82.

Sikkema J, de Bont J, Poolman B. 1995. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. *Microbiol. Rev.* 59:201-222.

Sosiaali- ja terveysministeriö 1997. Sisäilmaohje. Sosiaali- ja terveysministeriön oppaita 1997:1. Helsinki 1997.