

## SISÄILMAN HIUKKASTEN TOKSISUUS – YHTEYDET MIKROBIPITOISUUKSIIN JA HAIHTUVIIN YHDISTEISIIN

Minna Kempe<sup>1</sup>, Kati Huttunen<sup>2,3</sup>, Martin Täubel<sup>3</sup> ja Ulla Haverinen-Shaughnessy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Oulun Yliopisto (OY), Oulu

<sup>2</sup>Itä-Suomen Yliopisto (UEF), Kuopio

<sup>3</sup>Terveyden ja Hyvinvoinnin Laitos (THL), Kuopio

### TIIVISTELMÄ

Toksisuustestien avulla on mahdollista tutkia yksittäisten sisäympäristön altisteiden haittavaikutuksia. Sisäympäristön toksisuusmenetelmissä tutkitaan kuitenkin usein erilaisia kokoomanäytteitä, kuten laskeutunutta pölyä. Tällaisten näytteiden tulkinta on haastavaa, koska näytteessä voi olla useita toksisen vasteen aiheuttajia. Tässä tutkimuksessa tarkasteltiin laskeutuneen pölyn toksisuuden, mikrobipitoisuuksien ja ilman haihtuvien orgaanisten yhdisteiden välisiä korrelaatioita. Näytteet oli kerätty 75 kerrostaloasunnosta lämmityskauden aikana ennen energiaparannuksia ja niiden jälkeen. Tuloksissa havaittiin kohtalaisia korrelaatioita sekä pölyn toksisuuden ja mikrobien, että toksisuuden ja haihtuvien yhdisteiden pitoisuuksien välillä. Tulos ei selitä syy-suhteita vaan voi myös johtua yhteisistä tekijöistä kuten pölyn määrästä tai olosuhteista.

### JOHDANTO

Sisäilman solutoksisuustestit mittaavat sisäympäristöstä otetun näytteen kykyä heikentää erilaisten solujen elinvoimaisuutta, liikkuvuutta tai toimintakykyä koeolosuhteissa. Toksisuus on laaja käsite, eikä yksittäisillä solutesteillä voi mitata eri mekanismeilla syntyvää toksisten haittavaikutusten kirjoa /1/. Toksisuustestien käyttö sisäilman haitallisuuden tai korjaustarpeen arviointiin ei ole nykytiedon nojalla perusteltua eikä yhdelläkään toksisuustestillä ole terveysviranomaisten hyväksyntää.

Solutoksisuustestit ovat kuitenkin kiinnostavia sisäilman epäpuhtauksien terveysvaikutusten tutkimisessa. Etenkin ihmisen keuhkosolukkoa jäljittelevät solumallit ovat oleellisia tähän tarkoitukseen, sillä hengitysteiden epiteelikerros on ensimmäisenä kosketuksissa sisään hengitettyjen hiukkasten kanssa /2/. Mikrobien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden on todettu haittaavan solujen toimintaa vaikuttamalla solun elinkykyisyyteen, sen aktiivisuuteen tai tulehdusvälittäjäainetuotantoon /2,6,9/. On viitteitä siitä, että hiukkasten toksisuus on yhteydessä sekä rakennusten mikrobivaurioihin, että sisätiloissa koettuihin oireisiin, mutta toksisuustestien kyky erottaa vauriokohteita vertailurakennuksista vaikuttaa epävarmalta /6,8,10/.

Sisäympäristöstä kerätyistä näytteistä saatujen toksisuustulosten tulkinta on kuitenkin haastavaa. Yksi syy tähän on kerättyjen näytteiden monimuotoisuus. Sisäilmanäytteiden toksisuuteen voivat vaikuttaa monet tekijät, kuten ulkoilmasta kulkeutuvat saasteet, polttoperäiset hiukkaset, kemikaalit, mikrobit ja mikrobeista peräisin olevat aineenvaihduntatuotteet. Kemiallisten ja biologisten epäpuhtauksien yhteisvaikutukset ovat todennäköisiä, mutta niiden vaikutuksia on haastavaa arvioida. Sisätiloista kerättyjen kokoomanäytteiden toksisuuden aiheuttaja jää siis usein epäselväksi /1/.

Tämän tutkimuksen tavoitteena oli tarkastella sisäilman hiukkasten solutoksisuuden, mikrobipitoisuuksien ja ilman orgaanisten yhdisteiden tulosten välisiä korrelaatioita. Vaikka korrelaatio ei itsessään todista syy-seuraussuhdetta, voi se antaa kiinnostavia viitteitä toksisuustulokseen vaikuttavista tekijöistä.

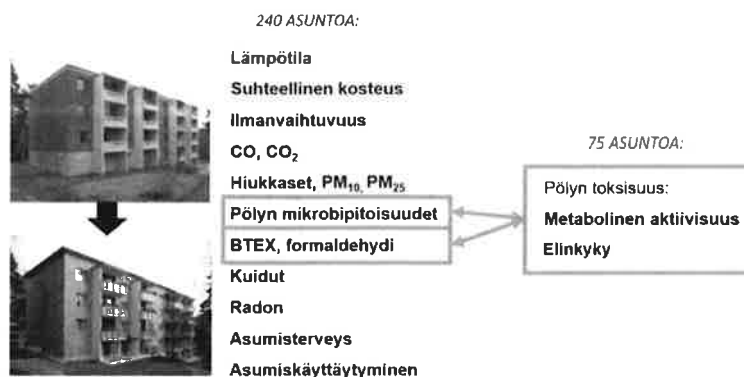
## MENETELMÄT

### Tutkimusaineisto

Tutkimuksessa hyödynnettiin INSULATE-projektin aineistoja. Vuosina 2010–2015 suomalaisissa ja liettualaisissa asunnoissa toteutetussa INSULATE-tutkimushankkeessa tutkittiin energiaparannusten vaikutuksia asuinkerrostalojen sisäilman laatuun ja asukkaiden kokemuksiin /4/. Projektissa kerättiin tietoja yhteensä 240 asunnon sisäilman laatuun vaikuttavista tekijöistä, kuten lämpötilasta, ilmanvaihto- ja ilmanpölypitoisuuksista, hiukkasista, ilman kemiallisista yhdisteistä ja radonpitoisuuksista sekä pinnoille laskeutuneen pölyn mikrobipitoisuuksista. Mittausten lisäksi asumisterveyttä ja -tyytyväisyyttä kartoitettiin kyselylomakkeilla.

Toksisuustestien avulla tutkittiin selittävätkö asunnoista kerätyn laskeutuneen pölyn toksisuuden muutokset raportoituja parannuksia sisäympäristössä. Jatkotutkimukseen valittiin 75 asuntoa, joista oli saatavilla sekä ennen, että jälkeen energiaparannusten kerätyt näytteet, sekä kysely- ja mittaustietoa sisäilman laatuun liittyen. Ihmisen keuhkoepiteeli- (A549) ja monosyytti (THP1) solujen yhteisviljelmää altistettiin laskeutuneen pölyn näytteille (laimennokset 1:2, 1:4 ja 1:8). Solujen metabolinen aktiivisuus mitattiin PrestoBlue-värjäyksen avulla ja elävien solujen osuus, eli elinkyky, analysoitiin CyQuant-värjäyksellä /3/. Solujen altistamisen jälkeen alentunut metabolinen aktiivisuus tai elinkyky viittaa näytteen toksisuuteen. Tulosten perusteella energiaparannukset eivät aiheuttaneet merkittävää muutosta pölyjen toksisuudessa. /3/

Tässä raportoitavissa jatkoanalyyseissä aineistosta tarkasteltiin pinnoille laskeutuneen pölyn mikrobipitoisuuksien ja ilman haihtuvien orgaanisten yhdisteiden välisiä korrelaatioita toksisuustestien tuloksiin. Laskeutuneen pölyn näytteiden keräysaika oli noin 2 kuukautta ja niistä analysoitiin kvantitatiivisella PCR -menetelmällä valikoituja sieni- ja bakteeriryhmiä, eli *Cladosporium herbarum*, *Penicillium spp./Aspergillus spp./Paecilomyces variotii*, grampositiiviset ja gramnegatiiviset bakteerit sekä sienten kokonaismäärä /4,5/. Sisäilmasta oli analysoitu formaldehydin ja BTEX-yhdisteiden, eli bentseenin, tolueenin, etyylibentseenin ja o- ja p-ksyleenien, pitoisuudet /4,5/.



Kuva 1. Tutkimuksessa hyödynnettiin INSULATE-projektin aineistoa.

## TULOKSET

### Toksisuus ja mikrobipitoisuudet

Asunnoista kerättyjen laskeutuneen pölyn näytteiden toksisuusvasteiden ja mikrobipitoisuuksien välillä havaittiin kohtalaisia negatiivisia korrelaatioita (taulukko 1). Korrelaatiot ilmenivät näytteiden annoksilla 1:2 ja 1:8, mutta eivät lainkaan annoksella 1:4. Korkein korrelaatiokerroin todettiin suurimmalla (1:2) annoksella metabolisen aktiivisuuden ja *Cladosporium herbarum* mikrobiryhmän välillä. Mikrobiryhmien väliset korrelaatiot olivat vahvoja (0,55-0,82,  $p < 0,01$ ).

Taulukko 1. Pearsonin korrelaatiokertoimet toksikologisten vasteiden ja mikrobipitoisuuksien välillä pölynäytteiden eri annoksilla (1:2, 1:4 ja 1:8). Väripohjalliset arvot edustavat merkittäviä korrelaatiota ( $>0,30$ ,  $p < 0,01$ ),  $n=150$ .

#### MIKROBIT

TOKSISUUS	annos	Tot F	gram+	gram-	PenAsp	Cherb
Metabolinen aktiivisuus	1:2	<b>-,41</b>	-,26	<b>-,32</b>	<b>-,38</b>	<b>-,51</b>
	1:4	,09	,08	,07	,01	,09
	1:8	<b>-,36</b>	-,23	-,28	<b>-,43</b>	-,26
Elinkyky	1:2	<b>-,35</b>	<b>-,31</b>	<b>-,33</b>	-,25	<b>-,37</b>
	1:4	,14	-,05	,03	,12	,21
	1:8	-,26	<b>-,34</b>	-,24	-,20	-,06

Tot F: sienten kokonaismäärä, gram+: grampositiiviset bakteerit, gram-: grampositiiviset bakteerit, PenAsp: *Penicillium spp./Aspergillus spp./Paecilomyces variotii*, Cherb: *Cladosporium herbarum*

Tasaiset korrelaatiot eri mikrobiryhmien ja toksisuuden välillä viittaavat siihen, että korrelaatiot voivat johtua jostain tekijästä tai olosuhteesta, joka on vaikuttanut molempiin tuloksiin samansuuntaisesti. Esimerkiksi vuodenaika voi vaikuttaa sekä mikrobien määrään, että sisäilman hiukkasten toksisuuteen, joten myös mikrobiryhmien pitoisuuksien ja olosuhteiden väliset korrelaatiot tarkistettiin. Näytteet oli kerätty syyskuun ja toukokuun välisenä aikana, jolloin ulkoilman lämpötilojen keskiarvot vaihtelivat -6 ja +12 °C välillä. Sisäilman suhteellisen kosteuden havaittiin korreloivan sekä mikrobiryhmien (0,41–0,60,  $p < 0,01$ ), että haihtuvien orgaanisten yhdisteiden (0,35-0,48,  $p < 0,01$ ) kanssa.

### Toksisuus ja haihtuvat yhdisteet

Solujen metabolisen aktiivisuuden ja ilmasta mitattujen toluenin ja ksyleenien pitoisuuksien välillä havaittiin kohtalaisia negatiivisia korrelaatioita (taulukko 2). Myös 1:8 annoksella havaittiin tilastollisesti merkitseviä, mutta vähäisiä, negatiivisia korrelaatioita, kun taas annoksen 1:4 tuloksissa ei ollut lainkaan viitteitä korrelaatiosta.

Tuloksissa yllättävää oli myös solujen elinkyvyn ja bentseenin, toluenin ja formaldehydin pitoisuuksien väliset positiiviset korrelaatiot, jotka havaittiin ainoastaan pölynäytteen 1:4 annoksella saaduista tuloksista.

Taulukko 2. Pearsonin korrelaatiokertoimet toksikologisten vasteiden ja haihtuvien yhdisteiden välillä pölynäytteiden eri annoksilla. Väripohjalliset arvot edustavat merkittäviä korrelaatiota ( $>0,30$ ,  $p<0,01$ ),  $n=150$ .

#### HAIHTUVAT ORGAANISET YHDISTEET

TOKSISUUS	annos	BTEX	Ben	Tolu	Eben	Xyl	Form
Metabolinen aktiivisuus	1:2	<b>-,32</b>	-,21	<b>-,35</b>	-,14	<b>-,34</b>	-,26
	1:4	,01	-,05	,05	-,03	,04	,17
	1:8	-,24	-,25	-,24	-,19	-,24	-,12
Elinkyky	1:2	-,19	-,13	-,20	-,06	-,17	-,09
	1:4	<b>,35</b>	<b>,31</b>	<b>,36</b>	,16	,124	<b>,42</b>
	1:8	,15	,12	,14	-,01	,027	,15

BTEX: bentseenin (Ben), toluenin (Tolu), etyylibentseenin (Eben), p- ja o-ksyleenin (Xyl) kokonaissumma, Form: formaldehydi

#### POHDINTA

Havaittuihin korrelaatioihin on voinut vaikuttaa näytteenottoon liittyvät tekijät, kuten hiukkasten määrä tai näytteenotto-olosuhteet. Pölynäytteet edustavat kahden kuukauden aikana kerääntynyttä hiukkasmäärää, joten asunnoissa, joiden ilmassa oli enemmän hiukkasia, on todennäköisesti kertynyt enemmän näytettä. Sisäilman suhteellisen kosteuden havaittiin korreloivan positiivisesti sekä mikrobipitoisuuksien että haihtuvien yhdisteiden kanssa, jotka puolestaan korreloivat negatiivisesti toksisuustulosten kanssa (toksisuustulos viittaa alempaan metaboliseen aktiivisuuteen tai elinkykyyn). Olosuhteiden vaikutuksia havaittuihin korrelaatioihin tullaan tarkastelemaan jatkoanalyseissa.

Näytteenotto-olosuhteiden merkitystä sisäilmanäytteiden toksisuuteen tulisi ymmärtää paremmin. Keväällä otetuilla näytteillä on osoitettu olevan voimakkain kyky aiheuttaa toksikologisia vasteita /7/. Lämpimämpi ulkoilma lisää ulkoilman mikrobipitoisuuksia, ja saattaa lisätä myös tuuletuksen määrää, joka voi vaikuttaa sisäilman mikrobipitoisuuksiin. Erityisesti sisätilojen sienten tasojen tiedetään vaihtelevan ulkoilman tasojen mukaisesti. Lisääntynyt tuuletus voi myös tuoda sisäilmaan ulkoilmasta peräisin olevia toksisuuteen vaikuttavia epäpuhtauksia, esimerkiksi polttoperäisiä hiukkasia tai yhdisteitä.

Yhteys laskeutuneen pölyn ja haihtuvien yhdisteiden välillä on vaikeammin tulkittava, koska tässä tutkimuksessa käytetty toksisuusmenetelmä ei sovellu haihtuvien yhdisteiden solutoksisuuden tarkasteluun. Vaikka näytteen laskeutuneissa hiukkasissa olisi kiinni haihtuvia yhdisteitä, ei voida tietää, missä määrin ne vaikuttavat soluihin testiolosuhteissa /11/. Kiinnostavaa oli kuitenkin positiivinen korrelaatio annoksella 1:4 saatujen tulosten kanssa. Nämä, myös mikrobien korrelaatioissa havaitut annokseen liittyvät epä johdonmukaisuudet, voivat osittain johtua epälineaarista annos-vaste-suhteesta, joka toksikologiassa on tavallista.

Tutkimuksessa tullaan jatkossa tarkastelemaan pölynäytteiden vaikutusta solujen tulehdusvälittäjäainetuotantoon, sekä toksisuustuloksia suhteessa asukkaiden raportoimaan asumisterveyteen, käyttäytymiseen tai asuntojen ominaisuuksiin ja käyttöön.

## JOHTOPÄÄTÖKSET

Tuloksissa havaitut korrelaatiot sisäilman hiukkasten solutoksisuuden, mikrobipitoisuuksien ja ilman orgaanisten yhdisteiden tulosten välillä ovat kohtalaisia, eikä niiden avulla voida vetää johtopäätöksiä toksisuuden syistä. Sisäilman terveellisuuden arvioinnin kannalta merkityksellisen toksisuustestin kehittäminen vaatii lisää tietoja niistä tekijöistä, jotka voivat vaikuttaa testien tuloksiin.

Kiitokset Juho Vainion säätiölle, joka mahdollisti laskeutuneen pölyn näytteiden toksisuuden määrittämisen.

## LÄHDELUETTELO

1. Mahiout S., Korkalainen M., Wallenius K., Viluksela M., Santonen T., Huttunen K. (2019) Miksi sisäilman haitallisuutta ei voi arvioida toksisuustesteillä? *Duodecim* 2019; 135(8):735-43.
2. Huttunen, K. ja Korkalainen, M. (2017) Microbial Secondary Metabolites and Knowledge on Inhalation Effects. *Exposure to Microbiological Agents in Indoor and Occupational Environments*, 2017, s. 215-216.
3. Huttunen, K., Täubel, M., Nordberg, M-E. ja Haverinen-Shaughnessy, U. (2021) Energiaparannusten vaikutukset asumisterveyteen: sisäilman hiukkasten toksisuus. *Sisäilmastoseminaari 2021, SIY raportti 39*. s. 405-410.
4. Du L., Leivo V., Martuzevicius D., Prasauskas T., Turunen M., Haverinen-Shaughnessy U. (2016) Improving energy efficiency of multifamily buildings, indoor environmental quality and occupant health -INSULAtE-project results. National Institute for Health and Welfare. Report 17/2016. 228 pages. Helsinki, Finland. ISBN 978-952-302-772-5.
5. Du L., Leivo V., Prasauskas T., Täubel M., Martuzevicius D., Haverinen-Shaughnessy U. (2019) Effects of energy retrofits on Indoor Air Quality in multifamily buildings. *Indoor Air*, 29(4): 686-697, 2019. <https://doi.org/10.1111/ina.12555>
6. Huttunen K., Tirkkonen J., Täubel M., Krop E., Mikkonen S., Pekkanen J., Heederik D., Zock J-P., Hyvärinen A., Hirvonen M-R. (2016) 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* 26: 380-390.
7. Jalava PI., Happonen MS., Huttunen K., Sillanpää M., Hillamo R., Salonen RO., Hirvonen MR. (2015) Chemical and microbial components of urban air PM cause seasonal variation of toxicological activity. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015 Sep;40(2):375-87. doi: 10.1016/j.etap.2015.06.023. Epub 2015 Jul 3. PMID: 26245811.
8. Salin, J., Ohtonen, P., Andersson, M. A., & Syrjälä, H. (2021) The toxicity of wiped dust and airborne microbes in individual classrooms increase the risk of teachers' work-related symptoms: A cross-sectional study. *Pathogens*, 10(11), [1360]. <https://doi.org/10.3390/pathogens10111360>

9. Huttunen, K., Pelkonen, J., Nielsen, K.F., Nuutinen, U., Jussila, J., Hirvonen, M.R. (2004) Synergistic interaction in simultaneous exposure to *Streptomyces californicus* and *Stachybotrys chartarum*. *Environ. Health Perspect.* 112 (6), 659–665. <https://doi.org/10.1289/ehp.6701>. PMID: 15121507.
10. Tirkkonen J, Täubel M, Leppänen H, Peltonen M, Lindsley W, Chen BT, Hyvärinen A, Hirvonen M-R, Huttunen K. Toxicity of airborne dust as an indicator of moisture problems in school buildings. *Inhal Toxicol.* 2017 Feb;29(2):75-81. doi: 10.1080/08958378.2017.1296511
11. Grażyna Gałęzowska, Milena Chraniuk, Lidia Wolska (2016) In vitro assays as a tool for determination of VOCs toxic effect on respiratory system: A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 77:14-22, 2016, ISSN 0165-9936, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.10.012>.

# SISÄILMASTOSEMINAARI 2022

Messukeskus  
15.3.2022



Sisäilmayhdistys ry

SIY Raportti 40

# **SISÄILMASTOSEMINAARI 2022**

15.3.2022

Toimittajat:

Mervi Ahola  
Anna Merikari



Sisäilmayhdistys ry

Puheenjohtaja prof. Risto Kosonen  
Toiminnanjohtaja DI Mervi Ahola

Sisäilmastoseminaarin ohjausryhmä 2022:

Mervi Ahola

Kati Huttunen

Anne Hyvärinen

Paavo Kero

Hanna Keränen

Anne Korpi

Hannu Koskela

Risto Kosonen

Katri Leino

Tero Marttila

Sami Niemi

Pertti Pasanen

Juha Pekkanen

Anna-Mari Pessi

Anna Saarinen

Heidi Salonen

Piia Sormunen

Jorma Säteri

Marianna Tuomainen

Katja Tähtinen

Tuula Vasankari

Kirsi Villberg

Aki Vuokko

Mika Vuolle

Leif Wirtanen

Sisäilmayhdistys raportti 40

SISÄILMASTOSEMINAARI 2022

Mervi Ahola ja Anna Merikari (toim.)

Kannen kuva: Ympäristöministeriö, tekijä 3Dolli Oy  
artikkelista *Ympäristöministeriön hanke koulurakennusten korjausten visualisoinnista*

Artikkeleiden sisällöstä vastaavat kirjoittajat, eikä niitä ole vertaisarvioitu.

SIY Sisäilmatieto Oy

ISSN 1237-1866

ISBN 978-952-5236-53-8

Painopaikka Grano Oy, Vaasa