



LAHDEN AMMATTIKORKEAKOULU
Lahti University of Applied Sciences

**SELVITYS
KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN JA
NIIDEN
AINEENVAIHDUNTATUOTTEIDEN
NÄYTTEENOTTO- JA
ANALYSOINTIMENETELMISTÄ**

LAHDEN
AMMATTIKORKEAKOULU
Tekniikan ala
Ympäristötekniikan koulutusohjelma
Ympäristöbiotekniikka
Opinnäytetyö
Kevät 2013
Adelheid Perchtold

Lahden ammattikorkeakoulu
Ympäristötekniikan koulutusohjelma

PERCHTOLD, ADELHEID: Selvitys kosteusvauriomikrobien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden näytteenotto- ja analysointimenetelmistä

Ympäristöbiotekniikan opinnäytetyö, 96 sivua

Kevät 2013

TIIVISTELMÄ

Sisätiloissa esiintyvät kosteusvauriomicrobit ja niiden sisäilmaan tuottamat myrkylliset aineenvaihduntatuotteet ovat muodostumassa merkittäväksi kansanterveydelliseksi ja -taloudelliseksi ongelmaksi. Alaan liittyvää tutkimustietoa on jo kohtuullisesti saatavilla, mutta tieto on hajanaista eikä tunnu saavuttaneen käytännön tason toimijoita riittävän tehokkaasti.

Tämän työn tarkoitus oli koota, järjestää ja analysoida hajanaista tietoa kosteusvauriomikrobien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden näytteenotto- ja analysointimenetelmistä pyrkien samalla osoittamaan tärkeimmät kehitystyötä vaativat alueet kosteusvauriomicrobitutkimuksessa.

Tutkimusmenetelmä oli alaan liittyvän kirjallisuuden ja tieteellisten artikkelien analysointi. Analyysin perustaksi hankittiin tarvittavaa peruskirjallisuutta. Osittain tukeuduttiin myös eri kirjastoista löytyneisiin kirjallisuuslähteisiin, ja eräitä työn kannalta keskeisiä kirjoja antoi käyttöön Ramboll Finland Oy. Lisäksi työssä käytettiin verkkotietokannoista saatuja tieteellisiä artikkeleita. Tutkimustyö oli lähinnä lukemisen avulla hankitun tiedon vertailua ja yhdistelyä. Asiaan liittyvää ajankohtaista yhteiskunnallista keskustelua seurattiin aktiivisesti.

Työn tuloksena tässä opinnäytetyössä esitellään keskeisimmät käytössä olevat aiheeseen liittyvät näytteenotto- ja analysointimenetelmät sekä osoitetaan asiaan liittyviin käytäntöihin liittyviä ongelmia.

Alaan liittyvän teknologian kehittäminen on keskeistä. On tärkeää onnistua kehittämään kompakteja ja kohtuuhintaisia sisäilmaa jatkuvasti monitoroivia laitteita sekä kenttäolosuhteissa toimivia sisäilman laadun tutkimusmenetelmiä. Olemassa olevaa tietoa tulisi kyetä hyödyntämään siten, että saataisiin luotua vakiintuneet ja ihmisten terveyden turvaavat raja-arvot sisäilman mikrobitoksiinien pitoisuuksille.

Jotta kosteusvaurioihin liittyvä epätietoisuus ja käytäntöjen vaihtelevuus pystytään poistamaan, tarvitaan lisää tutkimusta ja toimivia yhteiskunnallisia käytäntöjä saavutettujen tutkimustulosten hyödyntämiseksi käytännön neuvonta-, korjaus- ja hoitotyössä.

Asiasanat: sisäilma, sisäilmatutkimus, kosteusvaurio, kosteusvauriomicrobit, homesienet, mykotoksiinit, MVOC-yhdisteet

Lahti University of Applied Sciences
Degree Programme in Environmental Technology

PERCHTOLD, ADELHEID: Methods for sampling and analysis of
 dampness-related microbes and their
 metabolites in water-damaged buildings

Bachelor's Thesis in Environmental Biotechnology, 96 pages

Spring 2013

ABSTRACT

Dampness-related microbes and their toxic metabolites released into indoor air are becoming a major public health problem with substantial economic impact. A reasonable amount of research information in this field is already available, but information is scattered throughout literature and does not seem to effectively reach actors at a practical level.

The purpose of this thesis was to collect, organize and analyze this scattered information on sampling and analytical methods for dampness-related microbes and their metabolites in buildings with moisture problems and/or water-damage, whilst striving to highlight the most important areas for development in this field of research.

The research method was analysis of literature and scientific articles dealing with the subject of the thesis. The required literature was acquired as needed. Additionally, literature was obtained from various libraries and some of the key books were gotten from Ramboll Finland Oy. Furthermore, scientific articles from online databases were used. The research consisted mainly of combining and comparing information acquired through reading. The current public discussion on the subject was also actively followed.

As a result, this thesis presents the main methods for sampling and analysis of dampness-related microbes and their metabolites. Relevant practice-related problems in the field are also described.

Development of technology is essential in this field of research. It is important to succeed in developing compact and affordable devices and equipment for continuous monitoring of indoor air quality, as well as indoor air quality research methods that work under field conditions. Existing information should be utilized efficiently in order to establish limits for the concentration of microbial toxins in indoor air, to safeguard human health.

In order for uncertainty and inconsistencies in practices regarding moisture and water damages in buildings to be removed, not only more research is needed but also effective common practices to utilize research results in consultation, repair work and nursing.

Key words: indoor air, indoor air quality research, dampness-related microbes, mold, mycotoxins, MVOC

ALKUSANAT

Haluan kiittää Lahden ammattikorkeakoulun Tekniikan laitoksen koulutuspäällikköä Silja Kostiaa taitavasta ja kärsivällisestä ohjaamisesta opinnäytetyöprosessin aikana.

Kiitokset kuuluvat myös Ramboll Finland Oy:n tutkuspäällikölle Eerik Järviselle työn ohjauksesta ja arvokkaista neuvoista.

Haluan osoittaa kiitokseni myös Suomen kulttuurirahaston Päijät-Hämeen Maakuntarahastolle sen tätä työtä varten myöntämästä apurahasta.

Eriyisesti kiitän avopuolisoani Ilkka Räisästä tuesta ja kannustuksesta opinnäytetyöprosessin aikana.

Lahdessa 2.5.2013

SISÄLLYS

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | JOHDANTO | 1 |
| 2 | KOSTEUSVAURIOIDEN GLOBAALI ESIINTYVYYS | 3 |
| 3 | KOSTEUSVAURIOMIKROBIT SISÄTILOISSA | 5 |
| 4 | KESKEISIMMÄT KOSTEUSVAURIOMIKROBIT | 7 |
| 4.1 | Sienet | 9 |
| 4.1.1 | Homesienet | 10 |
| 4.1.1.1 | <i>Aspergillus</i> -suvun homesienet | 11 |
| 4.1.1.2 | <i>Chaetomium</i> -suvun homesienet | 13 |
| 4.1.1.3 | <i>Fusarium</i> -suvun homesienet | 15 |
| 4.1.1.4 | <i>Penicillium</i> -suvun homesienet | 16 |
| 4.1.1.5 | <i>Stachybotrys</i> -suvun homesienet | 18 |
| 4.1.2 | Hiivasienet | 19 |
| 4.2 | Kosteusvauriobakteerit | 20 |
| 5 | KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN AINEENVAIHDUNTATUOTTEET | 23 |
| 5.1 | Mykotoksiinit | 24 |
| 5.1.1 | <i>Aspergillus</i> -toksiinit | 26 |
| 5.1.2 | <i>Chaetomium</i> -toksiinit | 28 |
| 5.1.3 | <i>Fusarium</i> -toksiinit | 29 |
| 5.1.4 | <i>Penicillium</i> -toksiinit | 31 |
| 5.1.5 | <i>Stachybotrys</i> -toksiinit | 33 |
| 5.2 | Bakteeritoksiinit | 34 |
| 5.3 | MVOC-yhdisteet | 37 |
| 6 | KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN JA NIIDEN AINEENVAIHDUNTA- TUOTTEIDEN NÄYTTEENOTTOMENETELMÄT | 41 |
| 6.1 | Pintanäytteet | 43 |
| 6.2 | Materiaalinäytteet | 45 |
| 6.3 | Ilmanäytteet | 46 |
| 6.3.1 | Andersen-menetelmä | 48 |
| 6.3.2 | CAMNEA-menetelmä | 49 |
| 6.3.3 | Burkard-keräin | 50 |
| 6.3.4 | RCS-keräin | 50 |
| 6.3.5 | VOC-näytteenotto | 51 |

| | | |
|---------|---|----|
| 7 | KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN ANALYSOINTIMENETELMÄT | 53 |
| 7.1 | Kasvatusmenetelmät | 53 |
| 7.1.1 | Suoraviljely | 56 |
| 7.1.2 | Laimennossarjamenetelmä | 57 |
| 7.2 | Suoramikroskopointi | 58 |
| 7.3 | DNA-pohjaiset menetelmät | 59 |
| 7.3.1 | Kvantitatiivinen PCR-menetelmä | 59 |
| 7.3.2 | DNA-sirumenetelmät | 61 |
| 7.4 | Kaupalliset testit | 62 |
| 7.4.1 | MycoMeter-testi | 62 |
| 7.4.2 | Homevaroitin | 63 |
| 8 | KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN AINEENVAIHDUNTA-TUOTTEIDEN ANALYSOINTIMENETELMÄT | 65 |
| 8.1 | Kromatografiset menetelmät | 66 |
| 8.1.1 | Kromatografiset menetelmät mykotoksiinianalytiikassa | 66 |
| 8.1.1.1 | Ohutkerroskromatografia (TLC) | 67 |
| 8.1.1.2 | Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC) | 68 |
| 8.1.1.3 | Kaasukromatografia (GC) | 70 |
| 8.1.2 | Kromatografiset menetelmät VOC-yhdisteiden analytiikassa | 72 |
| 8.2 | Toksikologiset menetelmät | 72 |
| 8.3 | Entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys (ELISA) | 74 |
| 9 | KANSALLISEN TASON PROJEKTEJA | 75 |
| 10 | YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET | 77 |
| | LÄHTEET | 80 |

1 JOHDANTO

Sisätiloissa esiintyvät kosteusvauriomikrobit ja niiden elinympäristönsä tuottamat myrkylliset aineenvaihduntatuotteet ovat muodostumassa merkittäväksi kansanterveydelliseksi ja -taloudelliseksi ongelmaksi. Tutkimustietoa alaan liittyvästä problematiikasta on jo kohtuullisesti saatavilla, mutta tieto on hajanaista eikä tunnu saavuttaneen käytännön tason toimijoita riittävän tehokkaasti. Tieteellisiin tutkimuksiin perustuva tieto kosteusvaurioiden yhteydessä terveysongelmia aiheuttavista tekijöistä on edelleen puutteellista, mutta kosteusvaurioituneisiin rakennuksiin on kiistatta osoitettu liittyvän terveysongelmien tavallista korkeampaa esiintyvyyttä. Korjaus- ja korvausvaatimusten edessä yhteiskunnallisten avaintoimijoiden asenteet ovat usein vastahakoisia tai vähätteleviä tiedon puutteen tai vaadittujen korjaustoimenpiteiden laajuuden ja kalleuden vuoksi. Huomattavasti halvempaa olisi kuitenkin puuttua ongelmien syihin ajoissa uutta rakentamalla ja vanhaa kunnolla korjaamalla, kuin maksaa kansanterveydellinen lasku, joka seuraa homeisissa päiväkodeissa ja kouluissa terveytensä jo nuorena menettäneiden sukupolvien ajautuessa terveydenhuollon tukiverkkojen varaan.

Olemassa oleva tutkimustieto ei ole vielä poikanut luotettavia, riittävän halpoja sekä nopeita ja yksiselitteisiä tuloksia tuottavia testimenetelmiä kosteusvaurioiden laadun määrittämiseen kenttäolosuhteissa. Rakennusten korjaajat, omistajat, isännöijät, vuokraajat sekä kosteusvauriomikrobien aineenvaihduntatuotteista sairastuneita ihmisiä hoitava lääkärikunta ovat tällä hetkellä sisäistäneet heikosti tarjolla olevaa uusinta tutkimustietoa. Heikkoon kuntoon ajautuvien ja puutteellisesti korjattavien rakennusten lisäksi kärsivät usein ilman omaa syytään sairastuneet ja omaisuuttaan menettäneet ihmiset. On selkeä tarve kansalliselle tiedon yhtenäistämisen- ja kokoamisprojektille ja avainammateissa toimivien ihmisten koulutukselle sekä lainsäädännön ajanmukaistamiselle liittyen kosteusvaurioituneissa tiloissa elämisestä seuranneiden tyypillisten sairauksien luokitukseen ja vaurioituneita asuintiloja vuokraavien vuokrayhtiöiden vastuisiin.

Toimivia ratkaisuvaihtoehtoja esittämään kykeneville tahoille on tarjolla tuottoisaa liiketoimintaa, minkä uskoisi olevan markkinatalousyhteiskunnassa realistinen primus motor kehitystyön vaatimille taloudellisille ja ajallisille

investoinneille.

Tämän työn tarkoitus oli koota, järjestää ja analysoida hajanaista tietoa kosteusvauriomikrobien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden näytteenotto- ja analysointimenetelmistä pyrkien samalla osoittamaan tärkeimmät kehitystyötä vaativat alueet kosteusvauriomikrobitutkimuksessa.

Pääasiallinen tutkimusmenetelmäni oli alaan liittyvän kirjallisuuden ja tieteellisten artikkelien analysointi. Tarvittavan kirjallisuuden olen osittain hankkinut Suomen Kulttuurirahaston Päijät-Hämeen Maakuntarahaston tätä työtä varten myöntämän apurahan turvin. Osittain olen myös tukeutunut eri kirjastoista löytyneisiin kirjallisuuslähteisiin, ja eräitä työn kannalta keskeisiä kirjoja sain käyttööni Ramboll Finland Oy:stä. Lisäksi olen käyttänyt verkkotietokannoista löytämiäni tieteellisiä artikkeleita. Tutkimustyö on ollut lähinnä lukemisen avulla hankitun tiedon vertailua ja yhdistelyä. Lisäksi olen seurannut erittäin aktiivisesti asiaan liittyvää ajankohtaista yhteiskunnallista keskustelua.

2 KOSTEUSVAURIOIDEN GLOBAALI ESIINTYVYYS

Kosteutta pidetään rakennusten vaurioitumisen tärkeimpänä syynä. Ongelma on globaali, vaikkakin kosteusvaurioiden yleisyys vaihtelee paljon mannerten ja ilmastovyöhykkeiden välillä. Myös maakohtaiset erot ovat huomattavia vallitsevien rakennustapojen, ilmaston ja rakennuskannan käyttö- sekä huoltokulttuurin vuoksi. Lisäksi alueellinen rakennuspaikan yleiseen maaston ja ilmaston kosteuteen liittyvä positiivinen korrelaatio kosteusvaurioiden esiintymiseen on huomattava.

Yhteenvedo useita Euroopan maita, Kanadaa ja Yhdysvaltoja koskevista tutkimuksista vuonna 2004 osoitti, että vähintään 20 % rakennuksista kärsi kosteusongelmista (Institute of Medicine 2004, WHO:n 2009, 7 mukaan). Kosteusvaurioiden yleisyyden arviointi globaalisti on haastavaa, sillä riippuen käytetystä lähteestä ja tarkastelun kohteena olevista rakennustyypeistä arviot kosteusvaurioiden yleisyydestä vaihtelevat jopa 10 ja 78 %:n välillä (WHO 2009, 7–8). Esimerkiksi Euroopan asuntokannasta arvioidaan noin 25 % kärsivän eriasteisista home- ja kosteusvaurioista (Adan & Samson 2011, 15), kun vastaavasti useista yhdysvaltalaisista tutkimuksista kootun aineiston mukaan jopa 50 % yhdysvaltalaisista rakennuksista kärsii kosteus- tai homevauriosta (Mudarri & Fisk 2007, WHO:n 2009, 7 mukaan). Pohjoismaissa tilanne on yhtä hälyttävä. Ruotsissa, Norjassa, Tanskassa, Virossa ja Islannissa tehdyn 16 190 ihmisen haastatteluun perustuvan tutkimuksen tulos osoitti 18 % asuntokannasta kärsivän kosteusvaurioista (WHO 2009, 7). Tutkimuksessa asukkaat raportoivat havaituista kosteusvaurioista itse tehtyjen selvien aistihavaintojen perusteella (vesivuodot, kuplat tai värjäytymät kattopinnoitteissa, näkyvä homekasvusto sisätiloissa tai ulkoseinissä). Koska osa kosteusvaurioista ei ole paljain silmin pintarakenteita arvioimalla todettavissa, voidaan päätellä todellisen kosteusvaurioituneen asuntokannan olevan tutkimuksen tuloksena mainittua suurempi.

Kokonaiskuvan muodostamista hankaloittaa se, että ei ole olemassa standardoitua maailmanlaajuista käytäntöä kosteusvaurioiden yleisyyden mittaamiseen. Asiaan liittyvään materiaaliin tutustuessa tulee kuitenkin selväksi, että ongelma on maailmanlaajuinen ja yleinen.

Esimerkkinä erityiselle kosteudelle alttiilla elinalueella dokumentoidusta kosteusvaurio-ongelmasta mainittakoon hurrikaaneille altis pitkistä tulvakaudesta kärsinyt New Orleansin alue USA:ssa, jossa 46 % asuintaloista havaittiin tulvakausien jälkeen näkyvää hometta (Hampton 2006, Genuiksen 2007, 517 mukaan).

Optimistisia tulevaisuuden näkymiä turvallisen asumisen mahdollistamiseksi kyseisenkaltaisilla rakennusteknistä erityishuomiota vaativilla alueilla luo esimerkiksi uudelleenrakennusprojekti, jossa Make it Right -järjestön tukemana alueelle parhailaan rakennetaan huippuekologisia ja energiataloudellisia asuinrakennuksia. Aluekohtainen ratkaisu on ollut rakentaa asuintalot mahdolliset uudet tulvamassat huomioon ottaen korkeiden pilarien päälle (Laylin 2012).

3 KOSTEUSVAURIOMIKROBIT SISÄTILOISSA

Ihmiset tarvitsevat suojakseen asunnon. Modernille ihmiselle ei tarkoitukseen kelpaa luola tai tarkoitusta varten kaivettu kuoppa, vaan ihminen rakentaa suojansa perinteisiä ja moderneja rakennusmateriaaleja yhdistellen ja nimittää tulosta ”rakennukseksi”. Rakennukset ovat näin ollen ihmisen tekemiä keinotekoisia rakennelmia, jotka tarjoavat turkkia vailla kulkevalle ihmiseläimelle hänen tarvitsemansa välttämättömän suojan.

Modernit rakennukset rakennetaan monimutkaisten teolliskemikaalisten prosessien tuloksena synnytyistä materiaaleista. Materiaalit sisältävät usein aineita, jotka vasta jälkikäteen ihmisten sairastuttua ja tutkimuksen edistyessä todetaan myrkyllisiksi sellaisenaan tai yhteisvaikutuksessa muiden rakennusaineiden kanssa. (Abdul-Wahab 2011, 113.) Esimerkkeinä voisi mainita vaikkapa Suomessa vielä 90-luvulla rakennusmateriaaleissa muun muassa palon- ja kemiallisen kulumisen kestoja parantamaan käytetyn asbestin tai aivan viime aikoina keskusteluun nousseen muovimattojen pehenninaineena käytetyn 2-etyyli-1-heksanolin (Laitinen 2012, 26).

Rakennuksissa viihtyvät ihmisen lisäksi myös lukemattomat vain mikroskoopilla havaittavat eliölajit. Niin kauan kun rakennus säilyy kuivana ja se siivotaan riittävän usein, ei mikrobieliöstön ja ihmisen rinnakkaiselo useimmiten aiheuta ihmiselle terveyshaittoja. Kun rakenteisiin joutuu vesivahingon, virheellisen rakentamisen, puutteellisen korjaamisen tai rakenteiden vaurioitumisen myötä kosteutta, joka ei pääse rakennusteknisten suunnitelmien mukaisesti niistä poistumaan, on kuitenkin usein tiedossa ongelmia. Kosteudelle altistuneelle, eli kosteusvaurioituneelle alueelle syntyy nopeaan tahtiin vilkasta eri lajeista koostuvaa mikrobitoimintaa.

Vaurioituneen alueen mikrobitoimintaa ajallisesti tarkastelemalla, voidaan erottaa eri vaiheessa tyypillisesti esiintyviä lajeja. Puhutaankin primääri-, sekundääri- ja tertiäärivaiheen mikrobeista (Putus 2010, 7–8). Tässä yhteydessä viitataan sukkessioon, jolla tarkoitetaan mikrobiston muuttumista vallitsevien ympäristöolosuhteiden mukaan. Tarkasteltavan alueen meneillään olevasta sukkessiovaiheesta riippuu, mitä lajeja ja kuinka laajoina esiintyminä siltä

kulloisenakin hetkenä havaitaan. Vaurion syntyvällä on suuri merkitys vaurioalueelle syntyvään mikrobilajistoon. On merkittävää, onko kysymys lisääntyvään vai vähenevään kosteuteen perustuvasta suknessiotyypistä eli kostuvatko rakenteet vähitellen vai kerralla esimerkiksi laitevuodon yhteydessä. Kosteusvaurioituneen rakennuksen suknessioprosessi tunnetaan edelleen melko huonosti. Sen ymmärtäminen olisi kuitenkin tärkeää, jotta opittaisiin paremmin hahmottamaan kosteusvaurioiden ajallista kehittymistä. (Leivo 1998, 49–50.)

Kun rakennuksen pinnoille muodostuu vähitellen pahenevan kosteusvaurion tai rakenteisiin syntyneiden lämpötilaerojen vaikutuksesta kosteutta, alkavat paikalla kasvaa primäärivaiheen homesienet. Ne saavat alkunsa yleisistä ulkoa sisätiloihin kulkeutuneista ja myös monien rakennusmateriaalien sisältämistä homeitiöistä. Nämä primäärivaiheen mikrobit käyttävät tyypillisesti ravinnokseen lyhytketjuisia hiilihydraatteja. Jos kosteus vaikuttaa alueella pidempään, suknessio etenee ja paikalle ilmaantuvat vähitellen pitkäketjuisia hiilihydraatteja ravinnokseen käyttävät sekundäärivaiheen mikrobit. Kun rakenteet ovat riittävän pitkään kosteita, valtaavat elintilan tertiäärivaiheen mikrobit, jotka kykenevät hajottamaan ravinnokseen puun ligniiniä ja paperin selluloosaa. (Husman, Roto & Seuri ym. 2002, 16–17.)

4 KESKEISIMMÄT KOSTEUSVAURIOMIKROBIT

Kosteusvauriomikrobi ei ole tarkkaan määritelty tieteellinen käsite. Yleensä käsitteellä kosteusvauriomikrobi viitataan home-, hiiva- tai bakteerikasvustoihin, joita tyypillisesti tavataan kosteudelle altistuneissa rakennuksissa ja rakenteissa. (Kosteusvauriomikrobi 2010.) Pyrittäessä todentamaan epäilty kosteusvaurio etsitään kosteusvaurioindikaattoreita. Ne ovat mikrobeja, jotka normaalisti eivät esiinny kuivana säilyneessä, terveessä ja vaurioitumattomassa rakennuksessa. Kyseisten kosteusvaurioindikaattorimikrobien esiintyminen rakennuksessa indikoi rakenteiden epänormaalista kostumisesta, jolloin on aihetta epäillä rakenteissa olevan tai aikaisemmin olleen kosteusvaurion. Myös tavanomaiset mikrobit voidaan tulkita indikaattorimikrobeiksi, jos niitä esiintyy kosteusvaurioituneiksi epäillyistä rakenteista otetuissa näytteissä poikkeuksellisen suurina pitoisuuksina. (Sisäilmayhdistys 2008a.)

Kosteusvaurioindikaattorimikrobien idea esiteltiin ensimmäisen kerran 1990-luvulla Hollannin Baarnissa pidetyssä kansainvälisessä asiantuntijakokouksessa (Putus 2011). Kokouksessa laaditun listan ja tutkimus- sekä näytteidenanalysointityötä tekevien laboratorioden kokemuksiin perustuen on Suomessa laadittu useita eri indikaattorimikrobilistoja (Sisäilmayhdistys 2008a). Ohessa on muutama esimerkki vaihtelevista käytännöistä asiaan liittyen tällä hetkellä Suomessa.

Kuopion aluetyöterveyslaitoksen Ympäristömikrobiologian laboratorion tutkimus- ja palveluaineiston perusteella kosteusvaurioindikaattorit ovat (Reiman ym. 2005, 56–59): *Absidia*, *Acremonium*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus penicillioides*, *Aspergillus sydowii*, *Aspergillus terreus*, *Aspergillus versicolor*, *Aureobasidium*, *basidiomykeetit*, *Botrytis*, *Chaetomium*, *Chrysonilia*, *Chrysosporium*, *Engyodontium*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Exophiala*, *Geomyces*, *Memnoniella*, *Mucor*, *Oidiodendron*, *Paecilomyces*, *Phialophora*, *Phoma*, *Rhinocladiella*, *Rhizopus*, *Rhodotorula*, *Scopulariopsis*, *Sporobolomyces*, *Sphaeropsidales*, *Stachybotrys*, *Streptomyces*, *Trichoderma*, *Tritirachium*, *Ulocladium*, *Wallemia*.

Sosiaali- ja terveysministeriön 2009 julkaisemassa Asumisterveysoppaassa (2009, 172) mainitaan esimerkkeinä kosteusvaurioon ja mikrobikasvuun viittaavista mikrobisuvuista, -lajeista ja -ryhmistä taulukossa 1 seuraavat.

TAULUKKO 1. Esimerkkejä ulko- ja sisäilmassa yleisesti esiintyvistä sienisuvuista ja -ryhmistä sekä kosteusvaurioon viittaavista mikrobisuvuista, -lajeista ja -ryhmistä (Asumisterveysopas 2009, 172)

| Ulkoilmassa yleisiä sienisukuja ja -ryhmiä | Sisäilmassa yleisiä sienisukuja ja -ryhmiä | Kosteusvaurioon viittaavia mikrobisukuja, -lajeja ja -ryhmiä |
|--|---|---|
| <i>Cladosporium</i> Basidiomykeetit <i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Alternaria</i> hiivat steriilit** | <i>Penicillium</i> <i>Aspergillus</i> <i>Cladosporium</i> hiivat | <i>Acremonium</i> * <i>Aspergillus fumigatus</i> * <i>A. ochraceus</i> * <i>A. penicillioides</i> / <i>A. restrictus</i> <i>A. sydowii</i> * <i>A. terreus</i> * <i>A. versicolor</i> * <i>Chaetomium</i> * <i>Eurotium</i> <i>Exophiala</i> <i>Fusarium</i> * <i>Oidiodendron</i> <i>Geomyces</i> <i>Paecilomyces</i> * <i>Phialophora</i> <i>Scopulariopsis</i> <i>Sporobolomyces</i> <i>Sphaeropsidales</i> <i>Stachybotrys</i> / <i>Memnoniella</i> * <i>Sädesienet</i> * <i>Trichoderma</i> * <i>Tritirachium</i> / <i>Engyodontium</i> <i>Ulocladium</i> <i>Wallemia</i> |

* mahdollisesti toksineja tuottavia mikrobeja

** pesäkkeitä, jotka eivät käytettävillä kasvualustoilla muodosta itiöitä

Vertailemalla yllä olevia luetteloita voidaan todeta niiden eroavan toisistaan 33 %. Indikaattorimikrobeita käsitteleviä lähteitä samoin kuin luetteloita terveysongelmia aiheuttavista kosteusvauriomikrobeista löytyy paljon. Niitä ei voida kuitenkaan pitää kovin kattavina ja luotettavina, koska tutkimustyön edistyessä löydetään uusia, terveysongelmia aiheuttavia mikrobeja jatkuvasti. Tieto on myös osin ristiriitaista. Kaivattaisiin selkeää yhdenmukaistavaa kannanottoa kansalliseksi standardiksi luettelosta indikaattorimikrobeista.

4.1 Sienet

Sienet eivät ole kasveja, eivätkä eläimiä. Vielä 1900-luvun alussa sienet luokiteltiin kasveihin kuuluviksi, mutta nykyään ne erotetaan omaksi kunnakseen. Tunnettuja sienilajeja on yli 100 000, mutta vielä löytymättömiä tieteelle tuntemattomia lajeja on eräiden arvioiden mukaan jopa 1,5 miljoonaa. Kasvien ja eläinten tavoin sienet kuuluvat eukaryooteihin, eli aitotumallisiin. Niillä on siis tumakalvo ja muita tumakalvon ympäröimiä soluelimiä. (Wearing 2010, 4.)

Sienten jaottelutapoja on monia: Toisaalta rihmaston värin mukaan tummiin ja vaaleisiin, toisaalta lisääntymiselinten ja kehittyneisyysasteen mukaan kanta-, kotelo-, levä-, liima ja epätäydellisiin sieniin. Lisäksi sienten jaottelussa käytetään merkitsevänä tekijänä rihmaston muodostusta, minkä perusteella sienet jaotellaan hiivoihin, rihmasieniin sekä dimorfisiin sieniin, jotka voivat esiintyä sekä hiiwa- että rihmam muodossa. (Leivo 1998, 39.)

Sienten ravintovaatimus on verraten yksinkertainen. Useimmat lajit selviytyvät hapellisissa olosuhteissa, jos ne saavat glukoosia, ammoniumsuoloja ja epäorgaanisia ioneja (Kavanagh 2011, 11). Sienet erittävät solujensa ulkopuolelle entsyymeitä, joiden avulla ne hajottavat orgaanisia yhdisteitä itselleen sopivaan muotoon (Sienet 2012). Koska sienten ravinto koostuu orgaanisista yhdisteistä, ne menestyvät luonnossa tyypillisten esiintymispaikkojensa lisäksi hyvin myös kosteusvaurioituneissa rakennuksissa. Sienet muodostavat rihmastoja ja lisääntyvät itiöiden avulla. Yksi sienirihmaston muodostama pesäke voi tuottaa satojatuhansia itiöitä. (Sisäilmäyhdistys 2008a.)

4.1.1 Homesienet

"Home" on yleiskielinen nimitys selvästi erottuvan, nukkamaisista pesäkkeistä muodostuvan monisoluisen rihmaston kasvattavalle sienelle (Leivo 1998, 39). Homesieniä esiintyy kaikkialla luonnossa. Ne kuuluvat ravintoketjussa kuluttajiin ja ovat tärkeitä orgaanisen aineksen hajottajia eli toisenvaraisia eliöitä, jotka vapauttavat maaperään ravinteita ravintoketjun tuottajien käytettäväksi. (Lemmetyinen 2002.)

Eri homeet viihtyvät erilaisissa lämpötilaympäristöissä. Toiset voivat olla hyvinkin tarkkoja elinympäristönsä lämpötilasta, mutta yleisempää on kohtuullisen suuri toleranssi lämpötilavaatimuksen suhteen. (Leivo 1998, 40.) Yleisesti ottaen homesienet viihtyvät kuitenkin parhaiten ihmisasunnoissa vallitsevassa 15–30 °C:n lämpötilassa (Husman ym. 2002, 18). Kuitenkin esimerkiksi Suomen yleisin ulkona esiintyvä homesieni *Cladosporium* tulee toimeen jopa pienessä pakkasessa (Leivo 1998, 40). Yli 60 °C:ssa homesienet eivät pysty kasvamaan, mutta toisaalta pakkasasteet tai kuivuus eivät tuhoa homekasvustoa. Homesienet ovat hyvin sitkeähenkisiä eliöitä. Joutuessaan epäedullisiin kasvuolosuhteisiin voivat homesienten itiöt säilyä lepotilassa hengissä pitkiä aikoja, kunnes olosuhteet elämälle ja lisääntymiselle ovat jälleen suotuisat. Sopivan lämpötilan lisäksi homeet vaativat elääkseen happea ja ainakin ajoittaista kosteutta. (Husman ym. 2002, 18.)

Rakennuksien ja rakenteiden kosteudenhallinta on erittäin tärkeää homevaurioiden ennaltaehkäisyssä, sillä ihmisen rakentamassa sisäympäristössä on useimmiten homeiden kasvua suosiva lämpötila ja paljon homeille ravinnoksi kelpaavaa orgaanista materiaalia tarjolla. Lasia ja metallia lukuun ottamatta miltei kaikki muut yleisesti käytössä olevat rakennusmateriaalit kelpaavat homesienten kasvualustaksi (Husman ym. 2002, 18). Kasvualustan kosteus eli vesiaktiivisuus on homesienten tärkein kasvua säätelevä tekijä. Ilmassa leijailevat ja pinnoille laskeutuneet itiöt odottavat vain tarvitsemaansa kosteutta herätäkseen henkiin. (Valtion ympäristöhallinto 2011.) Lyhytaikainen ja tilapäinen, muutamassa vuorokaudessa kuivuva kosteusrasitus ehtii harvoin aiheuttaa mikrobikasvusta aiheutuvia rakenteellisia ja terveydellisiä ongelmia, mutta materiaalin

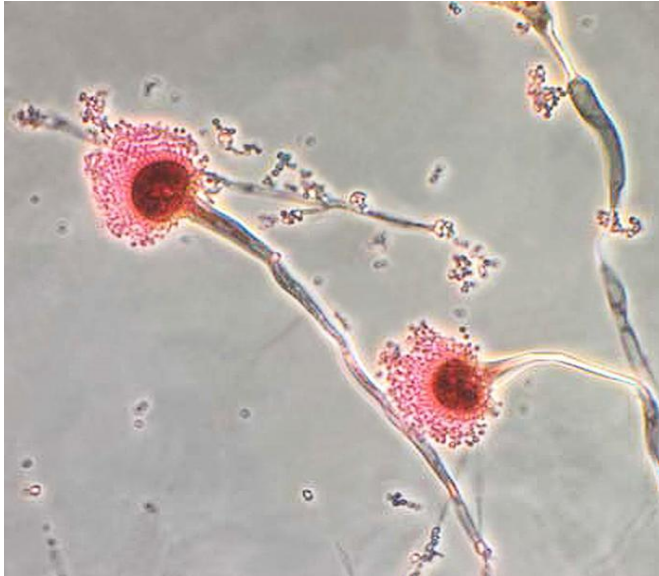
kosteudensietokyvyn ylittävä pitkäaikainen kosteusrasitus johtaa väistämättä homevaurioon (Sisäilmayhdistys 2008d).

4.1.1.1 *Aspergillus*-suvun homesienet

Aspergillus-suvun homesienet ovat hyvin yleisiä, ja niitä esiintyy lähes kaikkialla maailmassa (Miettinen 2008). *Aspergillus*-suvun homeiden ilmaantuminen rakennetussa ympäristössä valtalajiksi viittaa usein kosteusvaurioon (Putus 2010, 22). Yksi suvun yleisimmistä lajeista on kuviossa 1 esitelty *Aspergillus fumigatus*, jonka on kosteusvaurioituneessa asuin- tai työtilassa esiintyessään esitetty aiheuttavan immuunivasteen alenemasta kärsivillä henkilöillä sairastuvuutta (EMLab P&K 2012). *Aspergillus*-lajiston suuri osuus sairastuvuuden aiheuttajina voi myös johtua osittain siitä, että kaupallisia testiuutteita on parhaiten saatavissa *Aspergillus*-yliherkkyyden osoittamiseen (Putus 2010, 22).

Yhteensä *Aspergillus*-suvussa on yli 200 erilaista lajia. Kyseessä on mielenkiintoinen suku, sillä siinä ilmenee valtava ekologinen ja metabolinen monimuotoisuus. (Machida & Gnomi 2010, 4.) Sukuun kuuluu muun muassa tunnettuja patogenejä, kuten esimerkiksi *Aspergillus flavus* -homesieni. Se tuottaa aflatoksiini-nimistä mykotoksiinia, joka on eräs voimakkaimmista tunnetuista luonnossa esiintyvistä myrkyllisistä yhdisteistä. (Machida & Gnomi 2010, 10.) Aflatoksiini on tunnettu haitta lämpimistä maista tuotavissa elintarvikkeissa, ja EU:n komissio onkin asettanut tiukat raja-arvot kyseisen myrkyllisen pitoisuuksiksi elintarvikkeissa (Ruokatieto 1998).

Aspergillus-sukuun kuuluu myös taloudellisesti merkittäviä lajeja, kuten esimerkiksi *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*, *Aspergillus niger* ja *Aspergillus awamori*. *Aspergillus oryzae* -lajeja käytetään soijakastikkeen teolliseen tuotantoon ja *Aspergillus niger* -lajeja sitruunahapon ja erilaisten entsyymien, kuten glukoosioksidaasin ja lysotsyymien tuottamiseen. (Machida & Gnomi 2010, 8–9.)



KUVIO 1. *Aspergillus fumigatus* (CDC Public Health Image Library)

Valitettavasti useimmissa laboratorioissa ei pystytä varmuudella erottamaan toisistaan eri *Aspergillus*-lajeja. Eri alalajien terveyshaitat ovat erilaisia, ja näin ollen tulisi kosteusvaurioituneissa rakennuksissa mahdollisuuksien mukaan pyrkiä lajitason analyysiin, kun selvitetään vakavien terveyshaittojen syitä. (Putus 2010, 22.) Muun muassa keväällä 2013 päättyneessä TOXTEST-tutkimushankkeessa pyrittiin alan johtavien tutkijoiden toimesta kehittämään riittävän tarkkoja ja edullisia analyysimenetelmiä vastaamaan näihin haasteisiin (TOXTEST kehittää hometalojen tutkimusmenetelmiä 2011, 22).

Aspergillus-suvun homesienet ovat *Penicilliumin* tavoin nopeakasvuisia. MEA-maljalla ne peittävät pian kasvualustan hitaampien homeiden kustannuksella. *Aspergillus fumigatus* kasvaa parhaiten alustalla, jolla on korkea vesiaktiivisuus ($a_w > 0,90-0,95$). *Aspergillus versicolor* kasvaa ja viihtyy myös kuivemmissä olosuhteissa ($a_w < 0,85-0,90$). (Putus 2010, 22.)

Aspergillus-itiöt voivat säilyä pitkään ilmassa, koska ne ovat kevyitä, kestävät kuivumiseen ja leviävät helposti (Mahieu, De Dooy, Van Laer, Jansens & Ieven 2000, 191). Kosteusvauriokorjausten yhteydessä korjattavat tilat tulisikin aina eristää ja alipaineistaa, jotta voitaisiin välttää koko asunnon kontaminoituminen helposti leviävillä itiöillä ja niiden mukanaan kuljettamilla toksineilla.

Aspergillus-suvun homeet ovat rihmasienistä yleisin taudinaiheuttajaryhmä. Esimerkiksi *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. nidulans* ja *A. terreus* voivat aiheuttaa immunosuppressiosta eli immuunijärjestelmän heikentymisestä kärsiville potilaille infektioita (Hautala 2003). *Aspergillus*-homeet voivat myös aiheuttaa suoran infektion kasvamalla esimerkiksi poskionteloissa, keuhkoputkissa, leikkaushaavassa tai jopa luissa. Vielä vakavimpia *Aspergillus*-homesientien aiheuttamia infektion muotoja ovat esimerkiksi ABPA (allerginen bronchopulmonaarinen aspergilloosi) sekä invasiivinen aspergilloosi, joka saatetaan joutua hoitamaan poistamalla leikkauksella koko keuhko tai sen lohko. (Putus 2010, 25).

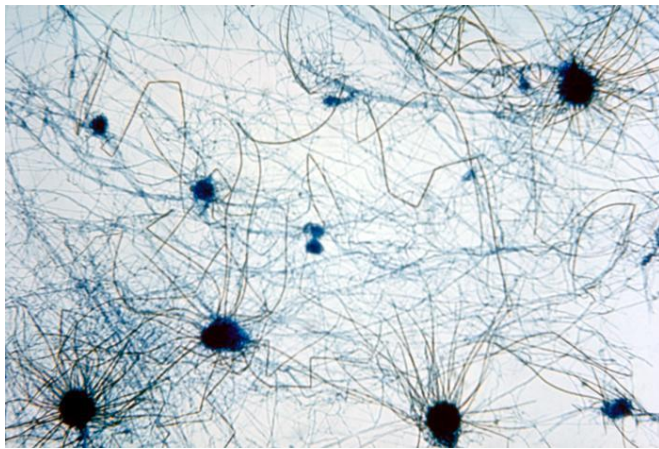
Työterveyshuollon erikoislääkäri ja Turun yliopiston työterveyshuollon professori Tuula Putuksen (2010, 25) mukaan ”Suomessa on ollut pienimuotoisia aspergilloosiepidemioita kosteusvaurioituneissa sairaalarakennuksissa”. On erittäin huolestuttavaa, että sairaaloissakin voi altistua homeille. Potilaiden vastustuskyky on usein sairauksien takia alentunut, ja etenkin keuhko-, immunosuppressio- ja leikkauspotilaat kuuluvat riskiryhmään. Potilasturvallisuuden nimissä tulisi sairaaloissa olla puhdas sisäilma.

4.1.1.2 *Chaetomium*-suvun homesienet

Kuviossa 2 esiteltyjä *Chaetomium*-suvun homesieniä esiintyy kaikkialla maailmassa maaperässä, puutavarassa tai hajoavassa kasvimateriaalissa. Useimmat sukuun kuuluvat lajit tuottavat tehokkaasti sellulaasi-entsyymiä, jonka avulla ne pystyvät pilkkomaan selluloosaa. (Aru, Munk-Nielsen & Federspiel 1997, 350.) Tästä syystä *Chaetomium*-homesienet kasvavat mielellään selluloosaa sisältävillä puu-, paperi- ja kartonkialustoilla ollen myös yleisiä kosteusvaurioituneessa rakenteessa esiintyviä mikrobeja. Harvoin *Chaetomium* kasvaa myös keraamisilla alustoilla tai kivimateriaalilla. (Putus 2010, 30.)

Kosteusvaurioituneissa rakennuksissa *Chaetomium*-homesieniä ilmestyy usein vasta pitkään vaurion syntymisen jälkeen tertiäärimikrobien joukossa. Näin ollen *Chaetomium*-homesientien esiintyminen kosteusvauriokohteessa viittaa yleensä pitkäkestoiseen ja vakavaan kosteusvaurioon. (Putus 2010, 30.)

Chaetomium-suvusta tunnetaan nykyään yli 80 lajia (EMLabs P&K 2012). Toisten lähteiden mukaan, tässä suvussa olisi kuitenkin jopa 180 lajia (Aru ym 1997, 351). Arvioiden erilaisuus kuvastaa hyvin homesienitutkimuksen nopeassa kehitysvaiheessa olevaa tilaa. *Chaetomium*-suvun yleisin, laajimmalle levinnyt ja tutkituin laji on *Chaetomium globosum* (Fogle, Douglas, Jumper & Straus 2007, 49), joka voidaan eristää helposti lahoavasta orgaanisesta materiaalista (Broad Institute 2010). *Chaetomium*-suvun homesienet ovat hidaskasvuisia ja saattavat esimerkiksi MEA-kasvatusalustalla jäädä nopeasti kasvavien homesienten alle (Hyvärinen 2002, 26).



KUVIO 2. *Chaetomium* sp. (CDC Public Health Image Library/Dr. Lucille K. Georg)

Itiökoteloidissa kehittyvät *Chaetomium*-itiöt ovat suuria kooltaan ja suhteellisen painavia, joten niiden leviäminen ilmaan on vähäisempää verrattuna esimerkiksi *Aspergillus*- tai *Penicillium*-homesieneten itiöihin. Tästä syystä jo yhden pesäkkeen löytymistä ilmasta kasvatusalustalle otetusta näytteestä voidaan pitää poikkeavana. (Asumisterveysopas 2009, 173.)

Chaetomium voi aiheuttaa allergiaa ja saada ihmisen immuunijärjestelmän B-solut tuottamaan homealtistuksesta kertovina indikaattoreina pidettyjä IgE-vasta-aineita. Todennäköisesti sen aiheuttamat terveyshaitat syntyvät kuitenkin lähinnä sen tuottamien toksiinien vaikutuksesta (Putus 2010, 30) eikä niinkään esimerkiksi itse itiöiden allergisoivasta vaikutuksesta. Suomessa *Chaetomium*-

sieniä on todettu monissa kosteusvauriokohteissa, joissa on esiintynyt tavallista enemmän autoimmuunisairauksia, kuten esimerkiksi nivelreumaa (Putus 2006).

Korjaustoimenpiteiden ja irtaimiston puhdistamisen kannalta *Chaetomium* on haasteellinen. Gammasäteilyllä voidaan kyllä tappaa itiöt, mutta toksiniit säilyvät aktiivisina. Usein *Chaetomium*-homeille altistunutta irtaimistoa joudutaan hävittämään. (Putus 2010, 35.)

Ansioituneen huippututkija emeritaprofessorin mukaan *Chaetomium*-homesieni muistuttaa mikroskoopin välityksellä tarkasteltuna siiliä (Salkinoja-Salonen 2009).

4.1.1.3 *Fusarium*-suvun homesienet

Fusarium-suvun homesienet eli punahomeet ovat jo pitkään olleet tunnettuja viljoissa esiintyvänä kasvipatogeneinä, jotka voivat aiheuttaa erilaisia kasvitauteja. Lauhkealla ilmastovyöhykkeellä, esimerkiksi Pohjois-Euroopassa, *Fusarium* on hyvin tavallinen viljoissa esiintyvä home. (Rautala ym. 2008, 6.) *Fusarium*-home on myös eräs rakennuksen kosteusvaurioitumiseen viittaavista indikaattorimikrobeista (Asumisterveysopas 2009,172).



KUVIO 3. *Fusarium verticilloides* (CDC Public Health Image Library/ Dr. Libero Ajello)

Kuviossa 3 esiteltyjen *Fusarium*-suvun homeiden itiöt ovat suurikokoisia, ja niiden kasvutavan takia itiöitä irtoaa ilmaan huomattavasti monien muiden

homesukujen itiöitä vähemmän. *Fusarium*-homeita esiintyy harvoin asuinrakennuksessa, ja ne ovat myös harvinaisia primäärivaiheen kosteusvaurion yhteydessä. Näin ollen *Fusarium*-itiöiden löytymiseen ilmanäytteistä tulisi suhtautua erityisellä vakavuudella, sillä usein niiden läsnäolo viittaa pitkälle edenneeseen sekundääri- tai tertiäärivaiheessa olevaan kosteusvaurioon. (Putus 2010, 38.)

Useiden *Fusarium*-lajien tiedetään tuottavan toksisia aineenvaihduntatuotteita ja olevan myös allergisoivia. *Fusariumin* tuottamista toksineista monen tiedetään olevan vaarallisia terveydelle. Erityisen vaarallisina pidetään *Fusariumin* tuottamia trikotekeenejä, joita ovat esimerkiksi deoksinivalenoli, T-2-toksiini ja HT-2-toksiini. (Putus 2010, 39–40.)

Fusarium-homeen saastuttama rehu on tunnettu tuotantoeläinten kuolemien aiheuttaja. Eläinlääketieteessä näitä toksineja onkin tutkittu jo kymmeniä vuosia. (Putus 2010, 40.) Valitettavasti *Fusarium*-homeen toksineja on tutkittu myös biologisen sodankäynnin tarkoituksiin (Lederberg 1999, 140).

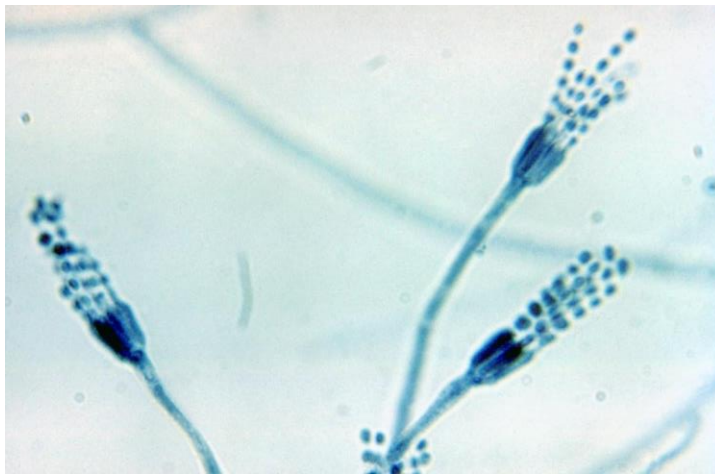
On tiedetty jo pitkään, että *Fusarium* on yleinen maataloustuotantomiljöössä esiintyvä homesuku. Erityisesti maataloustyössä on riski altistua *Fusariumille* sadonkorjuun ja varastoinnin seurauksena homehtuneen heinän käsittelyn yhteydessä. (Putus 2010, 38.) Maatalousympäristössä on kuitenkin huomattava, että talleista ja muista tuotantorakennuksista saattaa asuintiloihin kulkeutua esimerkiksi vaatteiden ja jalkineiden mukana kosteusvaurioon viittaavia indikaattorimikrobeita, mikä on otettava huomioon analysoitaessa tällaisesta paikasta otettuja näytteitä (Asumisterveysopas 2009, 173).

4.1.1.4 *Penicillium*-suvun homesienet

Yleisimmin sisäilmassa esiintyvä homesienisuku on *Penicillium*, jonka itiöitä on kaikkialla. Myös terveissä rakennuksissa on *Penicillium*-suvun itiöitä, jotka useimmiten aiheuttavat myös elintarvikkeiden homehtumisen. (Putus 2010, 16.)

Tällä hetkellä kuviossa 4 esimerkinomaisesti esitellyyn *Penicillium*-sukuun kuuluvia lajeja tunnetaan yli 500, jotka voidaan erottaa toisistaan vain DNA:n

monistamiseen perustuvan PCR-tekniikan avulla. Pelkästään mikroskopoinnin välityksellä tapahtuva tunnistaminen ja erottaminen on hyvin vaikeaa. Nopeasti kasvava *Penicillium* kuuluu primäärivaiheessa kosteusvaurioituneella alueella kasvamaan alkaviin homesukuihin. Sen läsnäolo viittaa siis tuoreeseen kosteusvaurioon. Pienen kokonsa ja keveytensä vuoksi sen rihmastosta helposti irtoavat itiöt leijuvat pitkään ilmassa. (Putus 2010, 16.) *Penicillium* on usein hallitseva laji pinta- ja pölynäytteissä (Lappalainen, Kähkönen, Loikkanen, Palomäki, Lindroos & Reijula 2001, Putuksen 2010, 17 mukaan).



KUVIO 4. *Penicillium glabrum* (CDC Public Health Image Library/ Lucille Georg)

Penicillium on erittäin nopeakasvuinen homesieni, jonka pesäkkeet muodostuvat otollisissa olosuhteissa jopa alle viidessä vuorokaudessa. Kasvatusmaljalla se peittää alleen helposti hitaammin kasvavia lajeja. (Heikki Niemi, Nenosen 2010, 18 mukaan.) *Penicillium*-homesienet pärjäävät kosteusvaurioituneissa rakenteissa hyvin siksi, että ne kykenevät hajottamaan ravinnokseen orgaanisista rakennusmateriaaleista runsaasti löytyviä hiilihydraatteja sekä tärkkelystä (Kempainen 2010, 28).

Penicillium-homesienestä eristetään myös bakteeriperäisten tautien hoidon mullistanutta penisilliiniä, jonka Nobel-palkittu Alexander Fleming löysi vuonna 1928 sattumalta. Hän totesi bakteeriviljelmään epähuomiossa joutuneen *Penicillium*-homepesäkkeen erittävän ympärilleen ainetta, joka ehkäisi bakteerien

kasvun. Aine sai myöhemmin nimen sitä erittävän homesienen mukaan. (Forsius 2002.)

Penisilliinin olemassaolosta huolimatta *Penicillium*-suvun home on allergisoiva ja sillä on homeille tyypillisiä haitallisia terveysvaikutuksia. Eräät *Penicillum*-lajit tuottavat herkästi toksineja ja saattavat aiheuttaa infektion elimistössä.

*Penicillum*in terveyshaittoja ei ole syytä vähätellä sen arkipäiväisyyden ja tuttuuden takia. (Putus 2010, 16.) Esimerkiksi kosteusvauriokorjauksia tekevien työntekijöiden altistustapauksista suurin osa liittyy *Penicillium*-homesieniin (Rautiala ym. 1996, Putuksen 2010, 17 mukaan).

4.1.1.5 *Stachybotrys*-suvun homesienet

Stachybotrys-suvun homesieniä on noin 50 lajia, ja niitä esiintyy kaikkialla maailmassa. *Stachybotrys*-suvun lajit ovat yleisesti ottaen hidaskasvuisia tertiäärivaiheen homesieniä, jotka ilmenevät kosteusvauriossa vasta pitkän ajan kuluttua. Ne pystyvät kilpailemaan huonosti elintilasta primäärivaiheen *Penicillium*- ja *Aspergillus*-lajien kanssa. (Spengler, Samet & McCarthy 2001, 467–468.) Tertiäärivaiheen kosteusvauriomikrobeille tyypilliseen tapaan *Stachybotrys* pystyy hajottamaan selluloosaa. Näin ollen sitä tavataan kosteusvaurioituneissa rakennuksissa tyypillisesti kipsilevyn taustakartongilla, tapeteissa ja muissa paperipitoisissa rakennusmateriaaleissa sekä kuitu- ja lastulevyissä. (Sisäilmayhdistys 2008c.)

Eräs yleisimmistä ja myös parhaiten tunnettu *Stachybotrys*-suvun homesienilaji on *Stachybotrys chartarum*, joka tunnetaan myös nimellä *Stachybotrys atra*. Se esiintyy tummana tai mustana kasvustona, minkä takia englanninkielinen ilmaus ”black mold” viittaa arkikielessä usein nimenomaan *Stachybotrys chartarum*-homesieneen (Money 2004, 5). Näytteenoton kannalta on huomioitavaa, että *Stachybotrys chartarum* -itiö on suurikokoinen, liman peittävä ja heikosti leijuva, minkä vuoksi niitä irtoaa kasvustosta huomattavasti vähemmän kuin muilla lajeilla. Näin ollen yksittäinenkin pesäkehavainto ilmanäytteessä on merkittävä ja tavanomaisuudesta poikkeava löydös. (Asumisterveysopas 2009, 173.) *Stachybotrys chartarum* ei siis kuulu yleisimpiin näytteissä tavattaviin lajeihin.

Suomessa sitä onkin pidetty kosteusvaurioindikaattorimikrobina jo yli kymmenen vuoden ajan. (Putus 2010, 46.)

Stachybotrys chartarum tuottaa *Fusariumin*, *Cephalosporiumin* ja *Myrotheciumin* tavoin proteiinisynteesiä estäviä ja immuunipuolustusta sekä luuytimen toimintaa häiritseviä erittäin myrkyllisiä trikotekeeni-toksiineja, jotka vaurioittavat sisäelimiä ja aiheuttavat hermo- ja ihovaurioita (Amman 2005, Putuksen 2010, 47–48 mukaan) ja aktivoivat voimakkaan tulehdusvälittäjäainetuotannon (Työterveyslaitos 2007, 33).

Kosteusvaurioituneita tiloja korjattaessa tulee *Stachybotrys chartarum* -homeeseen saastuneen materiaalin käsittelyssä olla erityisen huolellinen ja poistaa purkujäte suljetuissa astioissa tai alipaineistettua putkea pitkin. *Stachybotrys chartarum* -hometta käsitelleiden ja sille altistuneiden työntekijöiden parissa on raportoitu palovammaa muistuttavia ihovaurioita, vaikeita silmävaurioita, nenäverenvuotoa, veristä yskää, muuttunutta verenkuvaa ja hengittämisen muuttumista kivuliaaksi. *Stachybotrys chartarum* -homeella saastunutta rehua syöneiden tuotanto- ja kotieläinten tiedetään kuolleen homeen tuottamien toksiinien aiheuttamaan myrkytykseen. (Putus 2010, 48–51.)

4.1.2 Hiivasienet

Hiiva on yleisnimitys yksisoluiselle sienelle, joka ei muodosta rihmastoja ja itiöemiä. Toisin kuin homesienet, hiivasienet lisääntyvät bakteerien tavoin jakaantumalla yksittäisistä soluista. Jako hiivojen ja homeiden välillä ei ole tarkka ja perustuu enemmän laboratoriokäytäntöihin kuin systemaattiseen taksonomiseen luokitteluun. Eri lähteissä onkin ristiriitaista tietoa jaosta hiiva- ja homesukuihin. Esimerkiksi *Exophiala*- ja *Geotrichum*-sienisuvut esitellään välillä hiivoihin ja välillä homeisiin kuuluvina. Edellä mainitusta seuraa, että kosteusvaurioita käsittelevässä kirjallisuudessa hiivat ja homesienet mainitaan yleensä samassa yhteydessä. (Hintikka, Tuomi, Johnsson & Reijula 2003, 33; Putus 2010, 64.)

Koska kosteusvaurioituneessa rakenteessa esiintyy yleensä aina sekä hiivoja että homeita, on hiivojen ja homesienten aiheuttamien terveyshaittojen erottaminen toisistaan haastavaa. On mahdollista, että kosteusvauriossa esiintyy

homesienikasvustoja ilman hiivojen läsnäoloa, mutta on toisaalta epätodennäköistä että kosteusvauriokohteessa olisi pelkästään hiivoja eikä ollenkaan homeita. (Putus 2010, 64.)

Merkittävin sieni-infektioita aiheuttava hiivasieniryhmä on *Candida*-suku, johon tunnetaan kuuluvaan yli 150 lajia. Yleisin *Candida*-laji, jonka tiedetään aiheuttavan merkittäviä hiivainfektioita ihmiselle, on *Candida albicans*. Yli 150 tunnetusta *Candida*-lajista toistaiseksi alle kymmenen on osoitettu aiheuttavan infektioita ihmiselle. (Hautala 2003.)

Koska hiivat eivät tuota toksiineja, on niiden merkitys kosteusvauriokohteista tutkittavina mahdollisia terveysongelmia aiheuttavina mikrobeina vähemmän keskeinen kuin homeiden. Ne tulee kuitenkin ottaa analyysityössä huomioon, sillä hiivat ovat allergisoivia ja limakalvoissa sekä kudoksissa tulehdusta aiheuttavia. Ne voivat aiheuttaa myös vakavia sairauksia, kuten esimerkiksi alveoliittia. Yleisesti voidaan kuitenkin todeta, että hiivat eivät kosteusvauriossa esiintyessään ole yhtä suuri terveysriski kuin homeet. (Putus 2010, 64.)

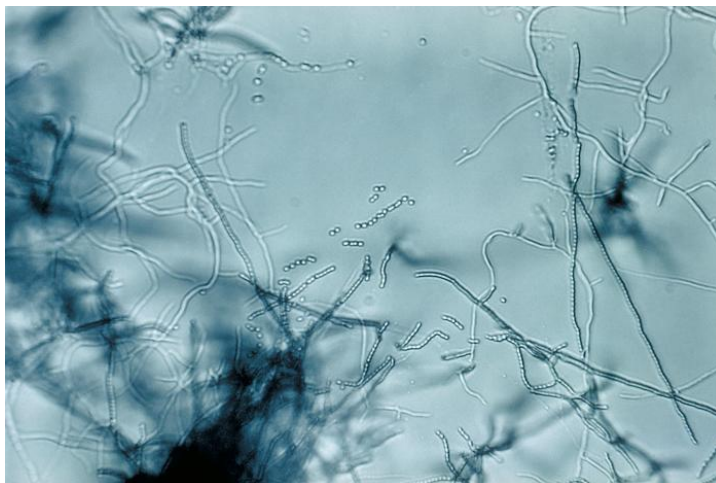
4.2 Kosteusvauriobakteerit

On vaikea löytää erittelevää tutkimusta kosteusvaurioissa esiintyviin bakteereihin liittyen. On kuitenkin selvää, että kosteusvaurioperäisten terveysongelmien keskeinen syntymekanismi liittyy useiden tekijöiden yhteisvaikutukseen sekä altistavassa kasvustossa että altistuksen kohteena olevassa ihmisorganismissa. Asiaa valottaa esimerkiksi Työterveyslaitoksen tutkimusprofessori immunotoksikologi Harri Aleniuksen lausunto: ”Solukokeissa pelkät toksiinit eivät aiheuttaneet tulehdusmuutoksia, mutta yhdessä bakteerien soluseinän osien kanssa ne aiheuttivat erittäin massiivisen tulehdusreaktion.” (Heikkilä 2009, 40–43.)

Bakteerit ovat yksisoluisia alkeistumallisia jakaantumalla lisääntyviä pieneliöitä, joista useimmat ovat halkaisijaltaan 0,5–1 mikrometriä ja pituudeltaan 1–2 mikrometriä (Asumisterveysopas 2009, 144). Ne ovat siis dimensioiltaan pienempiä kuin sienten itiöt, joiden koko vaihtelee 2 ja 50 mikrometrin välillä (Hannuksela & Haahtela 2009). Jotkut gram-positiiviset bakteerit kykenevät

muodostamaan itiöitä, ja on huomattu, että itiöitä muodostavat bakteerisuvut (*Bacillus*, *Paenibacillus*) esiintyvät usein rakennuksissa, joissa tiedetään tapahtuneen vesivahinko (Salkinoja-Salonen 1999, 20). Itiömuodossa bakteeri on solumuotoista kestävämpi muun muassa lämpöä, kuivuutta, kylmyyttä ja säteilyä vastaan (Leivo 1998, 39).

Vaikka bakteerit ovat yleensä yksisoluisia, on olemassa ryhmä bakteereita, jotka kykenevät muodostamaan rihmastoja, minkä johdosta ne itse asiassa muistuttavat sieniä. Puhutaan aktinomykeeteistä tai aktinobakteereista. Sienimäisyydestä johtuu myös niiden puhekielinen yleisnimitys sädesienet. (Leivo 1998, 39.) Kosteassa viihtyvät aktinomykeetit eli aktinobakteerit ovat gram-positiivisia maaperäbakteereita. Ne muodostavat myös kosteusvaurioon tyypillisesti liitettävän ”maakellarimaisen” hajun. (Salkinoja-Salonen 1999, 25; Asumisterveysopas 2009, 162.)



KUVIO 5. *Streptomyces sp.* (CDC Public Health Image Library/ Dr. David Berd)

Kaupunkirakennuksissa ei pitäisi esiintyä lainkaan aktinomykeettejä, mutta maatalousympäristössä niitä saattaa kulkeutua ulkoa asuintiloihin jalkineiden ja vaatteiden mukana. Jos kosteusvaurioituneessa rakennuksessa todetaan aktinomykeettejä, niin silloin niitä voidaan pitoisuudesta riippumatta pitää terveyshaittana. (Putus 2006.) Asumisterveysohjeessa annetaan asuinhuoneistojen sädesienipitoisuuden ohjearvoksi 10 cfu/m^3 (Asumisterveysohje 2003, 77).

Aktinomykeetit ovat allergisoiva, toksineja tuottavia ja pieni-itiöisiä. Niiden pienen itiökoon takia ne voivat aiheuttaa muun muassa alveoliittia. Ne voivat myös kasvaa ja aiheuttaa infektion pehmytkudoksissa ja limakalvoilla. (Putus 2006.) Aktinomykeettien löytymistä rakennuksesta onkin terveysviranomaisten keskuudessa pidetty jo pitkään merkinä epätavallisesta mikrobikasvusta sisätiloissa (Aurola & Välikylä 1997, 128, Salkinoja-Salosen 1999, 25 mukaan).

Yleisempiä kosteusvauriossa esiintyviä aktinomykeettejä ovat kuviossa 5 esitellyt *Streptomyces*-suvun aktinobakteerit (Putus 2006). Muita vesivahingoittuneista sisätiloista löydettyjä aktinobakteerisukuja ovat *Gordonia* ja *Mycobacterium* (Salkinoja-Salonen 1999, 20).

On huomattu, että *Streptomyces*-bakteerit aiheuttavat tiettyjen homeiden kanssa synergisesti vakavampia terveysongelmia, kuin bakteerit tai homeet yksin aiheuttaisivat (Markkanen, Pelkonen, Tapanainen, Mäki-Paakkanen, Jalava & Hirvonen 2008, 857). Käytyäni laajahkosti asiaan liittyvää materiaalia läpi välittyy konsensus siitä, että mainittu synerginen vaikutusmekanismi on todennäköisesti tyypillinen kosteusvauriomikrobien aiheuttamissa sairastumistapauksissa, vaikka terveyshaittojen mekanismit tunnetaankin toistaiseksi vajavaisesti.

Aktinomykeetit sisältyvät myös sosiaali- ja terveysministeriön julkaisemaan listaan kosteusvaurioindikaattorimikrobeista (Asumisterveysohje 2003, 78).

5 KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN AINEENVAIHDUNTATUOTTEET

Kosteusvaurioissa elävät mikro-organismit joutuvat useimmiten elämään olosuhteissa, jotka eivät ole niille optimaaliset ja joissa elintilasta kilpailevat mikrobilajit ja -suvut käyvät kamppailua elämästä ja kuolemasta sukkessioprosessin edetessä. Parantaakseen kilpailuasemiaan mikrobien aineenvaihdunta tuottaa kullekin lajille ominaisia yhdisteitä, joista osa on voimakkaasti toksisia hermomyrkkijä. Näitä kutsutaan tuottajamikrobin mukaan joko mykotoksiineiksi tai bakteeritoksiineiksi. Lisäksi kosteusvaurioon pesiytyneet mikrobit tuottavat normaaleja ilmaan haihtuvia aineenvaihduntatuotteitaan, jotka syntyvät niiden hajottaessa orgaanista materiaalia. Näin syntyneitä yhdisteitä kutsutaan MVOC-yhdisteiksi. Sekä mykotoksinit, kuten myös MVOC-yhdisteet voivat olla ihmiselle haitallisia. Vaikutusten haitallisuus korostuu suljetuissa sisätiloissa haitallisten aineenvaihduntatuotteiden vaikuttaessa ihmisen immuunipuolustukseen monimutkaisina kombinaatioina.

Tämän työn puitteissa lähdetään siitä, että selviteltävän asian kannalta merkityksellisiä aineenvaihduntatuotteita syntyy sienten ja bakteerien tuottamana. Lisäksi pienessä määrin aineenvaihduntatuotteita syntyy myös muiden kosteusvaurioissa viihtyvien eliöiden toimesta, joita ovat esimerkiksi yksisoluisiin aitotumallisiin eliöihin kuuluvat amebat ja hyönteisiin kuuluvat sokeritoukat, punkit, muurahaiset ja torakat.

Viimeaikaisissa tutkimuksissa on todettu että ameboja esiintyy jopa 22 prosentissa kosteusvaurioituneita tiloja ja että niiden sisällä voi kasvaa ihmiselle haitallisia bakteereita. Tutkimustulokset antavat viitteitä siitä, että amebojen läsnäolo hyödyntää bakteereita ja homesieniä. Joidenkin bakteerien ja homesienien aineenvaihduntatuotteet näyttävät muuttuvan myrkyllisemmiksi amebojen läsnä ollessa. Ylipäätään vuorovaikutus amebojen kanssa näyttäisi vaikuttavan muiden kosteusvaurioissa elävien mikrobien ominaisuuksiin. Kosteusvaurioissa elävien amebojen terveysvaikutuksista ei löydy suoranaista tutkimustietoa, ja näin ollen ameboja ja muita alkueläimiä ei mainita Asumisterveysoppaassa tai -ohjeessa. (Yli-Pirilä 2009, 7–8.) Tämänhetkisen tiedon valossa voidaan olettaa, että

amebojen omat aineenvaihduntatuotteet eivät ilmeisesti ole merkittävä terveysuhka, vaan niiden terveydelle haitallinen vaikutus perustuu niiden läsnäolon mikrobien aineenvaihduntatuotantoa tehostavaan vaikutukseen.

Tähän mennessä ei ole onnistuttu kehittämään luotettavia ja yleisen käytettävyyden kannalta riittävän edullisia mittausmenetelmiä kosteusvaurion aiheuttaman ympäristön toksisuuden määrittelyyn.

Perehtyessä bakteeri- ja mykotoksiineita käsitteleviin kirjoituksiin huomaa selvästi, että suuri osa niistä viittaa hyvin rajalliseen määrään tiettyjä suomenkielisiä lähdeoksia. Näistä primäärilähteistä lainatut lauseenparret toistuvat useissa eri kirjoituksissa hieman muokatussa muodossa läpi aihealueen. On selkeä tarve uudelle ja ajanmukaiselle tiedolle asiaan liittyen.

5.1 Mykotoksiinit

Tietyt homesienet kykenevät tuottamaan mykotoksiineiksi kutsuttuja myrkyllisiä yhdisteitä, jotka voidaan vaikutustavasta riippuen jakaa pääryhmittäin solu-, hermo- ja suolistomyrkyihin (Forsius 2003). Nämä sienimyrkyt eivät ole haihtuvia yhdisteitä, mutta esiintyvät sisäilmassa bioaerosoleina pieniin hiukkasiin kiinnittyneinä. Tällä hetkellä tunnetaan useita tuhansia homesienten tuottamia kemialliselta rakenteeltaan hyvinkin erilaisia aineenvaihduntatuotteita. Kaikki edellä mainitut yhdisteet eivät ole myrkyllisiä, ja vain osa homesienilajeista kykenee tuottamaan toksiineja. (Asumisterveysopas 2009, 151.)

Asuinhuoneistoon kosteusvaurion seurauksena levinneet mykotoksiinit vaikuttavat useimmiten hengitysteiden kautta, mutta hometoksiineille on myös mahdollista altistua syömällä kontaminoitunutta ravintoa tai ihokosketuksen kautta (Forsius 2003).

Mykotoksiineilla voi olla akuutteja tai kroonisia terveysvaikutuksia. Akuutit oireet ovat yleensä vakavia ja ilmestyvät nopeasti. Krooniset terveysvaikutukset sen sijaan syntyvät useimmiten pitkäaikaisen altistuksen seurauksena ja ovat usein luonteeltaan kumulatiivisia. Kroonisia mykotoksiinien aiheuttamia vaikutuksia ovat esimerkiksi syövät ja alentunut immuunipuolustuksen taso.

Kosteusvaurioituneissa asunnoissa tietämättään pitkään asuneet henkilöt kärsivät usein mykotoksiinialtistuksen kroonisista terveysvaikutuksista. (Forsius 2003.)

Mikrobien tuottamien toksiinien määrä riippuu niiden elinolosuhteista. (Asumisterveysopas 2009, 151.) Homesienten kykyyn tuottaa mykotoksiineja vaikuttaa muun muassa homesienilaji ja -kanta, vallitseva kosteus ja lämpötila, kasvualusta sekä saatavilla olevan hiilidioksidin ja hapen määrä. (Leivo 1998, 52.) Tutkimuksissa on osoitettu, että rakennusmateriaalin korkea kosteuspitoisuus lisää toksiinin tuottoa. Myös mikrobien välinen kilpailu ja saatavilla olevat ravinteet vaikuttavat toksiinituotantoon. (Asumisterveysopas 2009, 151.) Jopa yhden sienilajin eri kantojen välillä voi olla huomattavia eroja; toiset sienikannat muodostavat mykotoksiineja ja toiset eivät. (Leivo 1998, 52.)

Esimerkkinä homeiden tuottamista toksiineista mainitsen erityisen myrkylliset trikotekeenit, jotka löydettiin etsittäessä uusia homeiden tuottamia antibiootteja. Löydetyt trikotekeeniyhdisteet eivät kuitenkaan soveltuneet lääketeollisuuden käyttöön myrkyllisyytensä takia. Kaiken kaikkiaan trikotekeeniryhmä koostuu noin 40:stä eri yhdisteestä. (Koponen 1999, 90.) Ne estävät proteiinisynteesiä ja heikentävät immuunijärjestelmän sekä luuytimen toimintaa. Trikotekeenien tiedetään myös aiheuttavan maksa-, munuais-, hermo-, iho- sekä keuhkovaurioita. (Ammann 2005, Putuksen 2010, 48 mukaan.) Trikotekeenejä tuottavat esimerkiksi *Stachybotrys*-, *Fusarium*- ja *Trichoderma*-lajit. Tyypillisesti trikotekeeneitä tuottavia homeita yhdistää niiden viihtyminen kylmissä oloissa (Koponen 1999, 90).

Pystyäkseen tuottamaan tehokkaasti toksiineja homesieni vaatii hyvät olosuhteet. Kasvuympäristön kosteuden ja lämpötilan tulee olla lähempänä kunkin sienilajin vaatimia optimaalisia olosuhteita kuin pelkkä homesienen kasvu edellyttää. Luonnonmateriaaleilla sekakasvustossa mikrobien toksiinituotanto estyy usein, jos toksiinia tuottava sieni ei pääse aloittamaan kasvua ensimmäisenä lajina. (Leivo 1998, 52.)

Kosteusvauriossa vallitseva vuorovaikutus lajien toksiinintuoton suhteen on todennäköisesti hyvin monimutkainen. Lajien välisessä kilpailussa elintilasta on siis kuitenkin merkitystä sillä, missä vaiheessa kukin laji on

kosteusvaurioituneeseen materiaaliin päätynyt. Jälleen korostuu sukkessioprosessin ymmärtämisen tärkeys pyrittäessä kehittämään kosteusvaurioissa ilmenevien toksiinien analyysimenetelmiä.

Johtuen mykotoksiinien suhteellisen pienistä pitoisuuksista kosteusvaurioituneen rakennuksen sisäilmassa on toksiinien sisäilmassa esiintymiseen liittyvää tarkkaa tutkimustietoa olemassa niukasti. Myöskään terveysturvonnassa käytettäviksi soveltuvia määrittämenetelmiä ei toistaiseksi ole olemassa. Tästä seuraa, että toistaiseksi terveysturvonomaiset eivät voi antaa tarkkoja ohjeita toksiinianalyysien käytöstä. (Asumisterveysopas 2009, 152.)

Tällä hetkellä kosteusvaurion saastuttamaa sisäilmaa analysoitaessa löydetään lähinnä niitä toksineja, jotka tunnetaan kohtuullisen hyvin. Analyysimenetelmien kehittyessä tarkentunee kuva kosteusvauriosta kärsivän asuinhuoneiston tyypillisistä toksiniesiintymistä. Tyypillisesti mykotoksiineja ei voida havaita aistinvaraisesti, vaan ainoastaan laboratorioanalyysin perusteella.

Koska useimpia sienimyrkkyjä vastaan ei tunneta toimivia lääkkeitä, on monia niistä tehokkuutensa takia kautta aikojen käytetty myös moraalisesti epäilyttäviin tarkoituksiin, esimerkiksi poliittisten tai sotilaallisten vastustajien raivaamiseen omien valtapyrkimysten tieltä. Tällaisen kohtalon sai kokea esimerkiksi Rooman keisari Claudius, jonka myrkytti perimätiedon mukaan sieniruualla kuoliaaksi vuonna 54 jKr. hänen oma vaimonsa Agrippina tarkoituksenaan tehdä pojastaan Neroista uusi keisari (Forsius 2003). Asian moderni ja suuremman mittakaavan sovellus liittyy luonnollisesti erittäin tuomittavaan kiellettyyn biologiseen tai kemialliseen sodankäyntiin, jonka tutkimuslaboratorioissa on kehitelty myös monia mykotoksiineihin perustuneita aseita.

5.1.1 *Aspergillus*-toksiinit

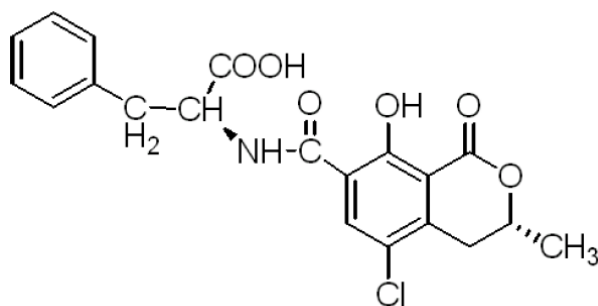
Tiedetään, että monet *Aspergillus*-lajit kykenevät tuottamaan toksineja (Ammann 2005, Putuksen 2010, 25 mukaan). On myös todettu, että kosteusvaurioituneiden rakennusten rakennusmateriaaleista sekä sisäilmasta tavataan toistuvasti mykotoksiineja tuottamaan kykeneviä *Aspergillus*-lajeja. Näihin kuuluvat esimerkiksi *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*, *A. ochraceus* ja *A. flavus*.

Aspergillus niger kykenee tuottamaan elintarvikkeissa ja eläinrehussa malformiini-yhdisteitä, jotka ovat sytotoksisia ja joutuessaan ihmisen elimistöön aiheuttavat maksa- ja munuaisvaurioita sekä sisäistä verenvuotoa (Cole & Cox 1981, Hintikan, Reijulan & Nikulinin 1998, 2171–2172 mukaan).

Aspergillus fumigatus tuottaa monen muun *Aspergillus*-lajin tapaan tremorgeeneja, jotka hermomyrkkyinä aiheuttavat muun muassa vapinaa ja kouristelua estämällä hermosolujen toimintaa. Tremorgeenien uskotaan aiheuttavan osaltaan pölyisissä ympäristöissä työskentelevien työntekijöiden, esimerkiksi sahatyöntekijöiden, homepölykeuhko-oireita. (Ammann 2005, Putuksen 2010, 25 mukaan; Cole & Cox 1981, Hintikan ym. 1998, 2172 mukaan.)

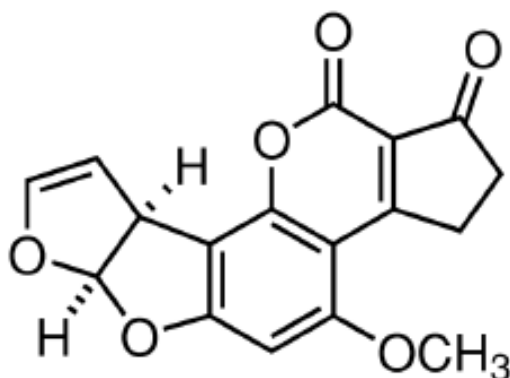
Aspergillus versicolor on yleinen kosteusvaurioissa esiintyvä homesieni, joka kykenee *Aspergillus flavuksen*, *Aspergillus rugulosuksen*, *Aspergillus unguisin* ja *Aspergillus nidulansin* lailla tuottamaan sterigmatokystiiniä (Ammann 2005, Putuksen 2010, 25 mukaan). Vaikutukseltaan sterigmatokystiinit ovat aflatoksiinien kaltaisia, mutta vähemmän myrkyllisiä. Ruoasta saatavat sterigmatokystiinit voivat aiheuttaa syöpää, munuais- ja maksavaurioita sekä kroonista hepatiittia. (Cole & Cox 1981, Hintikan ym. 1998, 2172 mukaan.)

Aspergillus ochraceus kykenee tuottamaan okratoksiineja, joista parhaiten tunnetaan kuviossa 6 esitelty okratoksiini A. Kyseessä on erityisesti munuaisiin vaikuttava myrkkä, jonka oletetaan aiheuttavan tietyillä Euroopan alueilla esiintyvää munuaistautia. (WHO 1990, Hintikan ym. 1998, 2172 mukaan.)



KUVIO 6. Okratoksiini A:n kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

Aspergillus flavus ja *Aspergillus parasiticus* tuottavat aflatoksiineja, jotka ovat karsinogeenisiä. Tutkimuksissa on osoitettu erityisesti maksasyövän ja ruoan aflatoksiinipitoisuuden välinen yhteys. (Ammann 2005, Putuksen 2010, 25 mukaan.) Eläinkokeissa aflatoksiinien on havaittu olevan myrkyllisiä, karsinogeenisiä, mutageenisia ja teratogeenisiä (sikiövaurioita aiheuttavia) vaikutuksia (Abdel-Wahhab ym. 2005 & 2006, Rain, Bonden, Inglen & Gaden 2012, 23 mukaan). Elintarvikkeissa erityisesti pähkinöissä tavataan aflatoksiineja minkä johdosta tullilaboratorio tutkii säännöllisesti Suomeen tuotavat pähkinäerät aflatoksiinien varalta (Ruokatieto 1998). Kuviossa 7 esimerkinomaisesti kuvattuja aflatoksiineja esiintyy myös viljassa ja viljatuotteissa. Niiden on todettu siirtyvän jopa homeisesta rehusta tuotantoeläimien lihaan ja maitoon. (Evira 2012.)



KUVIO 7. Aflatoksiini B1:n kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

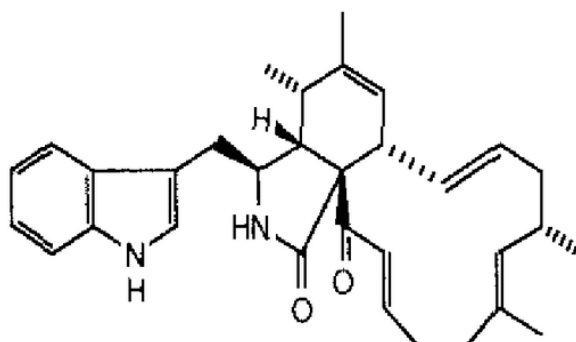
5.1.2 *Chaetomium*-toksiinit

Chaetomium on yleinen Suomessa sosiaali- ja terveysministeriön julkaisemassa Asumisterveysoppaassa (2009, 172) kosteusvaurioindikaattoriksi määritelty kestäviä toksiineja tuottava homesieni. Sen toksiineja ovat muun muassa chaetoglobosiini, chaetomiini ja sterigmatokystiini (Putus 2010, 30).

Chaetomium-homesienen yleisyydestä huolimatta sen toksiinien kemiallista rakennetta ei ole vielä selvitetty (Salkinoja-Salonen 2009).

Chaetomium-homesienet kykenevät kasvamaan varsin laajalla pH-alueella, mutta kuten homesienillä yleensäkin, sen kyky tuottaa toksiineja vaatii lähellä optimaalista kasvualustaa olevan pH:n. *Chaetomium* tuottaa helpoiten mykotoksiineja pH:n ollessa lähes neutraali. Itiöinti sen sijaan on *Chaetomiumilla*

voimakkaimmillaan happamissa olosuhteissa. (Fogle, Douglas, Jumper & Straus 2008 a ja b, Putuksen 2010, 32 mukaan.)



KUVIO 8. Chaetoglobosiini A:n kemiallinen rakenne (Oikawa, Murakami & Ichihara 1991, 4533)

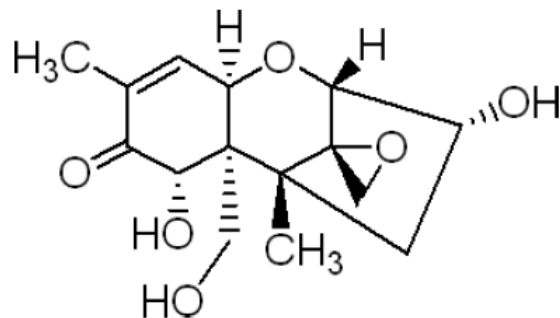
*Chaetomium*in toksiinit kestävät hyvin kuumuutta ja lämpötilan muutoksia. Tutkimuksissa on todettu kuviossa 8 kuvatun chaetoglobosiini A:n ja C:n pitoisuuksien alkavan vähentyä vasta yli puolitoista tuntia kestäneen 100 °C:n lämmössä tapahtuneen käsittelyn jälkeen. (Fogle ym. 2008 a ja b, Putuksen 2010, 32 mukaan.) Kosteusvaurioituneen asunnon sisäilman välityksellä kehoon joutuvan chaetoglobosiinitoksiinin oletetaan aiheuttavan autoimmuunisairauksia (Putus 2006).

5.1.3 *Fusarium*-toksiinit

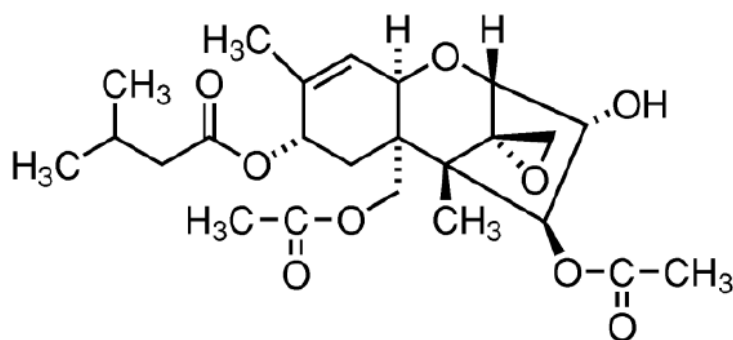
Fusarium-homesienet kykenevät tuottamaan trikotekeenejä, joiden toksisuus vaihtelee riippuen yhdisteen kemiallisesta rakenteesta. Ne ovat kaikki kuitenkin ihoa ja limakalvoja ärsyttäviä. *Fusarium*in tuottamat trikotekeenit aiheuttavat huomattavia negatiivisia terveysvaikutuksia joutuessaan kehoon. (WHO 1990, Hintikan ym. 1998, 2172 mukaan.)

Altistuksen tapahtuessa ruoansulatuskanavan kautta ne aiheuttavat hematologisia muutoksia ja saattavat myös häiritä veren hyytymismekanismen toimintaa. Niillä on myös immunitettä heikentävä vaikutus, koska ne vähentävät antigeenien vasta-aineiden muodostumista. Tällöin on todettu niiden heikentävän altistuneen yksilön infektioiden vastustuskykyä. Trikotekeenit estävät proteiini- ja makromolekyylisynteesiä. (WHO 1990, Hintikka ym. 1998, 2172 mukaan.)

Trikotekeeneihin kuuluvia *Fusariumin* tuottamia mykotoksiineja ovat muun muassa kuviossa 9 kuvattu deoksinivalenoli, nivalenoli sekä kuviossa 10 kuvattu T-2- ja HT-2-toksiini. *Fusarium*-lajit tuottavat lisäksi muita toksiineja, kuten esimerkiksi zearalenonia ja kuvioissa 11 kuvattuja fumonisiineja. Valtaosa *Fusarium*-homesienien tuottamista toksiineista tunnetaan toistaiseksi heikosti, mutta tähän mennessä tehtyjen tutkimusten perusteella on EU:n elintarvikealan tiedekomitea päättänyt suosittamaan *Fusarium*-toksiinien määrän kontrollointia elintarvikkeissa ja määrittänyt päivittäiset enimmäissaantimäärät. Erityisesti viljassa esiintyvien mykotoksiinien määrien seuranta on tärkeää pitoisuuksien vaihdeltaessa satokauden säiden ja viljan varastointiolosuhteiden mukaan. (Rautala ym. 2008, 6–7.)



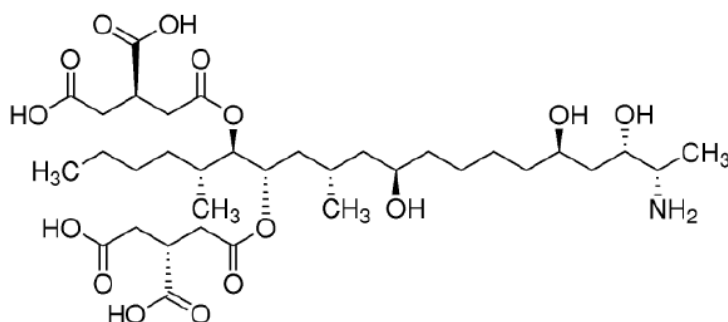
KUVIO 9. Deoksinivalenolin kemiallinen rakenne (Lerda 2010)



KUVIO 10. T-2-toksiinin kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

Elintarvikevirasto Eviran teettämän tutkimuksen mukaan kansalaisten *Fusarium*-toksiinien päivittäinen saanti Suomessa ei ylitä määriteltyjä raja-arvoja. Kuitenkin *Fusariumin* saastuttama vilja on merkittävä terveysriski tuotantoeläimille aiheuttaen laaja-alaisia terveysongelmia. Tällä hetkellä ihmisravinnoksi

kelpaamatonta homeista viljaa päätyy eläinten rehuksi, mikä on kuitenkin arveluttavaa, koska mykotoksiinit kertyvät eläimen lihaan ja sisäelimiin, mitä kautta ne saattavat päätyä ihmisen ravinnoksi. Noin 10 % homehtunutta viljaa rehun kokonaismäärästä riittää aiheuttamaan tuotantoeläinten kuolemia tai lihantuotannon hidastumista. (WHO 2000, Putuksen 2010, 40 mukaan.)



KUVIO 11. Fumonisiini B1:n kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

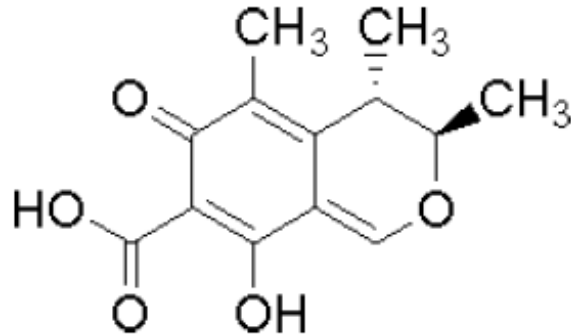
*Fusarium*illa on myös huomionarvoinen vaikutus globaaliin perusravintotuotantoon. Se kontaminoi helposti maissisatoja ja homehtuneella rehulla ruokittujen eläinten kautta ihmisiin kohdistuva mykotoksiinialtistus aiheuttaa vakavia terveyshaittoja kehitysmaissa (Putus 2010, 40).

Fusarium-toksiinit ovat yksi tutkituimmista mykotoksiiniryhmistä sekä hyvässä, että pahassa. Niitä on tutkittu kymmeniä vuosia eläinlääketieteellisistä motiiveista lähtien, mutta myös tarkoituksena kehittää kemialliseen sodankäyntiin sopivia yhdisteitä (Fung, Clark & Williams 1998, Putuksen 2010, 40 mukaan).

5.1.4 *Penicillium*-toksiinit

Sisätiloissa yleisimmin todettava ja myös kosteusvaurioissa hyvin yleinen primäärivaiheen homesieni *Penicillium* on allergisoiva home, jonka lajikirjoon kuuluu toksiineja tuottavia lajeja. (Homeet 2009, Kempaisen 2010 mukaan). *Penicillium*-suvun tuottamia toksiineja tunnetaan melko paljon. Niihin kuuluvat esimerkiksi jo vuonna 1931 löydetty kuviossa 12 kuvattu sitriniini, joka oli ensimmäisiä löydettyjä antibiootteja. Sitriniini jäi kuitenkin ottamatta lääketeollisuuden käyttöön, kun sen todettiin olevan liian voimakkaasti toksinen.

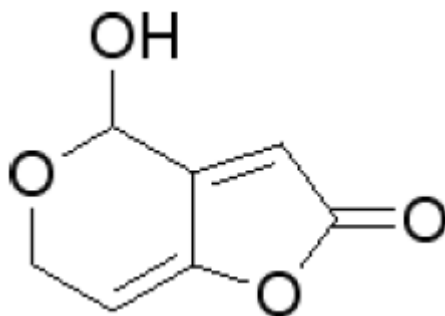
Sitriniiniä tuottavat monet *Penicillium*-suvut ja myös useat *Aspergillus*-suvut pystyvät tuottamaan sitä. Sitriniini on huomionarvoinen mykotoksiini sen aiheuttamien munuaisvaurioiden vuoksi. (Magan & Olsen 2004, 420–425.)



KUVIO 12. Sitriniinin kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

Monet *Penicillium*-suvun homeet pystyvät tuottamaan myös sitreoviridiiniä, joka elimistöön joutuessaan saattaa vahingoittaa keuhkoja ja verenkiertoelimistöä ja aiheuttaa sisäistä verenvuotoa, halvausoireita, kouristuksia sekä pahoinvointia. Myös *Penicillium expansum*in tuottaman kuviossa 13 kuvatun patuliinitoksiinin tiedetään aiheuttavan sisäisiä verenvuotoja, erityisesti ruoansulatuselimistössä. (Magan & Olsen 2004, 420–425.)

Muita *Penicillium*-suvun tuottamia mykotoksiineja ovat esimerkiksi okratoksiini, roquefort c, penitrem A, patuliini, rubratoksiini, mykofenolihapo, gliotoksiini, penisilliinihapo, sekalonihappo ja spinulosiini (Magan & Olsen 2004, 420–425).



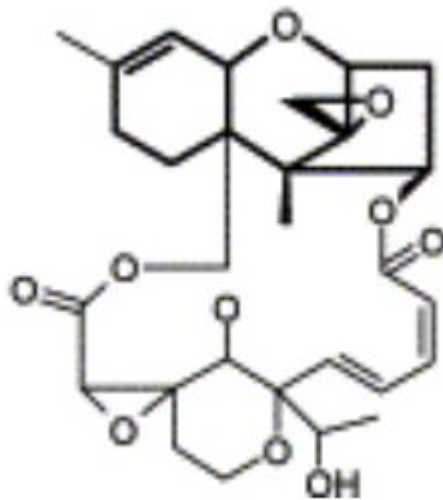
KUVIO 13. Patuliinin kemiallinen rakenne (Lerda 2010)

Yleisellä tasolla *Penicillium* tuottaa toksiineja, jotka vaikuttavat hermoston toimintaan ja aiheuttavat pahoinvointia sekä oksentelua (Putus 2010, 18). Useiden toksiinien, kuten esimerkiksi sitriniinin ja penisilliinihapon, on myös todettu

olevan karsinogeenisia, eli aiheuttavan syöpää (Cole & Cox 1981, Hintikan ym. 1998, 2172 mukaan).

5.1.5 *Stachybotrys*-toksiinit

Kosteusvaurioindikaattorimikrobiksi luokiteltu *Stachybotrys chartarum* (*Stachybotrys atra*) on eniten tutkittuja ja parhaiten tunnettuja kosteusvaurioissa esiintyvistä homesienilajeista. Se tuottaa tyypillisesti makrosykliseksi trikotekeeneiksi kutsuttuja toksiineja, joiden kemialliselle rakenteelle on ominaista akrosyklinen rengasrakenne. Makrosykliset trikotekeenit ovat myrkyllisempiä kuin yksinkertaiset trikotekeenit. *Stachybotrys chartarum* tuottaa muun muassa kuviossa 14 kuvattuja satratoksiineja, isosatratoksiineja, verrukariinia, roridiinia ja isororidiinia, jotka ovat kaikki makrosyklisiä trikotekeenejä. (Jarvis, Salemmes & Morrais 1995, Hintikka ym. 1998, 2172–2173 mukaan.)



KUVIO 14. Satratoksiini G:n kemiallinen rakenne (Sudakin 2003)

Tyypillisiä *Stachybotrys chartarum*in kontaminoiman sisäympäristön aiheuttamia oireita ovat muun muassa päänsärky, väsymys, nuha, hengityselinten limakalvoärsytys ja iho-oireet (Johanning, Biagini, Hull, Morey, Jarvis & Landsbergis 1996, Hintikan ym. 1998, 2173 mukaan). Esimerkiksi korjaustöiden yhteydessä *Stachybotryksen* saastuttaman materiaalin käsittelyn on todettu aiheuttaneen palovammaa muistuttavia ihovaurioita, vaikeita silmävaurioita,

nenäverenvuotoa, veriyskää, verenkuvanmuutoksia ja voimakasta hengityskipua (Putus 2010, 48–49).

*Stachybotrys chartarum*in kontaminoima rehu aiheuttaa vakavia myrkytyksiä myös tuotantoeläimille. Erityisesti hevoset kärsivät *Stachybotrys chartarum*in toksiinien aiheuttamasta Stakybotryotoksikoosista, joka vakavissa tauksissa johtaa eläinten kuolemaan. (Hintikka 1978, Hintikan ym. 1998, 2173 mukaan.)

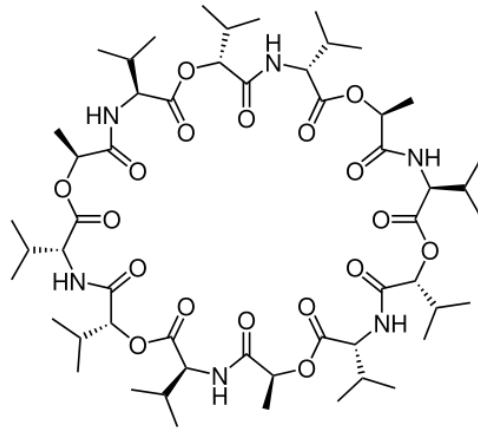
Stachybotryksen tuottamien toksiinien myrkyllisyydestä kertoo 1980-luvulla taltioitu kuvaus tapahtumasarjasta, jossa *Stachybotryksen* saastuttamassa asuinrakennuksessa asunut perhe sairastui vakavasti, kärsien muun muassa toistuvista hengitystietulehduksista, kurkkukivusta, ripulista, päänsärystä, ihottumasta, hiustenlähdistä ja yleisestä pahoinvoinnista. Asunnosta otetuista materiaalinäytteistä valmistetun uutteen myrkyllisyyttä testattiin antamalla sitä hiirille ja rotille, jotka kuolivat vuorokauden kuluessa vakaviin aivo-, sydän- ja sisäelinvaurioihin sekä sisäisiin verenvuotoihin. (Croft, Jarvis & Yatawara 1986, Putuksen 2010, 48 mukaan.)

5.2 Bakteritoksiinit

Kosteusvaurioituneissa rakenteissa itselleen sopivaa elintilaa löytävistä mikro-organismeista bakteerit aineenvaihduntatuotteineen ovat pitkään olleet haitallisuudeltaan aliarvioituja. Tutkimustyön edistyessä on kuitenkin käynyt selväksi, että bakteritoksiineilla on keskeinen rooli kosteusvaurioituneissa rakennuksissa elävien ja työskentelevien ihmisten sairastumisessa (Ruukki 2003, 20–25). Kaikki toistaiseksi kosteusvauriokohteista tunnistetut sisäilmassa esiintyvät mikrobiksiinit ovat rasvaliukoisia, kuumennuksen kestäviä ja kemiallisesti stabiileja eivätkä desinfiointiaineet poista niiden myrkyllisyyttä (Horppu 2008, 7). Määrällisesti bakteerit muodostavat enemmistön kosteusvaurioituneen rakenteen mikrobeista (Ruukki 2003, 20–25).

Esimerkiksi erään tutkimuksen yhteydessä homevaurioista kärsivistä taloista kerätyistä näytteistä eristetty *Streptomyces griseus* kykenee tiettyjen muiden *Streptomyces*-bakteerien ohella tuottamaan erittäin voimakasta valinomyysiini-

nimistä myrkyä, joka käy erinomaisesti esimerkiksi bakteerimyrkkyjen vaarallisuudesta (Ruukki 2003, 20–25).



KUVIO 15. Valinomysiinin kemiallinen rakenne (Wikimedia Commons)

Kuviossa 15 kuvattu valinomysiini on hyvin hitaasti hajoava yhdiste, joka säilyy huonepölyssä vuosikausia ja on erittäin vaikeasti poistettavissa tai tuhottavissa (Horppu 2008, 8). Koska valinomysiini on kemiallisesti erittäin kestävä yhdiste, sitä ei voi tuhota pakastamalla, keittämällä, hapoilla, emäksillä tai liuottimilla (Andersson ym. 1998a, Salkinoja-Salosen 2009, 70 mukaan). Näin ollen sitä on mahdoton poistaa millään pesumenetelmällä normaaleista asuinympäristöistä. Sisätiloissa valinomysiini käyttäytyy todennäköisimmin siten, että se imeytyy synteettisiin tekstiileihin ja muoveihin, joista se sitten ajan kuluessa mahdollisesti aerolisoituu rakennuksen sisäilmaan. Koska bakteeri on tottunut kasvamaan paperi- ja puumateriaalissa, ei klooripesukaan todennäköisesti auta. Ainoa keino päästä eroon irtaimistoon tai rakennusmateriaaliin pinttyneestä valinomysiinistä on saastuneen materiaalin totaalinen poistaminen. (Salkinoja-Salonen 2009, 70).

Myöskään ihmiskeho ei pysty vastustamaan valinomysiinin kaltaista rasvaliukoista yhdistettä, joka kykenee läpäisemään ihon ja limakalvot. Elimistössä valinomysiini toimii mitokondriomyrkkynä tehden mitokondriokelmun kaliumioneja läpäiseväksi ja saaden aikaiseksi solun sisäisen itsetuhoprosessin eli apoptoosin. (Salkinoja-Salonen 2009, 5.) Rasvaliukoiset myrkyt ovat luonteeltaan elimistöön kertyviä. Ne poistuvat elimistöstä hyvin hitaasti.

Bakteereista sekundäärimetaboliitteja ja toksineja tuottavat erityisesti aktinomykeetit, mutta myös muut bakteerit voivat tuottaa ihmiselle haitallisia yhdisteitä. Tällainen on esimerkiksi *Bacillus cereuksen* tuottama maailman myrkyllisin bakteeritoksiini kereulidi, joka löydettiin suomalaisten ja japanilaisten tutkijoiden toimesta 1990-luvulla (Horppu 2008, 7).

Kereuliditoksiini muistuttaa rakenteeltaan valinomysiiniä ja sillä on paljon samoja ominaisuuksia. Mitokondriomyrkkynä se on valinomysiiniäkin vahvempi ja vastaa rasvaliukoisuudeltaan dioksiineja. (Salkinoja-Salonen 2009, 70.)

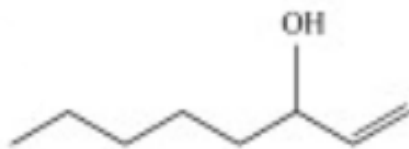
Tutkimuksissa kereulidia on löydetty muun muassa kouluilmasta ja -pölystä (Andersson ym. 1999b, Salkinoja-Salonen 2009, 70 mukaan). Kereulidimyrkytys voi johtaa vakavaan maksavaurioon tai jopa kuolemaan. Kereulidin tiedetään myös vaikuttavan ihmisen immuunipuolustusta lamaavasti. Sen uskotaan lisäksi vaikuttavan sydänlihaksen, hermoston ja haiman toimintaan. (Horppu 2008, 8.)

Tällä hetkellä kosteusvauriorakenteista otettujen näytteen analyysissä keskitytään bakteerien osalta lähinnä aktinobakteereiden löytämiseen. Tulisi kuitenkin suhtautua yhtä vakavasti esimerkiksi *Bacillus cereus* -bakteerin esiintymisen todentamiseen (Salkinoja-Salonen 2009, 71). Bakteerien aineenvaihdunnassaan tuottamia keittämisen kestäviä stabiileja toksineja on toistaiseksi maailmanlaajuisestikin tutkittu hyvin vähän (Horppu 2008, 7). On todennäköistä, että on monia haitallisia bakteeriryhmiä, joita ei vielä osata etsiä kosteusvaurioituneesta materiaalista, koska niiden haitallisuutta ei tarkkaan tunneta tai ole kokeellisesti todistettu. Esimerkiksi *Bacillus subtilis* ja *Bacillus licheniformis* kykenevät tuottamaan lipopeptidejä, jotka vaurioittavat solukalvoja (Salkinoja-Salonen 2009, 5).

Fysikaalisiin peruslakeihin pohjautuvassa ja kemialliselle perustalle rakentuneessa ihmisen biologisessa maailmassa bakteerit kunnostautuvat niin hyvässä kuin pahassa. Esimerkiksi monet *Streptomyces*-sukuun kuuluvat bakteerit tuottavat myös ihmisille tarkoitettujen lääkeaineiden keskeisiä yhdisteitä, esimerkiksi antibioottina käytettävää linkomysiiniä.

5.3 MVOC-yhdisteet

Kasvaessaan mikrobit tuottavat monia erilaisia aineenvaihduntatuotteita. Mikrobin aineenvaihdunnasta peräisin olevista haihtuvista orgaanisista yhdisteistä käytetään lyhennettä MVOC niiden englanninkielisen yleisnimityksen ”microbial volatile organic compounds” mukaan. (Asumisterveysopas 2009, 151; Leivo 1998, 53.) Näiden yhdisteiden tuotantoon vaikuttavat muun muassa kasvualusta, mikrobilaji ja sen kasvuvaihe. Monet mikrobin tuottamat MVOC-yhdisteet ovat samoja kuin kemikaaliperäiset haihtuvat orgaaniset yhdisteet, joista käytetään vastaavasti lyhennettä VOC. Muutamit haihtuvat orgaaniset yhdisteet vaikuttaisivat kuitenkin olevan luonteenomaisia nimenomaan mikrobikasvulle. Tällaisia MVOC-yhdisteitä ovat esimerkiksi kuviossa 16 kuvattu 1-okten-3-oli, 3-oktanoli, 2-metyyli-isoborneoli ja geosmiini. (Leivo 1998, 53.)



KUVIO 16. 1-okten-3-olin kemiallinen rakenne (Herrero-Garcia, Garzia, Cordobés, Espeso & Ugalde 2011, 396)

Koska useimmilla VOC-yhdisteillä on siis myös muita kuin mikrobiperäisiä lähteitä, ei Asumisterveysohjeessa voida antaa tulkintaohjeita MVOC-indikaattoriyhdisteistä, jotka viittaisivat rakennuksessa esiintyvään mikrobikasvustoon. Tästä syystä MVOC-mittauksia ei myöskään voida käyttää mikrobikasvuston aiheuttaman terveyshaitan tai kosteusvaurion seurauksena saastuneen materiaalin osoittamiseen. (Asumisterveysopas 2009, 151.)

Kosteusvaurion seurauksena mikrobikasvustoa voi vuosien aikana alkaa kehittyä rakenteiden sisällä ilman, että sisäpinnoilla olisi havaittavissa merkkejä vauriosta. Sellaisessa tapauksessa homeinen, maakellarimainen tai tunkkainen haju voi viitata rakenteiden sisällä oleviin mikrobikasvustoihin. Kosteusvauriokohteessa tavattava homeen haju aiheutuu nimenomaan mikrobin tuottamista haihtuvista

orgaanisista yhdisteistä. (Asumisterveysopas 2009, 151.) Esimerkiksi geosmiini haisee selkeästi “maakellarille” (Leivo 1998, 53).

Toisinaan tunkkaista hajua ei aistita jatkuvasti, vaan ainoastaan ajoittain. Tämä johtuu siitä, että hajua tuottavien aineenvaihduntatuotteiden muodostus riippuu muun muassa mikrobien aktiivisesta kasvuvaiheesta. Myös rakennuksen ilmanvaihdon toiminta ja ulkoiset tekijät, kuten esimerkiksi säätila, voivat osaltaan vaikuttaa hajun voimakkuuteen. Aistitulla homeen tai maakellarin hajulla on siis merkitystä mikrobikasvuston toteamisessa ja paikantamisessa. (Asumisterveysopas 2009, 151.) Toisaalta haju voi olla vain merkki siitä, että lähiympäristössä on materiaalia, joka on ollut homeisessa ympäristössä (Leivo 1998, 53). Lisäksi on syytä painottaa, että kaikki kosteusvauriomikrobien kehittämät aineenvaihduntatuotteet eivät ylipäätään ole aistittavissa hajuaistin perusteella.

MVOC-yhdisteiden esiintyminen ja niiden pitoisuus kosteusvauriorakennuksen sisäilmassa riippuu kohteessa kasvavista mikrobeista, niiden kasvupaikoista ja niiden kasvuvaiheista. Esimerkiksi Matysik, Herbarth & Mueller (2008, 182–187) tutkivat kuuden eri homesienilajin (*Penicillium expansum*, *P. chrysogenum*, *Aspergillus versicolor*, *A. fumigatus*, *A. niger* ja *Cladosporium cladosporoides*) MVOC-tuotantoa usean viikon mittaisen koejakson aikana. Kun kasvatusalustana käytettiin kostunutta tapettia, kaikki lajit tuottivat 2-pentanolia ja 2-pentanonia sekä *P. expansiumia* lukuunottamatta myös 1-okten-3-olia. Yhdisteistä 2-pentanoli oli havaittavissa vain ensimmäisten kasvupäivien aikana, kun sen sijaan 1-okten-3-olin tuotanto oli melko tasaista koko kasvatusajan. Osa MVOC-yhdisteistä oli mikrobispesifisiä. Näihin kuului esimerkiksi *A. versicolor* -homesienen tuottama 1,3-dimetoksibentseeni. (Matysik ym. 2008, 182–187.)

On tärkeää selvittää erilaisilla rakennusmateriaaleilla kasvavien homesienten tuottamat MVOC-yhdisteet, sillä niiden koostumus riippuu pitkälti kasvatusalustasta. On huomion arvoista, että kun homesieniä viljellään kasvatusmaljoilla laboratorio-olosuhteissa, ne tuottavat eri haihtuvia aineenvaihduntatuotteita kuin rakennusmateriaaleilla kasvavat homeet (Matysik ym. 2008, 182; Wilkins, Larsen & Simkus 2000, 437).

MVOC-yhdisteiden on oletettu aiheuttavan osan kosteusvaurioituneissa rakennuksissa asuvien tai oleskelevien ihmisten sairausoireista. Eksaktia tutkimustietoa MVOC-yhdisteiden vaikutuksesta terveyteen on niukasti saatavilla. (Pasanen, Korpi, Kasanen & Pasanen 1998, 704.) Yksittäisillä MVOC-yhdisteillä (esimerkiksi 1-okten-3-oli) on kuitenkin osoitettu olevan genotoksisia eli DNA:ta vahingoittavia vaikutuksia (Seidel & Plappert 1999, Fiedlerin, Schützin & Gehnin 2001, 111 mukaan). Vähäisen tutkimustiedon valossa näyttäisivät kosteusvauriorakennuksen sisäilman MVOC-pitoisuudet olevan niin pieniä, että ne eivät riitä yksinään aiheuttamaan ihmiselle merkittäviä terveyshaittoja. (Pasanen ym. 1998, 704–704.) Paljon haitallisempia ovat kosteusvauriomikrobien toksiinit. Tulevaisuudessa tehtävän tutkimuksen tehtäväksi jää selvittää MVOC-pitoisuuksien sisäilmasta mittaamisen hyödyllisyys menetelmänä kosteusvaurion osoittamiseksi rakennuksessa.

TAULUKKO 2. Esimerkkejä MVOC-yhdisteistä

| Kemiallinen ryhmä | Yhdisteet | Viite |
|-------------------|-----------------------|--|
| Alkoholit | 1-okten-3-oli | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008, Polizzi ym. 2012, Rantamäki ym. 2000, Wilkins ym. 2000 |
| | 2-metyyli-1-butanoli | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008 |
| | 2-metyyli-1-propanoli | Wilkins ym. 2000 |
| | 2-metyyli-isoborneoli | Polizzi ym. 2012, Wilkins ym. 2000 |
| | 2-pentanoli | Matysik ym. 2008 |
| | 2-propanoli | Wilkins ym. 2000 |
| | 3-oktanoli | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008 |
| | 3-metyyli-1-butanoli | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008, Rantamäki ym. 2000 |
| | geosmiini | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008, Polizzi ym. 2012 |
| | Eetterit | anisoli |
| 3-metyylianisoli | | Matysik ym. 2008, Wilkins ym. 2000 |

| | | |
|----------------|---------------------------------------|--|
| | 1,3-dimetoksibentseeni | Matysik ym. 2008 |
| Furaanit | 3-metyylifuraani | Fiedler ym. 2001, Wilkins ym. 2000 |
| Ketonit | 3-oktanoni | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008, Polizzi ym. 2012, Rantamäki ym. 2000, Wilkins ym. 2000 |
| | 2-pentanoni | Matysik ym. 2008 |
| | 2-oktanoni | Matysik ym. 2008 |
| | 2,4-pentaanidioni | Matysik ym. 2008 |
| Terpeenit | isopreeni | Fiedler ym. 2001 |
| | α -pineeni ja β -pineeni | Rantamäki ym. 2000, Wilkins ym. 2000 |
| | limoneeni | Rantamäki ym. 2000 |
| | seskviterpeenit | Fiedler ym. 2001, Matysik ym. 2008, Wilkins ym. 2000 |
| Rikkiyhdisteet | dimetyylisulfidi | Fiedler ym. 2001 |
| | dimetyylidisulfidi | Fiedler ym. 2001, Wilkins ym. 2000 |

6 KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN JA NIIDEN AINEENVAIHDUNTATUOTTEIDEN NÄYTTEENOTTOMENETELMÄT

Tässä luvussa esittelen kenttätöissä yleisesti käytössä olevat menetelmät näytteiden ottoon kosteusvauriokohteissa. Pyrin käytettävissä olevan tiedon puitteissa pohtimaan käytäntöjen tämänhetkisiä ongelmakohtia ja mahdollisuuksien mukaan tekemään parannusehdotuksia. Lisäksi esittelen tällä hetkellä kehityksasteella olevia menetelmiä.

Mikrobiologisen näytteenoton tarkoitus on selvittää mahdollisen mikrobikasvuston olemassaolo rakennuksessa. Näytteenotto saattaa myös auttaa paikallistamaan ja rajaamaan kasvuston sijaintia. Mikrobiologisen näytteenoton merkitys korostuu erityisesti, kun epäiltyä kosteusvauriota ei voida havaita silmämääräisesti, mutta muut tekijät, kuten esimerkiksi rakennuksen historia, rakennuksessa vallitseva huono sisäilman laatu tai asukkaiden oireilu viittaavat sen olemassaoloon. Tyypillisesti mikrobiologisia näytteitä otetaan rakennusmateriaaleista, tilan pinnoilta ja sisäilmasta. (Viljanen ym. 1997, 26.)

Kosteusvaurioituneessa tai kosteusvauriosta kärsiväksi epäillyssä rakennuksessa tulee mikrobiologisen näytteenoton yhteydessä suorittaa yleisen tason arviointi vallitsevista fysikaalisista olosuhteista. Tässä arvioinnissa olennaisia tekijöitä ovat sisäilman lämpötila, ilmankosteus, rakennuksen ilmanvaihdon kapasiteetti ja kunto sekä käytettyjen rakennusmateriaalien mahdollinen vaikutus. (Asumisterveysohje 2003, 77.)

Näytetyyppien ja näytteenottokehtien valinta on tärkeä vaihe näytteenoton onnistumisen kannalta. Kohteen perustietojen pohjalta on pääteltävä ja paikallistettava rakennuksen riskirakenteet ja huomioitava mahdollinen kosteusvauriohistoria. Lisäksi tulee huomioida yleiset käyttö- ja huoltotiedot sekä tilan vakituisten käyttäjien havainnot ja kokemukset. (Laajoki & Lehtinen 2012, 69.) Kun kyseessä ovat asuinrakennukset ja huoneistot, olisi tärkeää kehittää standardoituja toimintamalleja vaurioiden tutkimisen alkuvaiheeseen, jotta voitaisiin taata vaurion ja sen vaatimien korjaustoimenpiteiden puolueeton arviointi. Tällä hetkellä vastapoleissa täysin erilaisin intressein ovat useimmiten

asukas ja taloyhtiö tai asunnon omistaja ja joku mahdollisista korvauksista päättävä taho.

Näytteenottomenetelmien keskeisyyden määrittely riippuu siitä painotetaanko terveys- vai korjausnäkökulmaa. Painotettaessa terveystieteellistä näkökulmaa on ilmanäytteenotto keskeisessä asemassa, sillä ihmisten kosteusvauriorakennuksissa kokemat oireet ovat usein hengitystie- tai silmäoireita, ja ongelmia aiheuttavat tekijät kulkeutuvat ihmisen elimistöön enimmäkseen hengitysilman välityksellä. Kun näytteenotto suoritetaan painottaen kosteusvaurion korjausnäkökulmaa, ovat ensisijaisia menetelmiä pinta- ja materiaalinäytteiden ottaminen. Pinta- ja materiaalinäytteet kertovat mahdollisuudesta altistua homeiden ja bakteerien myrkyllisille aineenvaihduntatuotteille, mutta eivät suoraan altistumisesta. Pinta- ja materiaalinäytteet auttavat myös suoraan paikallistamaan akuutin kosteusvaurioituneen alueen ja rajaamaan sen. (Leivo 1998, 87.) Pyrittäessä ratkaisemaan kokonaisvaltaisesti ja vastuullisesti kaikki kosteusvauriosta syntyneet ongelmat, tulisi näytteenottoimenpiteiden suunnittelussa huomioida tasapainoisesti kummatkin edellä mainitut näkökohdat. Oheinen taulukko 3 kuvaa näytteenottoimenpiteitä erilaisiin tarkoituksiin.

TAULUKKO 3. Näytteenoton syyt ja näytetyypit (Meklin, Putus, Hyvärinen, Haverinen-Shaughnessy, Lignell & Nevalainen 2007, 18)

| NÄYTTEENOTON SYY | NÄYTTEET |
|--|---|
| Mikrobikasvuston varmistaminen tai poissulkeminen | Pinta- ja/tai materiaalinäytteet Useita näytteitä eri materiaaleista, eri vauriokohdista ja vauriottomista kohdista |
| Vaurion laajuuden selvittäminen | Pinta- ja/tai materiaalinäytteet Useita näytteitä materiaaleista Useita näytteitä epäillyn vaurioalueen eri kohdista |
| Vauriot eivät näkyviä, mutta vaurioepäily esimerkiksi käyttäjien oireilusta johtuen | Ilmanäytteet Useita näytteitä rakennuksen eri osista ja tiloista, vähintään 10–12 näytettä |
| Korjausten onnistumisen seuranta | Ilmanäytteet tai pintanäytteet Samalla tavoin ja samaan vuodenaikaan ennen ja jälkeen korjausten |

Tärkeä osa näytteenottotapahtumaa on myös vertailunäytteiden ottaminen vaurioitumattomasta ja kuivasta materiaalista tai pinnalta. Niiden avulla voidaan päätellä tutkittavan tilan taustapitoisuudet myöhempää näyteanalyysien tulkintaa varten. (Asumisterveysopas 2009, 155.)

Mielestäni kokonaisvaltaisesti toimiva epäilyn tai todetun kosteusvauriokohteen tutkimuskäytäntö sisältää seuraavat vaiheet seuraavassa järjestyksessä:

1. Fysikaalisten tekijöiden kartoitus ja mittaaminen
2. Mikrobiologinen näytteenotto
3. Otettujen näytteiden analysointi
4. Saatujen tietojen analysointi
5. Tulosten raportointi

Yllämainituista vaiheista keskityn tässä luvussa käsittelemään mikrobiologista näytteenottoa ja sen menetelmiä.

6.1 Pintanäytteet

Kovat materiaalit muodostavat luonnollisen kohteen pintanäytteenotolle tutkimusmenetelmänä. Tyypillisiä sisätilojen pintanäytteenottoon sopivia rakennus- ja sisustusmateriaaleja ovat esimerkiksi betoni, kaakeli, muovi, puu sekä tapetti- ja maalipinnat. Jotta näytteistä saadaan riittävän edustavia, tulee ottaa useita näytteitä vaurioituneen alueen eri kohdista. Jos vaurioalueella on tai epäillään olevan useampia kontaminoituneita rakennusmateriaaleja, tulee jokaisen materiaalin pinnalta ottaa näytteitä. (Asumisterveysopas 2009, 155.)

Pintanäytteenotolle on monia syitä. Ensinnäkin pyritään varmistamaan ja tunnistamaan lajitasolla tai sulkemaan pois pinnan kosteusvauriosta kertova mikrobikasvusto. Jos kosteusvauriokohdan sijaintia rakennuksessa ei tunneta, voidaan vaurioitumattomista kohdista otetuilla pintanäytteillä saada tietoa mahdollisen kosteusvaurion olemassaolosta ja laajuudesta. Toiseksi pintanäytteenotosta saattaa olla hyötyä pyrittäessä arvioimaan sisäilman mikrobistoa ottamalla näytteitä huonetilaan rajoittuvilta pinnoilta. (Sisäilmayhdistys 2008e.) Esimerkiksi voidaan hyödyntää pintasivelymenetelmää,

jonka avulla tutkitaan hengitysvyöhykkeelle tai sitä korkeammalla sijaitseville pinnoille laskeutunutta pölyä. Näin pyritään muodostamaan kuvaa rakennuksen hengitysvyöhykkeellä ilmenneen pölyn laadusta. (Salkinoja-Salonen 2002, 705.) Kolmanneksi voidaan pyrkiä arvioimaan mikrobien siirtymistä varsinaisesta kosteusvauriokohdasta rakennuksen sisäilmaan ja pinnoille. Tässä yhteydessä kannattaa huomioida erityisesti vuotoilmareittien kohdalta otettavien pintanäytteiden merkitys.

On huomioitava, että sulan maan aikana ulkoilma sisältää sellaisenaan huomattavan määrän mikrobeja, mikä vaikuttaa suoraan rakennuksen sisällä vallitsevaan mikrobistoon (Sisäilmayhdistys 2008e). Sääolojen ja vuodenaikojen vaihtelu ei kuitenkaan ole yhtä merkittävä tekijä pinta- kuin ilmanäytteenotossa. Tällä hetkellä pintanäytteitä katsotaan voitavan ottaa minä vuodenaikana hyvänsä. Lisäksi pintanäytteenotto on hyvä menetelmä pyrittäessä näytteistä tehdyn analyysin pohjalta laatimaan todettujen kosteusvaurioiden kunnostussuunnitelmia sekä ilmanäytteenoton lisäksi korjaustoimenpiteiden onnistumisen seurantaan. (Meklin ym. 2007,18).

Yleisin pintanäytteenottomenetelmä on tutkittavan pinnan sively steriiliin nesteeseen kostutetulla vanupuikolla. Käytettävästä kasvatusmenetelmästä riippuen näyte siirretään välittömästi sivelyn jälkeen joko näytteenottopuikolla sivelemällä kasvatusalustalla olevan elatusaineen pinnalle (suoraviljelymenetelmä) tai vanupuikko laitetaan sellaisenaan puskuriliuosta sisältävään koeputkeen (laimennossarjamenetelmä). (Leivo 1998, 88; Sisäilmayhdistys 2008e.) Jos pinta on kova ja sileä, voidaan pintanäytteitä ottaa myös kontaktimaljalla. Näytteenoton jälkeen näytteet toimitetaan laboratorioon jatkokäsittelyä varten. Ohjeistus pintanäytteenottoon löytyy sosiaali- ja terveysministeriön julkaisemasta Asumisterveysohjeesta (2003, 75).

Edellä mainituilla menetelmillä ei saada esiin viljelykelvotonta kuollutta mikrobikasvustoa, joka saattaa kuitenkin aiheuttaa tilassa asuville tai työskenteleville ihmisille sairausoireita. Haluttaessa tutkia kuolleesta mikrobikasvustosta otettua näytettä voidaan turvautua suoramikroskopointiin, jolloin tutkittavalta alueelta otetaan teippinäyte. (Meklin ym. 2007, 19)

Teippimenetelmässä käytetään tavallista teippiä, jonka avulla kosteusvauriosta kärsivän sisätilan pinnoilta kerätään niillä kasvavia tai niille laskeutuneita mikrobisoluja. On oletettavaa, että teippiin tarttuu enimmäkseen homesienten- ja aktinobakteerien itiöitä, jotka kasvustot ovat valmiit levittämään ilmaan, joskaan ei ole tutkittu kuinka tehokkaasti esimerkiksi sienirihmasto saadaan tartutettua teippiin materiaalin pinnalta. (Miettinen 2012, 12.) Teippimenetelmä soveltuu parhaiten kovien materiaalien pinnalta otettavaan näytteenottoon (Miettinen 2012, 4).

Myös yleisellä tasolla voidaan todeta, että pintanäytteenotto soveltuu parhaiten koville ja sileille pinnoille eikä se vaurioita tutkittavia rakenteita. Pintanäytteenotto on helppo ja nopea menetelmä, joka antaa usein hyödyllistä tietoa kokonaisvaltaisen vaurioselvityksen tueksi. Jos materiaali ei ole kovapintaista tai vaurioitunut rakenne on joka tapauksessa avattu on suositeltavaa ottaa materiaalinäytteitä. (Meklin ym. 2007, 19.) Tällaisessakin tapauksessa pintanäytteenotolla voidaan pyrkiä selvittämään missä määrin vauriokohdasta on levinnyt ympäristöön mikrobeja.

6.2 Materiaalinäytteet

Kun kosteusvaurio on tai sen epäillään olevan huokoisessa ja helposti hienonnettavassa materiaalissa, suositellaan materiaalinäytteenottoa. Tyypillisiä tällaisia rakennusmateriaaleja ovat esimerkiksi betoni, tiili, puu, lastulevy, kipsilevy, eristeet, tasoitteet ja tapetti. (Asumisterveysopas 2009, 156.)

Materiaalinäyte otetaan kosteusvaurioituneesta tai vaurioituneeksi epäillystä rakennusmateriaalista pyrittäessä paikantamaan ja rajaamaan vaurioalue. Materiaalinäytteenottomenetelmää käytetään erityisesti silloin, kun muut menetelmät eivät anna riittävästi tietoa materiaalin mikrobikasvuston osoittamiseksi. (Sisäilmayhdistys 2008e.)

Jotta saadaan mahdollisimman edustava kuva tutkittavan alueen kunnosta, tulee materiaalinäyte ottaa useasta kohdasta kosteusvaurioituneelta alueelta. Yksittäinen näyte otetaan noin 10 cm x 10 cm laajuiselta alueelta. Materiaalin ollessa erityisen huokoista kerätään näytettä n. 200–300 cm³. Suositeltava näytteenottosyvyys on

noin 0,1–0,5 cm materiaalin pinnasta. Tarvittaessa voidaan irrottaa vain materiaalin silmämääräisesti kontaminoitunut osa. Jos materiaalinäyte otetaan poraamalla, on huolehdittava siitä, että näyte ei kuumene liikaa.

(Asumisterveysohje 2003, 80.) Näytteenottovälineiden tulee olla puhtaita ja itse näytteenottotapahtumassa edetään mahdollisuuksien mukaan terveemmistä rakenteista kohti pahemmin saastuneita, jotta vältettäisiin näytteiden keskinäinen kontaminaatio (Leivo 1998, 88; Sisäilmayhdistys 2008e). Mikrobiologisia tutkimuksia varten materiaalinäytettä tarvitaan vähintään yksi gramma (Sisäilmayhdistys 2008e). Materiaalinäyte otetaan puhtaaseen ja tiivisti suljettavaan muovipussiin ja toimitetaan vielä samana päivänä laboratorioon selkein merkinnöin varustettuna (Asumisterveysohje 2003,74).

Kun halutaan tutkia näytteen mahdollisesti sisältämiä viljelyskelvottomia (kuolleita) mikrobeita, on materiaalinäytteen analysoinnissa suositeltavaa käyttää suoramikroskopointia. Kuolleet mikrobit ja kuivuneet rihmastokappaleet voivat aiheuttaa edelleen emissioita sisäilmaan. Suoraa mikroskopointia on syytä käyttää erityisesti silloin, kun kosteusvaurioitunut materiaali on jo kuivunut. (Asumisterveysohje 2003,74).

Materiaalinäytteen oikealla näytteenottotavalla ja kohdalla on oleellinen merkitys tulosten luotettavuudelle ja tutkimuksen onnistumiselle. Asumisterveysohjeessa (2003, 80) on yksityiskohtaiset ohjeet materiaalinäytteenottoon.

6.3 Ilmanäytteet

Kun on tarkoitus nimenomaan arvioida kosteusvaurioituneissa olosuhteissa asuneiden tai työskennelleiden henkilöiden altistumisen tasoa, suositellaan ilmanäytteenottoa. Ihmiset altistuvat kosteusvauriomikrobeille ja niiden aineenvaihduntatuotteille ensisijaisesti ilman välityksellä. Ilmanäyte antaa tietoa siitä, mitä mikrobeja tai niiden haitallisia aineenvaihduntatuotteita tilassa esiintyy ja voi näin ollen siirtyä asukkaiden tai työntekijöiden limakalvoille ja hengitysteihin. (Sisäilmayhdistys 2008e.)

Sisäilmasta etsitään mikrobiperäisiä epäpuhtauksia, jotka voidaan pääpiirteittäin jakaa aerosoleihin, MVOC-yhdisteisiin ja toksiineihin. Aerosoleihin kuuluvat

muun muassa ilmassa leijuvat itiöt ja itiöiden osat sekä usein leijuviin kiinteisiin hiukkasiin kiinnityneet toksiinit. On huomattava, että sisäilma sisältää myös muita kuin mikrobiperäisiä epäpuhtauksia, kuten esimerkiksi monista eri lähteistä peräisin olevaa huonepölyä ja kemikaaliperäisiä VOC-yhdisteitä.

Ilmanäytteet otetaan asuin- tai työtiloista, joissa epäillään olevan kosteusvaurio. Tilassa esiintyvien mikrobien määrää voidaan mitata joko huoneen yleisilmasta tai erityisesti hengitysvyöhykkeeltä. On myös mahdollista keskittää näytteenotto ilmanvaihdon kannalta keskeisiin kohtiin, kuten esimerkiksi tuloilmalähteiden läheisyyteen. Tarvittavat vertailunäytteet tulee ottaa vaurioitumattomasta rakennuksen osasta, jossa ihmiset eivät oirele. (Sisäilmayhdistys 2008e.) Vertailunäytteitä tarvitaan, koska toistaiseksi ei ole olemassa kenttäolosuhteissa tai muuallakaan toimivaa laitteistoa, joka kykenisi absoluuttisella tarkkuudella analysoimaan sisäilman laadun. Jouduttaessa turvautumaan vertailunäytteistä saatavaan lisäinformaatioon ei aina ole mahdollista varmuudella tietää, onko näytteenottoon valittu tila varmasti vaurioitumaton.

Ilmanäytteenotto suositellaan tehtäväksi talvella, koska ulkoilman mikrobipitoisuus on silloin pieni eikä vaikuta merkittävästi sisäilman mikrobipitoisuuteen. Mikäli ilmanäytteet otetaan sulan maan aikana, on otettava vertailunäyte myös ulkoilmasta. (Sisäilmayhdistys 2008e.)

Tyypillinen käytäntö ilmanäytteenottoon on mitata elinkelpoisten leijuvien itiöiden määrä RCS- tai Andersen-menetelmää käyttäen. Haluttaessa selvittää ilman kokonaisitiömäärä (myös kuolleet itiöt) voidaan käyttää esimerkiksi Air-O-Cell-, VersaTrap-, Allergenco- ynnä muita vastaavia menetelmiä. (MBL 2007.) Ilmanäyte voidaan myös kerätä pumpun avulla suodattimelle ja analysoida siihen kertyneet hiukkaset pyyhkäisyelektronimikroskoopilla (SEM). Kyseinen SEM-menetelmä soveltuu myös hyvin kokonaisitiömäärän laskemiseen. (Leivo 1998, 90.)

Asumisterveysoppaassa (2009, 158) suositellaan ilmassa esiintyvien mikrobien näytteenottoon käytettäväksi ensisijaisesti Andersen 6- tai 2-vaiheimpaktoria. Otettaessa ilmanäytteitä on tärkeää noudattaa eri keräysmenetelmille tarkoitettuja

näytteenotto-, analysointi- sekä tulosten tulkintaohjeita. (Asumisterveysopas 2009, 158.)

Usein ilmanäyteanalyysin tulokset eivät ole yksiselitteisiä, vaan vaativat asiantuntevaa tulkintaa (Leivo 1998, 89).

6.3.1 Andersen-menetelmä

Sisäilmanäytteet otetaan useimmiten Andersen-keräimellä, koska menetelmästä on paljon tutkimus- ja vertailutietoa (Sisäilmayhdistys 2008e). 1960-luvulla kehitetty 6-vaiheimpaktorikeräin (Andersen 1958, 471–484) on edelleen yleisesti käytössä oleva keräintyyppi sisäilman mikrobien näytteenotossa. 6-vaihekeräimen ohessa on Asumisterveysohjeessa (2003, 80) hyväksytty sisäilman näytteenottoon myös 2-vaihekeräin. On myös olemassa 1-vaihekeräin, jota ei Suomessa vielä ole hyväksytty viralliseksi sisäilman näytteenottolaitteeksi (Herva & Hokkanen 2012, 47).

Andersen 6-vaiheimpaktorikeräimessä on yhteensä kahdeksan keskeistä osaa, jotka ovat kuusi rei'itettyä siivilälevyä, pohja sekä imukansi. Jokaisessa siivilälevyssä on 400 reikää, joiden koko pienenee vaihe vaiheelta. Andersen-menetelmässä ilmanäyte imetään alipainepumpun avulla suoraan kammioon, jossa kasvatusaljat ovat asetettuna rei'itettyjen siivilälevyjen väliin. Levyjen reikäkoon pienentyessä ilman virtausnopeus kasvaa ja yhä pienemmät hiukkaset iskeytyvät (impaktoituvat) siivilälevyn alla olevan kasvatusaljan pintaan hitausvoiman vaikutuksesta. Keräin pystyy näin ollen jakamaan itiöt ja muut hiukkaset koon mukaan kuuteen eri luokkaan. Koon lisäksi myös itiön pintarakenne, muodostumistapa ja kehitysaste vaikuttavat siihen, mihin vaiheeseen itiöt impaktorissa joutuvat. Laitteen rakenteella pyritään mallintamaan ihmisen keuhkoja, jolloin näytteestä teoriassa pystytään päättämään kuinka syvälle keuhkoihin sisäilmassa olevat hiukkaset kulkeutuvat. (Seuri & Reiman 1996, 28; Korttinen 2010, 43; Jansson 2011, Herva & Hokkanen 2011, 16–17 mukaan.)

Koska Andersen-menetelmässä impaktorilla seulotut mikrobit kasvatetaan pesäkkeiksi lopullista analysointia varten suoraan keräysmaljoissa, tulee

kasvatusalustan tyyppi valita ennen näytteenottoa. Andersen-menetelmällä toteutettavassa sisäilmanäytteenotossa tulee erityisesti tiedostaa näytteenottoajan merkitys näytteenoton onnistumisen kannalta. Liian pitkällä näytteenottoajalla saadaan kasvatusalustalle liikaa pesäkkeitä, jolloin ne peittävät toinen toisiaan ja erottuvat huonosti. Liian lyhyellä näytteenottoajalla saatava näytemäärä voi puolestaan jäädä alle määritysrajan. (Leivo 1998, 89–90.)

Kasvatusmaljoille laskeutuneet mikrobit kasvatetaan ja tulokset ilmoitetaan pesäkelukumääränä kuutiometrissä ilmaa (pmy/m^3 eli cfu/m^3) (Seuri & Reiman 1996, 28). On kuitenkin muistettava, että tämä yksikkö ilmoittaa ainoastaan elävien ja lisääntymiskykyisten itiöiden määrän. Tästä syystä tutkittavan tilan kokonaisitiömäärä voi olla Andersen-menetelmällä saatua löydöstä suurempi.

Andersen 6-vaiheimpaktoria koskevat yksityiskohtaiset ohjeet on esitetty Asumisterveysoppaassa (2009, 158–159) ja Asumisterveysohjeessa (2003, 80–81).

6.3.2 CAMNEA-menetelmä

Suodatinkeräykseen ja akridiinioranssivärjäykseen perustuva CAMNEA-menetelmä (*engl.* Collection of airborne microorganisms on Nuclepore filters, estimation and analysis) soveltuu monenlaisiin näytteenottotilanteisiin.

Menetelmä on erityisen sopiva tilanteisiin, joissa uskotaan esiintyvän suuria itiöpitoisuuksia. (Palmgren, Ström, Blomquist & Malmberg 1986, 401.)

Menetelmää on käytetty muun muassa maatalousympäristöissä tutkittaessa ilman itiömääriä (Louhelainen, Mäkinen & Rissanen 2004, 21; Uusi-Kämpä & Rissanen 2004, 118).

Toisin kuin Andersen-menetelmää, voidaan CAMNEA-menetelmää käyttää sekä elinkykyisten itiöiden että itiöiden kokonaismäärän arviointiin. Sisäilmanäyte kerätään Nuclepore-suodattimelle, minkä jälkeen suodatinkeräyksestä saaduista mikrobeista toinen osa viljellään. Toinen osa suodatetaan uudelleen ja värjätään akridiinioranssilla. Tämän jälkeen värjätyt itiöt analysoidaan epifluoresenssimikroskoopilla. Väriaineena käytettävä akridiinioranssi ei ole

mikrobispesifinen, joten mikroskooppilaskentaan ja lajimääritykseen tarvitaan asiantuntemusta. (Palmgren ym. 1986, 401–406; Leivo 1998, 90.)

CAMNEA-menetelmällä otetusta ilmanäytteestä saadaan usein hyvin edustava, koska näytettä voidaan tarvittaessa kerätä pitkään. Ilman immunopeuden ollessa melko pieni, on vaarana, että CAMNEA-menetelmällä näytteeseen kertyneiden itiöiden määrä saattaa jäädä alle määritysrajan. (Leivo 1998, 90.)

6.3.3 Burkard-keräin

Burkard-keräin on kehitetty erityisesti ilmassa esiintyvien siitepölyhiukkasten määrän selvittämiseen (Hirst 1952, 257–265). Keräintä voidaan käyttää myös sisäilman homesieni-itiöiden kokonaispitoisuuden määrittämiseen, mutta se ei ole Suomessa yhtä yleisesti käytössä kuin Andersen-keräin.

Burkard-keräin koostuu kellolaitteen avulla pyörivästä metalliekokosta, jonka pintaan on kiinnitetty liimapintainen, tahmea nauha. Jatkuvatoiminen Burkard-keräin imee ilmaa pumpun avulla kymmenen litraa minuutissa, jolloin ilman mukana kulkeutuneet itiöt ja siitepölyhiukkaset tarttuvat nauhaan.

Siitepölyhiukkaset ja itiöt lasketaan sekä tunnistetaan mikroskopoimalla suoraan nauhalta. (Jantinen & Saarinen 2008, 4.)

On muistettava, että Burkard-näytteessä ei ole viljelymahdollisuutta, joten itiöitä pystytään tunnistamaan korkeintaan sukutasolla. Näin ollen Burkard-keräin soveltuu parhaiten tilanteisiin, joissa halutaan selvittää nimenomaan ilman kokonaisitiöpitoisuus. Burkard-keräimellä saadun näytteen tulos ilmoitetaan muodossa kpl/m³. (Turun yliopisto 2012.)

6.3.4 RCS-keräin

RCS-keräintä (Reuter Centrifugal Sampler) käytetään ilmassa esiintyvien kasvatuskäykyisten itiöiden keräämiseen jatkotutkimuksia varten.

Keskipakovoimaa hyödyntäen laite kerää roottorien avulla ilman mikrobit suoraan kasvatusalustana käytettävälle agariliuskalle. Agariliuskat inkuboidaan ja kasvatusvaiheen jälkeen muodostuneiden pesäkkeiden määrä lasketaan

liuskakohtaisesti. Tulosten perusteella määritellään pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määrä kuutiometrissä ilmaa (pmy/m^3 eli cfu/m^3). (Wüst ym. 2003, 126.)

Modernit RCS-keräimet ovat kevyitä kädessä pidettäviä laitteita, joita käytetään muun muassa ilmanlaadun rutiinitarkkailuun. Laitteen muodostama ilman virtausnopeus voi olla jopa 100 l/min. Ennen näytteenottoa tyypillisessä RCS-laitteessa voidaan kokonaisnäytemääräksi valita 1–1000 litraa ilmaa. Laitteella voidaan havaita mikro-organismeja sekä laminaarivirtausalueilla että puhdasilmahuoneissa, joissa ilman mikrobimäärän on oltava alle yksi cfu/m^3 . RCS-keräintä voidaan käyttää myös alueilla, joilla tiedetään vallitsevan suuri mikrobipitoisuus. (Labnet 2012; Wüst ym. 2003, 126) Näin ollen esimerkiksi Asumisterveysohjeen (2003, 75) mukaan RCS-keräin soveltuu kosteusvauriokohteissa suoritettavaan ilmanäytteenottoon.

Vuonna 2003 tehdyssä itävaltalaisessa tutkimuksessa vertailtiin Andersen-keräimen ja RCS-keräimen keräystehokkuutta sekä tarkoituksenmukaisuutta sisäilman homesieni-itiöiden määrittämisessä. Andersen-6-vaiheimpaktorilla saatiin tulokseksi merkittävästi suurempi määrä pesäkkeitä muodostavia yksiköitä kuin RCS-plus -keräimellä. Andersen-keräin ei ylikuormittunut yhtä nopeasti kuin RCS-keräin, joten kasvatusalustoilla oli vähemmän umpeenkasvua, jolloin saatiin puhtaampia viljelmiä. RCS-keräimen etuja puolestaan olivat sen yksinkertaisempi käsittely ja mahdollisuus muuttaa virtausnopeutta. Tutkimuksessa todettiin, että vaikka kummallakin keräimellä on etunsa ja haittansa, voivat molemmat olla hyödyllisiä ilman sieni-itiöiden näytteenotossa. (Wüst ym. 2003, 125.)

6.3.5 VOC-näytteenotto

Koska mikrobiperäiset ja kemikaaliperäiset VOC-yhdisteet ovat osittain samoja eikä ole olemassa erillisiä MVOC-näytteenottomenetelmiä, puhutaan tässä alaluvussa VOC-näytteenotosta.

Haluttaessa selvittää kosteusvauriokohteen sisäilmassa vallitseva haihtuvien orgaanisten yhdisteiden koostumus joudutaan tavallisesti ottamaan ilmanäyte laboratoriotutkimusta varten. Kerätessä VOC-yhdisteitä ilmasta voidaan käyttää

joko lyhytaikaista aktiivista tai pitkäaikaista passiivista näytteenottoa. Lyhytaikaisessa näytteenotossa näytettä kerätään adsorbentilla täytettyyn näyteputkeen ilmapumpun avulla, jolloin analyysiin valmis näyte saadaan alle tunnissa. Pitkäkestoinen passiivinen näytteenotto puolestaan perustuu prosessiin, jossa VOC-yhdisteet diffundoituvat adsorbenttiputkeen. Yleensä näytteen keräysaika on tällöin 1–3 viikkoa. (Asumisterveysopas 2009, 138.)

Näytteenottoon käytettävä adsorbentti valitaan tarkastelun kohteena olevien yhdisteiden ja käytettävän analyytin menetelmän mukaan. Yleisimmin VOC-näytteenotossa käytetään Tenax-adsorbenttia, mutta ilmanäyte voidaan kerätä myös muuhun adsorptiomateriaaliin, kuten esimerkiksi aktiivihiileen. (Asumisterveysopas 2009, 138.)

Myös kannettavia, suoraan luettavia VOC-mittareita on olemassa. Suoraan luettavia instrumentteja käytetään esimerkiksi pyrittäessä osoittamaan VOC-pitoisuuksien ajallista vaihtelua sekä vertailtaessa huoneistojen välisiä pitoisuuksia. Useimmat markkinoilla olevat kannettavat VOC-mittauslaitteet käyttävät kaasuanalyysiin liekki-ionisaatiodektoria (FID), fotoionisaatiodektoria (PID) tai fotoakustista sensoria (PAS). Tällaisten kannettavien instrumenttien käyttö on helppoa, mutta niiden haittana on kyvyttömyys tunnistaa yksittäisiä yhdisteitä ja korkea määrittämiss raja. Mittaustulokset ilmoitetaan keräysmenetelmän mukaan. Esimerkiksi ilmaisu TVOCPID tarkoittaa, että ilmaan haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispitoisuus on määritelty fotoionisaatiodektoriin. (Virta 2001, Sisäilmäyhdistyksen 2008b mukaan.)

On oletettavaa, että teknologian edelleen kehittyessä kentällä toimivien kannettavien VOC-analyysilaitteiden teho paranee, jolloin niiden käyttö yleistyy ja korjausprosessin kannalta välttämättömän tiedon saanti helpottuu, tarkentuu ja nopeutuu. Tällä hetkellä teknisesti kehittyneimpiä mittareita ovat esimerkiksi MiniRAE 3000 (RAE Systems Inc, San Jose, CA, USA) tai PhoCheck Tiger (Ion Science Ltd, Cambridge, UK).

7 KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN ANALYSOINTIMENETELMÄT

Analyysivaihe on keskeinen osa prosessia, jonka tarkoitus on selvittää kosteusvaurion laatu ja auttaa laatimaan tarkoituksenmukainen toimenpidesuunnitelma. Edustavista näytteistä huolellisesti tehty analyysi säästää sekä aikaa että rahaa kosteusvaurion korjauksesta huolehtimaan joutuvalta taholta.

Tutkittaessa kosteusvauriota ja sen laajuutta on tärkeää mikrobimäärien lisäksi selvittää myös vallitseva lajisto, koska eri homelajeilla on erilaisia terveysvaikutuksia vaurioituneissa tiloissa asuviin tai työskenteleviin ihmisiin.

Kosteusvaurioissa eläviä mikrobeja tutkitaan yhä yleisesti viljelypohjaisin menetelmin, vaikka ne tiedetään epätarkoiksi. Tämä johtunee pääasiassa siitä, että mikrobianalyyseissä vallitsevat raja-arvot perustuvat Suomessa viljelymenetelmien tuloksiin. Viranomaistaholta on nimenomaan todettu, että huomattavasti tarkempaa PCR-menetelmää ei voida yksinään käyttää kosteusvauriosta aiheutuneen terveyshaitan toteamiseen.

Vaikka käytössä olevissa analyysimenetelmissä ja käytännöissä on varmasti kehittämisen ja yhtenäistämisen varaa, on mahdollista nykyisiä työkaluja ammattitaitoisesti soveltaen ja useampien menetelmien hyviä puolia yhdistäen saavuttaa kohtuullisen hyvää ymmärrystä kosteusvauriossa vallitsevasta tilanteesta. Kyky hyödyntää tällaisen analyysin tuloksena saatua tietoa riippuu motivaatiosta löytää korjaustoimenpiteisiin sekä toimiva tekninen että toimintatapoihin liittyvä ratkaisu. Maalaisjärjen käyttö kosteusvaurioasioissa ei ole kiellettyä.

7.1 Kasvatusmenetelmät

Kasvatuksellisissa analyysimenetelmissä mikrobeja viljellään erilaisilla kasvatusalustoilla, minkä jälkeen mikrobipesäkkeet lasketaan ja lajit pyritään tunnistamaan makro- ja mikroskooppisten tuntomerkkien perusteella valomikroskooppia käyttäen. Tällä hetkellä Suomessa voimassa olevat sisäilman mikrobimäärityksiin pätevät viranomaisohjeet ja raja-arvot perustuvat viljelymenetelmistä saatuihin tuloksiin (Häkkiä 2011, 109).

Asumisterveysoppaassa (2009, 154–155) suositellaan käytettäväksi kosteusvaurioituneiden rakennusten mikrobinäytteiden analysointiin sienten kasvatusalustaksi 2 % mallasuuteagarina (2 % MA) ja toisaalta bakteerien kasvatusalustaksi tryptoni-hiivauute-glukoosiagarina (THG).

Asumisterveysohjeessa (2003, 85) mainitaan, että vaihtoehtoisesti voidaan 2 % mallasuuteagarin sijaan käyttää myös rikasmallasuuteagarina (MEA).

Mikäli on kyse vanhasta, kuivuneesta kosteusvauriosta tai näyte on otettu vaurion reuna-alueelta, saattaa olla suositeltavaa käyttää kasvatusalustana myös dikloraaniglyseroli-18-agarina (DG18). Viimeksi mainitun alustan vesiaktiivisuus on pienempi kuin mallasuuteagarilla, joten sen käyttö antaa lisätietoja erityisesti kserofiilisistä eli kuivissa olosuhteissa viihtyvistä lajeista. (Asumisterveysopas 2009, 154–155.) Kasvatusalustojen valmistusohjeet löytyvät Asumisterveysohjeesta (2003, 84–85).

Asiaan liittyvä informaatio on osittain ristiriitaista: Asumisterveysoppaan (2009, 154) mukaan pelkkä mallasuuteagarin käyttö sienten kasvatusalustana on riittävää, koska useimmat kosteusvauriossa esiintyvät sienilajit kasvavat sillä. Toisaalta Häkkilän (2011, 113) tutkimukset viittaavat siihen, että ilman DG18-alustan käyttöä mahdollinen mikrobivaurio saattaa jopa jäädä kokonaan huomaamatta. Häkkilä (2011, 110–113) selvitti DG18-alustan käytöstä koituvaa hyötyä kosteusvauriorakennusten mikrobitutkimuksissa vertailemalla 234 ilmanäytteen ja 200 materiaalinäytteen viljelytuloksia kolmella erityyppisellä kasvatusalustalla. Saatua viljelytuloksia vertailtiin Asumisterveysohjeen (2003, 76–78) raja-arvoihin. Tutkimuksen perusteella 17 prosentissa ilmanäytteistä ja 15 prosentissa materiaalinäytteistä viite mahdollisesta kosteusvauriomikrobikasvusta tuli esiin ainoastaan DG18-alustalla, mutta ei mallasuuteagarilla tai THG-alustalla. (Häkkilä 2011, 109.)

Kasvatuksellisia menetelmiä käyttäen saadaan tietoa vain näistä mikrobeista, jolle käytetyt elatusalustat ja kasvatusolosuhteet ovat sopivia (Leivo 1998, 92). Tulosten luotettavuus kasvaa useampia kasvatusalustoja käytettäessä, mutta tällöin myös analyysikustannukset nousevat.

Myös mikrobien välinen kilpailu kasvatusalustalla vaikuttaa viljelytuloksiin. Nopeasti kasvavat lajit vahvistavat asemaansa peittämällä alleen hitaammin kasvavia lajeja, jotka näin ollen saattavat jäädä huomaamatta analyysissä. (Leivo 1998, 92.) Esimerkiksi MEA-alusta suosii nopeakasvuisia homesienisukuja, joita ovat esimerkiksi *Penicillium* ja *Aspergillus*, hitaampikasvuisten *Stachybotrys*- ja *Chaetomium*-sukujen jäädessä elintilasta käytävässä kamppailussa toiseksi. (Andersen & Nissen 2000, Hyvärisen 2002, 26 mukaan). Viimeksi mainitut homesienisuvut tunnistetaan parhaiten maissi- (CMA) (Tsai, Yang & Heinsohn 1999, Hyvärisen 2002, 26 mukaan) tai V8-agarimaljoilla (Andersen & Nissen 2000, Hyvärisen 2002, 26 mukaan).

Homesienet tunnistetaan itiöiden ja niitä tuottavien rakenteiden perusteella. Luotettava tunnistus vaatii siis huomattavaa homesienten morfologian asiantuntemusta. Monet organismit voidaankin tunnistaa vain suku- tai ryhmätasolle. On myös mahdollista, että homesieni kasvaa steriilinä eli ei muodosta itiöitä käytetyllä kasvatusalustalla, jolloin lajia ei voida tunnistaa (Kempainen 2010, 39).

Pitkien kasvusaikojen takia analyysitulosten saaminen kestää viljelymenetelmiä käyttäen vähintään kaksi viikkoa. Sienimaljoja kasvatetaan seitsemän vuorokautta, minkä jälkeen niistä lasketaan homesieni- ja hiivasienipesäkkeet. Bakteerimaljat sen sijaan tutkitaan kahdessa vaiheessa noin kaksi viikkoa kestävässä prosessissa. Ensimmäisen seitsemän vuorokauden kasvatusperiodin jälkeen lasketaan bakteeripesäkkeiden määrä. Toisen vastaavan periodin jälkeen bakteerimaljalta lasketaan aktinomykeetti- eli sädesienipesäkkeiden lukumäärä. (Asumisterveysopas 2009, 161–162.)

On hälyttävää, että laajalti käytössä oleva viljelymenetelmä on lähtökohtaisesti epätarkka. Jopa ainoastaan 1–10 % kosteusvauriokohteissa esiintyvistä mikrobeista on todennettavissa erilaisilla kasvatuksellisilla menetelmillä (Asumisterveysopas 2009, 173; Putus 2010, 12). Viljelymenetelmällä saatu tulos on siis aina vahvasti aliarvioitu (Leivo 1998, 92). Asia tulee huomioida hyödynnettäessä analyysituloksia vaurioituneiden rakenteiden korjaussuunnittelussa sekä saastuneen sisäilman terveyshaittojen arvioinnissa. Jos

rakennuksesta viljelymenetelmää käyttäen saadaan positiivisia löydöksiä, on oletettavaa, että sitä asumiseen tai työskentelyyn käyttävien henkilöiden terveysriskin näkökulmasta tilanne on jo hälyttävä tai ainakin tarkkaa harkintaa vaativa.

Kasvatusmenetelmä on esimerkki huonosti kosteusvauriomikrobianalyysiin soveltuvasta työkalusta. Sen käyttö perustunee menetelmän suhteelliseen halpuuteen ja siihen, että tarkkaa informaatiota tarjoavaa kohtuuhintaista menetelmää ei toistaiseksi ole kehitetty.

7.1.1 Suoraviljely

Suoraviljelymenetelmässä viljely tehdään suoraan kasvatusalustalle ilman laimennusta. Pintanäytteenotossa voidaan itse kontaktimaljaa käyttää näytteenottotyökaluna tai vaihtoehtoisesti mikrobit voidaan siirtää suoraan kasvatusalustalle sivelemällä maljan pintaa näytteenottoaukolla. Sen sijaan materiaalinäytteenotossa kentällä otettu näyte ensin hienonnetaan ja levitetään laboratoriossa tasaisesti kasvatusalustan pinnalle. Viljelyn jälkeen pesäkkeet tunnistetaan laji- tai sukutasolle ja niiden määrä lasketaan. Pesäkkeiden määrä ilmoitetaan viisiportaisella suhteellisella asteikolla, jota kuvataan merkein -/+ /+++ /++++ /+++++. Suoraviljelymenetelmä on tyypiltään semikvantitatiivinen eli menetelmää käyttäen saatu tulos on suuntaa antava arvio mikrobien määrästä. (Sisäilmayhdistys 2008e.) Jotta tulokset voidaan tulkita, tarvitaan vertailuaineisto tällä menetelmällä tutkituista näytteistä. (Asumisterveysohje 2003, 74.)

Suoraviljely on laimennossarjamenetelmää yksinkertaisempi ja vähemmän laboratoriovälineitä vaativa. Näin ollen suoraviljely on useimmiten laimennossarjamenetelmää kustannuksiltaan halvempi. (Reiman, Haatainen, Kallunki, Kujanpää, Laitinen & Rautiala 1999, Kemppaisen 2010, 13 mukaan.) Suoraviljelymenetelmä soveltuu huonosti paljon mikrobeja sisältävien näytteiden tarkkaan analysointiin. Tällaisissa näytteissä pesäkkeet kasvavat usein päällekkäin, mikä vaikeuttaa pesäkkeiden laskemista ja tunnistamista. Sen sijaan menetelmä on hyvä, kun halutaan tietää kasvaako mikrobeja näytteessä ylipäätään. Asiantuntija pystyy useimmiten pesäkkeiden päällekkäiskasvusta

huolimatta havaitsemaan viittaako mikrobikasvusto kosteusvaurioon. (Halttunen 2010, 10.)

Asumisterveysliitto AsTe ry:n tiedotuslehdessä (AsteInfo 2/2009, 5) rakennusterveysasiantuntija Sirkku Häkkinen Turun yliopiston Aerobiologian yksiköstä vertaa suoraviljely- ja laimennossarjamenetelmiä seuraavasti:

Sinällään sekä suoraviljely että laimennossarjamenetelmä ovat luotettavuudeltaan samaa tasoa. Suoraviljelymenetelmä (jossa tulokset ilmoitetaan suhteellisella asteikolla) riittää esimerkiksi, jos kiinteistön omistaja haluaa selvittää oman talonsa mikrobivaurioita, eikä kyseessä ole riita-asia.

7.1.2 Laimennossarjamenetelmä

Laimennossarjamenetelmä on suoraviljelyä yleisemmin käytetty mikrobikasvatusmenetelmä. Kyseinen menetelmä on sosiaali- ja terveysministeriön Asumisterveysohjeen (2003, 81–85) suosittama. Menetelmän virallisen statuksen vuoksi sitä suositellaan käytettäväksi riita-asioiden yhteydessä. (AsteInfo 2/2009, 5.)

Laimennossarjamenetelmä on suoraviljelyä työläämpi ja kalliimpi (AsteInfo 2/2009, 5). Yhden näytteen analysoinnin valmisteluihin kuluu noin tunti ja myös laboratoriovälineitä kuluu suoraviljelyä enemmän. Laimennossarjamenetelmän etu verrattuna suoraviljelyyn on, että sen avulla saadaan tarkempaa tietoa mikrobien määrästä. Myös mikrobien suku- ja lajitason tunnistaminen helpottuu, sillä laimeammissa maljoissa pesäkkeet ovat erillään, jolloin pystytään tarkastelemaan yksittäisiä pesäkkeitä. (Halttunen 2010, 10.)

Analysoitaessa materiaalinäytettä näytepala pilkotaan tai hienonnetaan, jonka jälkeen punnitaan vähintään yhden gramman suuruinen osanäyte. Osanäyte lisätään laimennusliuokseen siten, että saadaan laimennos 10^{-1} . Tämän jälkeen mikrobit irrotetaan näytteestä ultraäänikäsittelyn ja koneellisen ravistelun avulla laimennusliuokseen, josta valmistetaan laimennossarja viljelyä varten. (Asumisterveysohje 2003, 81.)

Pintanäytteen ollessa kyseessä näytteenottovälineenä käytetty pumpulipuikko toimitetaan laboratorioon huolellisesti suljetussa laimennusliuosta sisältävässä koeputkessa. Tästä liuoksesta valmistetaan laimennossarja viljelyä varten.

Tarkemmat ohjeet laimennossarjan tekoon löytyvät Asumisterveysohjeesta (2003, 81–85).

Viljelyyn jälkeen pesäkkeiden määrät lasketaan ja mikrobit pyritään tunnistamaan. Mikäli kasvatusta oli tehty pintanäytteestä, tulos ilmoitetaan pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määränä yhtä neliösenttimetriä kohti eli pmy/cm² tai cfu/cm². Materiaalinäytteestä saatu kasvatustulos ilmoitetaan pesäkkeitä muodostavien yksiköiden määränä yhtä grammaa näytettä kohti eli pmy/g tai cfu/g. (Sisäilmäyhdistys 2008e.)

7.2 Suoramikroskopointi

Asumisterveysoppaassa (2009, 161) suositellaan, että näyte mikroskopoidaan ennen kasvatusta. Mikroskopointi suoritetaan joko suoraan näytteestä tai vaihtoehtoisesti alkuperäisestä näytteestä otetusta erillisestä teippinäytteestä. Näin tulee toimia erityisesti silloin, kun kyseessä on jo kuivuneesta kosteusvauriosta otettu näyte. (Asumisterveysopas 2009, 161.) Viljelyä edeltävää suoramikroskopointia käytetään täydentävänä havainnointimenetelmänä haluttaessa varmistaa mahdollisten kasvukyvottomien mikrobien läsnäolo. Näin toimitaan siksi, että elinkykyäkin menettänyt mikrobikasvusto voi aiheuttaa terveyshaittoja (Miettinen 2012, 28). Suoramikroskopointi vähentää myös analyysiin tarvittavaa aikaa, mikäli halutaan vain tietää, esiintyykö näytteessä ylipäättään mikrobeja (Halttunen 2010, 11).

Käsiteltäessä suoramikroskopoitavaa näytettä tutkittavaa ainetta siirretään objektilasille teipin avulla tai mekaanisesti raaputtamalla (Halttunen 2010, 11). Yleisimmin suoramikroskopointiin käytetyt mikroskooppityypit ovat valomikroskooppi ja elektronimikroskooppi. Tutkittavaa näytettä voidaan tarkastella sellaisenaan eli natiivina tai kuvan hahmottamisen helpottamiseksi voidaan käyttää apuna näytteen värjäämistä (Halttunen 2010, 11). Värjäyksen lisäksi mikroskopiaan pohjautuvassa bakteeritunnistuksessa voidaan hyödyntää

solujen tunnistettavia muotoja sekä biokemiallisia testejä. Mikroskopiassa homeet tunnistetaan näkyvien rakenteiden perusteella. Niitä ovat muun muassa homesienen rihmastot, itiöt ja itiöitä tuottavat rakenteet. Tällöin tarkastelussa kiinnitetään huomiota muun muassa itiöiden väriin, muotoon ja pintarakenteisiin. (Leivo 1998, 41.)

Lääketieteellisessä sieni-infektioiden diagnostiikassa näytteen suoramikroskopointi on keskeisellä sijalla. Sen perusteella voidaan joskus jopa tehdä päätelmiä infektoivasta sieniryhmästä negatiivisesta viljelytuloksesta huolimatta. (Suomen Ihotautilääkäriyhdistys ry & Kliiniset Mikrobiologit ry 2001.)

7.3 DNA-pohjaiset menetelmät

Kosteusvaurioituneista kohteista otettuja mikrobinäytteitä voidaan tutkia myös DNA-analyysiin pohjautuvien menetelmin. Tällaisia sisäympäristön mikrobianalyysiin käytettyjä DNA-pohjaisia menetelmiä ovat esimerkiksi PCR-menetelmä, DNA-sirutekniikat ja DNA-sekvensointi (Pessi 2012). Viljelypohjaisiin menetelmiin verrattuna DNA:n tunnistamista hyödyntävien menetelmien etuja ovat nopeus, tarkkuus ja havaitsemisherkyys. DNA-menetelmiä käytettäessä kyetään myös havaitsemaan ja tunnistamaan kuolleita sekä lepotilassa olevia mikrobeja. (Amann, Ludwig & Schleifer 1995, Pitkärannan ym. 2008 mukaan, 233).

7.3.1 Kvantitatiivinen PCR-menetelmä

DNA:n tunnistamiseen pohjautuvista menetelmistä erityisesti kvantitatiivista PCR-menetelmää (qPCR) on pyritty soveltamaan sisäympäristön mikrobien määrittämiseen. Menetelmässä näytteessä olevien mikrobien DNA eristetään ja tiettyjen mikrobien DNA pyritään monistamaan lajispesifien alukkeiden avulla. Alukkeet ovat synteettisesti tuotettuja lyhyitä DNA-pätkiä, jotka kiinnittyvät näytteessä oleviin vastaaviin DNA-sekvensseihin käynnistäen PCR-tuotteiden monistusprosessin. Spesifisiä alukkeita suunnitellaan sellaisiksi, että ne tunnistavat tietyille mikrobilajille, -suvulle tai -ryhmälle ominaisia DNA-

sekvenssejä. Kosteusvaurioindikaattorimikrobeita etsittäessä onnistunut alukkeiden suunnittelu on keskeistä analyysin onnistumisen kannalta. Kvantitatiivisessa PCR-menetelmässä seurataan sisäympäristöstä otettujen näytteiden sisältämien mikrobilajien DNA:n alukkeiden monistumista fluerosoivan väriaineen avulla, jolloin on mahdollista määrittää näytteen sisältämä tietyn DNA:n määrä. Saadusta DNA määrästä pystytään edelleen päättelemään näytteessä olevien mikrobien määrä. (Asumisterveysopas 2009, 173–174, Bio-Rad 2006.)

Tutkimuksiin perustuen tiedetään, että PCR-menetelmään perustuvat tutkimukset osoittavat yleensä 10–100 kertaa suurempia mikrobipitoisuuksia verrattuna viljelymenetelmillä saatuihin tuloksiin. Kun on verrattu viljelymenetelmin ja PCR-menetelmällä samoista näytteistä saatuja tutkimustuloksia, on huomattu myös, että PCR-menetelmällä kyetään havaitsemaan mikrobeja useammista näytteistä. Tämä johtuu siitä, että PCR-menetelmällä havaitaan huomattavasti herkemmin myös pieniä pitoisuuksia. (Asumisterveysopas 2009, 174.) PCR-menetelmällä saatu tulos ilmoittaa sekä elävät että kuolleet mikrobit ja niiden osat. Viljelymenetelmällä ainoastaan elävät ja alustalla kasvukykyiset mikrobit tulevat esiin (Pessi 2012).

PCR-menetelmässä väärin valitut alukkeet voivat johtaa väärään negatiiviseen tulokseen. Tunnetaan tapauksia, joissa näyte on PCR-menetelmällä virheellisesti analysoitu negatiiviseksi, vaikka se on viljelymenetelmän mukaan ollut positiivinen. Tämä johtuu väärin valittujen alukkeiden käyttämisestä analyysin perustana. (Asumisterveysopas 2009, 174). Myös rakennusmateriaali voi vaikuttaa DNA:n eristämiseen tai virheelliseen PCR-reaktioon (Pessi 2012).

Tärkeimmille sisäilmassa esiintyville homesienille pyritään kehittämään PCR-pohjaisia testejä eri puolilla maailmaa. Yhdysvaltain ympäristönsuojeluviraston (US EPA United States Environmental Protection Agency) tutkijat ovat suunnitelleet koettimia ja alukkeita yli sadalle sisäilmassa esiintyvälle homeelle. Teknologia on patentoitu nimellä MSQPCR (*engl.* mold specific quantitative PCR) (Vesper 2011, 15). MSQPCR-menetelmää on käytetty myös Suomessa hometaloanalytiikassa (Lignell ym. 2008, 303; Pitkäranta ym. 2011, 235) ja

Ruotsissa muun muassa päiväkotien tutkimiseen (Cai ym. 2009, Vesper 2011, 19 mukaan).

MSQPCR-tekniikkaan perustuen Yhdysvalloissa on pyritty kehittämään menetelmää, jolla pystyttäisiin objektiivisesti määrittämään talon homeitaakka. Menetelmässä kohteesta otetusta näytteestä analysoidaan yhteensä 36 homesienilajia, joista 26 kuuluu kosteusvaurioindikaattoreihin (ryhmä 1) ja 10 on kodeissa tapahtuneista vesivahingoista riippumatta löytyviä (ryhmä 2). Kun ryhmän 2 logaritmien summa vähennetään ryhmän 1 logaritmien summasta, saadaan niin sanottu ERMI-arvo (Environmental Relative Moldiness Index). Arvoa verrataan kansalliseen ERMI-asteikkoon, jolloin voidaan määrittää talon homeitaakka. On kuitenkin muistettava, että ERMI-indeksi on home-, ei terveysterveysindeksi. (Vesper ym. 2007, 329–330.)

Asumisterveysoppaassa (2009, 175) todetaan, että Suomessa ei voida käyttää yksinään PCR-menetelmää terveydensuojelulaissa määritellyn terveyshaitan toteamiseen. Menetelmää voidaan sen sijaan Asumisterveysoppaan mukaan käyttää saneeraus- ja puhdistustoimenpiteiden onnistumisen seurantaan. Tällöin otetaan työkohteesta näytteet ennen ja jälkeen korjaus- tai puhdistustoimenpiteitä ja verrataan tuloksia keskenään. Viljely- ja PCR-menetelmiä tulisi käyttää toisiaan täydentävinä vauriokohteiden mikrobikasvuston analysoinnissa. (Asumisterveysopas 2009,175.) Mielestäni suositus on ristiriitainen menetelmien suurten tarkkuuserojen vuoksi.

7.3.2 DNA-sirumenetelmät

DNA-sirumenetelmässä poimitaan lasilevyille kiinnitettyjen DNA-koettimien avulla esiin näytteen vastin-DNA:ta. Tällöin fluoresenssia hyödyntäen voidaan todeta vastin-DNA:n kiinnittyminen lajispesifeihin koettimiin. (Rintala 2006.) Helsingin yliopiston Biotekniikan instituutin ja Kansanterveyslaitoksen tutkijat ovat BioFine Chip -projektissa tutkineet yhteistyössä DNA-sirumenetelmien käyttöä sisäympäristöissä esiintyvien haitallisten mikrobien tutkimustyökaluina. Yleisesti käytetyt oligonukleotidisirut eivät osoittautuneet tarpeeksi herkiksi ja

spesifeiksi, mutta LDR-sirut (*engl.* Ligation Detection Reaction) osoittautuivat sen sijaan lupaaviksi.

LDR-siruiissa lajit tunnistetaan ligaatioreaktion avulla. Ligaatio on menetelmä, jossa kaksi koetinta liitetään yhteen, jos ne vastaavat täydellisesti tutkittavaa kohdesekvenssiä. Projektin alustavat tulokset osoittavat, että DNA-sirutekniikat soveltuvat hyvin nopeaan ja luotettavaan hometaloille tyypillisten mikrobilajien tunnistamiseen. (Kärkkäinen ym. 2006, 174–177.)

DNA-sirumenetelmien käyttö hometaloanalytiikassa näyttää lupaavalta, mutta vaatii vielä paljon tutkimustyötä. Menetelmä vaatii lajikohtaista DNA-sekvenssitietoa, joka ei vielä tällä hetkellä ole saatavilla. On myös todennäköistä, että kaikille lajeille ei kyetä löytämään soveltuvia spesifisiä koettimia. (Rintala 2006.) Toisin kun kvantitatiivisessa PCR-menetelmässä, DNA-sirujen avulla saadaan ainoastaan tietoa mikrobilajeista, ei mikrobien määristä.

Mikrobitunnistusanalyysin tulevaisuutta ajatellen DNA-pohjaiset menetelmät vaikuttavat lupaavilta, mutta teknologia vaatii vielä kehittämistä.

7.4 Kaupalliset testit

Markkinoilla on kaupallisia hometestejä, mutta niitä kaikkia yhdistää saadun tutkimustuloksen summittaisuus ja kapea-alaisuus eivätkä ne nykyisellään pysty korvaamaan laboratorio-olosuhteissa tehtyjä analyyseja. Esittelen seuraavissa alaluvuissa esimerkinomaisesti muutamia tällaisia testimenetelmiä.

7.4.1 MycoMeter-testi

MycoMeter-testi (Mycometer A/S, Hoersholm, Tanska) on Kööpenhaminan Yliopistossa kehitetty patentoitu homesienten analyysimenetelmä. Se on kehitetty osoittamaan rakennusten sisäpinnoilla esiintyvät homekasvustot. Testi määrittää homesienten kokonaisbiomassan määrän siinä esiintyvän β -N-asetyyliheksosaminidaasientsyymin perusteella. Entsyymien aktiivisuus määritetään fluorometrisin menetelmin. (Puustinen 2011, 12.)

Testillä voidaan analysoida pinta-, materiaali- tai ilmanäytteitä, jolloin tulokset saadaan noin tunnissa riippumatta näytteiden määrästä. Tuloksena saadaan numeerinen arvo, joka voidaan jakaa kolmeen luokkaan sen mukaan, onko homesienten pitoisuus tavallinen, kohonnut tai epätavallinen. Testillä ei voida tunnista rakennuksessa esiintyviä sieniryhmiä, -sukuja eikä -lajeja. (Puustinen 2011, 11–12.)

Puustisen (2011, 45–46) tutkimuksessa, jossa vertailtiin MycoMeter-testillä saatuja tuloksia suoraviljeltyjen pintasivelynäytteiden tuloksiin, todetaan saatujen tulosten vastaavuuden olevan hyvä noin 81 % näytteistä. Toisaalta tutkimuksessa huomattiin, että MycoMeter-testiin perustuvan analyysin tulos oli 93 % näytteissä (n=43) yhtäsuuri tai suurempi kuin pintasivelynäytteiden antama tulos. Johtopäätöksenä todetaan, että MycoMeter-testi soveltuu hyvin tutkimuksiin, joissa halutaan selvittää nopeasti homekasvuston biomassa (elävät ja kuolleet rihmastot ja itiöt) eikä ole erikseen tarpeen määrittää mikrobilajeja. (Puustinen 2011, 45–46.)

Menetelmää käytettäessä on erityisesti huomattava, että se perustuu homesienissä, mutta myös muussa kasvi- ja eläinkunnassa esiintyvän β -N-asetyyliheksosaminidaasientsyymin osoittamiseen. (Puustinen 2011, 12). Käytännössä menetelmää ei tästä syystä kannattane käyttää analyysiin eläinsuojissa tai rakennuksissa, joissa on käsitelty ruoka-aineita. Myös kipsi- ja siitepöly saattavat lisätä entsyymiaktiivisuutta mittaustuloksia vääristävässä määrin (Puustinen 2011, 19).

Testiä voi hyödyntää muita tutkimusmenetelmiä täydentävänä pyrittäessä luomaan mahdollisimman tarkkaa kokonaiskuvaa kosteusvauriokohteessa vallitsevasta tilanteesta. Menetelmän etuja ovat sen halpuus ja nopeus. Menetelmällä pystytään osoittamaan myös kasvukyvyttömät homekasvustot. (Puustinen 2011, 45–46.)

7.4.2 Homevaroitin

Helsingin Metropolia Ammattikorkeakoulussa kehitetään parhaillaan teknologiaa asuntokohtaisen homevaroitin luomiseksi. Metropolian laboratorioalan koulutusohjelma tutkii osittain oppilastyönä yhdessä kehitysyksikkö Electrician

kanssa sisäilman jatkuvaan monitorointiin perustuvan laitteen kehitysmahdollisuuksia. Hankkeessa pyritään kehittämään laite, joka toimii kuten palovaroitin hälyttäen sisäilmassa ilmenevien mikrobimäärien ylittäessä määritellyt raja-arvot. (Metropolia 2012.)

Kehitteillä olevan laitteen toiminta perustuu homevasta-aineiden reagointiin homesieniin ja mikrobitoiminnan seurauksena sisäilmassa esiintyviin mykotoksiineihin. Reaktion tapahtuessa laitteen sisällä oleva merkintäalue värjäytyy, jolloin laite varoittaa. Projektin kehitysvaiheen on määrä kestää syksyyn 2013. Tuolloin pitäisi olla selvillä onko laitteen kehittäessä onnistuttu siinä määrin, että olisi mahdollista alkaa sen teollinen tuotanto. Projektipäällikkö Seppo Vanhatalon mukaan teknisesti haasteellisinta on ollut saada laite toimimaan haluttujen raja-arvojen mukaisesti. (Aatsalo 2012.)

Kuvatus homevaroitin on tarkoitus toimia laaja-alaisesti siten, että se pyrkii havaitsemaan sekä tämän luvun aiheena olevia kosteusvauriomikrobeja että seuraavassa luvussa käsiteltyjä kosteusvauriomikrobien aineenvaihduntatuotteena syntyviä mykotoksiineja.

8 KOSTEUSVAURIOMIKROBIEN AINEENVAIHDUNTATUOTTEIDEN ANALYSOINTIMENETELMÄT

Mikrobien aineenvaihduntatuotteiden analysointi eroaa prosessina itse mikrobien analysoinnista siten, että aineenvaihduntatuotteiden ollessa kyseessä tutkitaan ja tunnistetaan yksittäisiä kemiallisia yhdisteitä. Mikrobien aineenvaihduntatuotteet jakaantuvat kosteusvauriomikrobien tuottamiin toksineihin ja MVOC-yhdisteisiin. Sisäilman mikrobipitoisuuksille on olemassa viranomaistahojen määrittelemiä raja-arvoja, kun sen sijaan mikrobitoksiineille niitä ei ole määritelty.

Mikrobitoksiinien analysointi on vaativaa laboratoriossa tapahtuvaa ammattilaistyötä. Usein kosteusvaurioihin liittyvissä altistustapauksissa vaaditaan samankaltaista toteennäyttämistä kuin kemikaalialtistuksissa. Analyysin keinoin olisi pystyttävä todistamaan, mille myrkylle ihminen on sisäilmaa hengittäen altistunut ja mikä on elimistöön hengitetyn altisteen määrä. Lisäksi lääketieteellisen analyysin puolella pitäisi pystyä osoittamaan kehossa tapahtuneita fysiologisia muutoksia. Koska kosteusvauriooperäisessä altistuksessa altiste on mikrobimyrkyistä muodostuva seos, on tehtävä erittäin haasteellinen, eikä siinä useimmiten nykykeinoin täysin onnistuta.

Sisäympäristössä esiintyviin mikrobitoksiineihin liittyvä tutkimustieto on toistaiseksi puutteellista. Osaltaan asia selittyy toksiinipitoisuuksien pienuudesta johtuvasta hankalasta tutkimuskohteesta, mutta uskoisin myös olevan kysymys koko aihealueen luonteesta ja rahoitustahojen vähäisestä kiinnostuksesta tulenarkaan asiaan.

Esimerkkinä asian vaikeudesta mainitsen keväällä 2013 päättyneen Toxtest-hankkeen nimellä kulkeneen tutkimusyhteistyöprojektin, jossa oli tarkoitus yhdistää kansakunnan parhaat voimavarat luotettavan analyysimenetelmän kehittämiseksi. Projektin tulos oli kuitenkin lähinnä kitkerä eripura huippututkijoiden välillä heidän joutuessaan raporttiseminaarissa toteamaan epäonnistuneensa kenttäkäyttöön soveltuvan toksisuustestin kehittämisessä.

8.1 Kromatografiset menetelmät

Kromatografiaksi kutsutaan kemiallisten yhdisteiden erottamis- ja analyysimenetelmää, jonka avulla saadaan erotettua ja tunnistettua seoksen osatekijät väliaineen läpi kulkevaa kaasu- ja nestevirtausta hyödyntämällä. Kaikessa kromatografiassa on yhdistävänä tekijänä aineen jakautuminen eri olomuotoalueiden eli faasien välille. (Eskeli ym. 2013.) Kromatografiset menetelmät voidaan jakaa pylväs- ja ohutkerroskromatografiaan, joista seuraavassa esittelen yleisimmät kosteusvauriomikrobien aineenvaihduntatuotteiden analytiikassa käytössä olevista menetelmistä. Kromatografisia menetelmiä käytetään analyysityöskentelyn lisäksi yhdisteiden eristämiseen ja puhdistamiseen (Solunetti 2006).

8.1.1 Kromatografiset menetelmät mykotoksiinianalytiikassa

Kromatografiset menetelmät ovat nykyään enintään käytettyjä menetelmiä mykotoksiinien määrittämiseksi (Rai ym. 2012, 23). Käytettyjä kromatografisia menetelmiä mykotoksiinianalytiikassa ovat ohutkerroskromatografia (TLC), korkean suorituskyvyn nestekromatografia (HPLC) ja kaasukromatografia (GC).

Useimmat kromatografiset menetelmät vaativat mykotoksiineille sopivan erotus- ja puhdistusmenetelmän käyttöä. Esikäsittelymenetelmän valinta riippuu analysoitavasta aineesta, tutkittavasta näytteestä sekä käytettävästä kromatografisesta menetelmästä. Nykyään kiinteäfaasiuutto (SPE) on suosituin erotus- ja puhdistusmenetelmä mykotoksiinien rutiinitutkimuksissa (Turner, Subrahmanyam & Piletsky 2009, 171–173).

Elintarvike- ja rehunäytteistä analysoidaan rutiininomaisesti niiden sisältämät mykotoksiinit käyttäen kromatografiaan pohjautuvia standardoituja menetelmiä (Lerda 2010, 32–35). Sen sijaan sisäympäristössä esiintyvien mykotoksiinien analysoinnista on toistaiseksi suhteellisen vähän tutkimustietoa.

8.1.1.1 Ohutkerroskromatografia (TLC)

Ohutkerroskromatografia on perinteinen ja edelleen suosittu menetelmä mykotoksiinianalyysissä. Menetelmän avulla kyetään analysoimaan suuri määrä näytteitä lyhyessä ajassa kohtuullisen edullisesti ja kohdeyhdisteet on helppo tunnistaa UV-Vis-spektrianalyysiä käyttäen. Menetelmää käytettäessä on huomioitava näytteiden toksiinikohtaisten vaatimusten mukainen valmistelu ja puhdistaminen. (Turner ym. 2009, 173–174.)

Mykotoksiineja ohutkerroskromatografian avulla määritettäessä stationäärifaasina käytetään useimmiten silikageeliä, jolloin liikkuvana faasina toimii jokin liuotin tai liuotinseos. Oikeiden toksiinikohtaisten liuottimien valinta on erittäin tärkeää analyysin onnistumiseksi. Liuotinseoksia ovat esimerkiksi kloroformi ja etanoli/metanoli tai asetoni, mutta nykyään on kehitetty myös vähemmän myrkyllisiä ja ympäristöystävällisempiä liottimia ohutkerroskromatografia-analyysiin. (Kos & Krska 2013c).

Ohutkerroskromatografia on ollut laajasti käytössä mykotoksiinianalyseissä, mutta on nykyään korvautumassa muilla kromatografisilla menetelmillä, joita ovat esimerkiksi nestekromatografia (HPLC) tai kaasukromatografia (GC). Ohutkerroskromatografia on edelleen hyvä valinta vaadittaessa nopeaa seulontakykyä, sekä tilanteisiin, joissa kehittyneitä neste- tai kaasukromatografia-laitteita ei ole käytettävissä (Kos & Krska 2013c).

TAULUKKO 4. Esimerkkejä ohutkerroskromatografian käytöstä mykotoksiinianalyseissä

| Toksiini | Protokolla | Detektio- menetelmä | Matriisi | Lähde |
|------------------------------|---|--------------------------------|----------------------|-------------------|
| Aflatoksiinit B1,B2,G1,G2 | Kaksi- suuntainen high performance TLC (HPTLC) | | Palmuytimet | Nawaz ym. 1992 |
| Aflatoksiini B1 | TLC (AOAC | UV-detektio (365 nm) | Hava (perinteinen | Var ym. 2007 |

| | | | | |
|--|---|----------------------------|--------------------------------------|--|
| | menetelmän mukaan) | | turkkilainen makeistuote) | |
| Siriniini | Silikageeli 60 TLC-levyt ja TEF-liuotin | Fluoresenssi-detektio (FD) | Viinirypäleistä eristetyt homesienet | Abrunhosa ym. 2001, Turner ym. 2009 mukaan |
| Trikotekeenit (T-2 toksiini ja diasetoksiskirpenoli) | Silikageeli G-25 TLC-levyt ja erilaisia liuottimia | UV -detektio | Vilja ja eläinrehut | Sokolović & Šimpraga 2006 |
| Deoksinivalenoli | F- 254 fluoresoiva HPTLC silikageelil 60 levy ja erilaisia liuottimia | UV-detektio | Vilja ja eläinrehut | Sokolović & Šimpraga 2006 |

8.1.1.2 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC)

Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC) on nykyään yksi tärkeimmistä kemiallisen analytiikan työmenetelmistä. Myös moderni mykotoksiinianalyysitekniikka nojautuu vahvasti korkean erotuskyvyn nestekromatografiaan (Turner ym. 2009, 174–175). HPLC-menetelmät ovat laajalti käytössä niiden korkean suorituskyvyn ja luotettavuuden takia. Kuten muissakin kromatografisissa menetelmissä tärkeä ja kriittinen vaihe mykotoksiinianalyysissä on näytteen valmistus ja näytteen puhdistus.

HPLC-menetelmistä käänteisfaasikromatografia (RP) on yleisin käytetty menetelmä mykotoksiinien määrittämiseksi maatalousnäytteistä. Tällöin käytetään esimerkiksi C8-tai C18-hiilivety-faaseja ja polaarisia liuotinseoksia, joita ovat esimerkiksi vesi-metanoli- tai vesi-asetonitriili -yhdistelmät. (Kos & Krška 2013b.)

Pääasiallisesti useimmat käytetyt protokollat mykotoksiinien määrittämiseen HPLC:n avulla ovat hyvin samankaltaisia. Yleisimmät detektio menetelmät käyttävät UV- tai fluoresenssidetektoreita (Turner ym. 2009, 174). Viime aikoina

on myös alettu käyttää enenevässä määrin massaspektrometria (MS) ja tandemmassaspektrometria (MS/MS).

Nestekromatografia-massaspektrometriset määrittymenetelmät (HPLC-MS ja HPLC-MS/MS, myös LC-MS ja LC-MS/MS) ovat monessa tapauksissa mullistaneet mykotoksiinianalyysiä ja niistä on tullut tärkeä työkalu rutiinianalyysiin tunnistettaessa monimutkaisia matriiseja niiden tarkan tunnistuskyvyn ja herkkyuden takia. Osalla elintarvikkeista on raja-arvot sallituille mykotoksiinitasojille. Tästä johtuen on olemassa tarve määrittää mykotoksiinipitoisuuksia ruutiinianalyysin eri näytteistä yhdellä uutolla ja LC-MS-ajolla. Tällaiset multitoksiini LC-MS-menetelmät ovat haastavuutensa takia edelleen melko vähäisessä käytössä. (Capriotti, Foglia, Gubbiotti, Rocchia, Samperi & Laganà 2010, 6045.)

TAULUKKO 5. Esimerkkejä korkean erotuskyvyn nestekromatografian käytöstä mykotoksiinianalyysissä

| Toksiini | Protokolla | Detektio- menetelmä | Matriisi | Lähde |
|---|-----------------------|---|------------------------------|----------------------------|
| Aflatoksiinit (B1, B2, G2 ja G2), okratoksiini A, zearalenoni, deoksinivalenoli, HT-2, T-2 ja fumonisiinit (B1, B2 ja B3) | RP-HPLC-PDA-FLD | Fotodiodirivi-detektio (PDA) ja fluoresenssi-detektio (FLD) | Vilja | Soleima ny ym. 2011. |
| Aflatoksiinit (B1, B2, G2 ja G2) ja okratoksiini A | UHPLC-MS/MS | Tandemmassaspektrometria (MS/MS) | Vauvaruoka ja -maito | Beltrán ym. 2011. |
| Aflatoksiini B1 | HPLC | UV-detektio | Muskotti ja maapähkinä | Hilmy ym. 1995. |
| Sitriniini | “ionipari” RP-HPLC | Fluoresenssi-detektio (FLD) | Homesieni-viljelmä ja juusto | Franco ym. 1996. |
| Okratoksiini A | LC-ESI-MS/MS | Sähkösumutus-ionisaatio (ESI) ja tandemmassaspektrometria (MS/MS) | Vehnä, kahvi ja olut | Becker ym. 1998. |
| Trikotekeenit | LC-MS/MS | Tandem- | Vehnä, | Juan |

| | | | | |
|---|--|----------------------------|---|-----------|
| (deoksinivalenoli, 3-asetyylideoksinivalenoli, 15-asetyylideoksinivalenoli, nivalenoli, fusarenoni X, T-2, HT-2, diasetoksiskirpenoli ja neosolanioli) ja zearalenoni | | massaspektrometria (MS/MS) | kaura, ohra ja speltti (jyvät, jauhot ja leipä) | ym. 2012. |
|---|--|----------------------------|---|-----------|

8.1.1.3 Kaasukromatografia (GC)

Kaasukromatografiaa (GC) käytetään säännöllisesti pyrittäessä selvittämään, onko esimerkiksi elintarvikenäytteissä mykotoksiineja. Näitä analyyseja varten on kehitetty paljon tutkimusprotokollia. Herkimpiä ja tarkempia mykotoksiinianalyyseissä käytettyjä ilmaisimia ovat massaspektrometri (MS) tai elektroninsieppausdetektori (ECD) (Kos & Krska 2013a). Myös liekki-ionisaatiodetektori (FID) (Schothorst & Jekel 2001, 111) tai Fourier-muunnosinfrapunaspektrometrejä (FTIR) (Young & Games 1994, 211) käytetään.

Useimmat mykotoksiinit eivät ole haihtuvia, minkä vuoksi ennen kromatografiaa ne pitää derivatisoida analyysiä varten. Käytettyjä derivatisointitekniikoita ovat esimerkiksi kemialliset reaktiot kuten, silylointi- tai polyfluoroasylonti, joiden avulla mykotoksiinit saadaan haihtuvaan muotoon. (Scott 1995, Turnerin ym. 2009, 175 mukaan.)

Kaasukromatografian rutiininomainen käyttö rajoittuu pääsääntöisesti A- ja B-trikotekeeneihin. Tämä johtuu niiden ei-fluoresoivista ja heikoista UV-VIS-absorptio-ominaisuuksista. Laajempi kaasukromatografian käyttö muiden mykotoksiinien analyysissä on vähäistä, koska on olemassa vaihtoehtoisia helpokäyttöisiä menetelmiä. (Kos & Krska 2013a.)

TAULUKKO 6. Esimerkkejä kaasukromatografian käytöstä mykotoksiinianalyseissa

| Toksiini | Protokolla | Detektio- menetelmä | Matriisi | Lähde |
|--|-------------------|---|----------------------------|------------------------------|
| Trikotekeenit (<i>Fusarium</i> -toksiinit) | GC-FTIR ja GC-MS | Fourier-muunnos-infrapunaspektrometri (FTIR) ja massaspektrometria (MS) | <i>F. roseum</i> -viljelmä | Young & Games 1994. |
| Trikotekeenit (deoksinivalenoli, 3-asetyylideoksinivalenoli, nivalenoli, fusarenoni X, T-2, dasetoksiskirpenoli ja neosolanioli) ja zearalenoni | GC-MS | Massaspektrometria (MS) | Viljanäytteet | Tanaka ym. 2000. |
| Trikotekeenit (deoksinivalenoli, 3-asetyylideoksinivalenoli, nivalenoli, fusarenoni X, T-2, HT-2, dasetoksiskirpenoli ja neosolanioli) | GC-FID | Liekki-ionisaatiodektori (FID) | Vehnä | Schothorst & Jekel 2001. |
| Trikotekeenit (deoksinivalenoli, 3-asetyylideoksinivalenoli, nivalenoli, fusarenoni X, T-2, HT-2, dasetoksiskirpenoli ja neosolanioli) ja patuliini sekä zearalenoni | GC/ MS-MS | Tandem-massaspektrometria (MS/MS) | Manna-suurimot | Rodríguez-Carrasco ym. 2012. |
| T-2 ja HT-2 | GC-ECD | Elektroninsiippausdetektori (ECD) | Kiinalaisia lääkeryttejä | Kong ym. 2012. |

8.1.2 Kromatografiset menetelmät VOC-yhdisteiden analytiikassa

Sisäilmassa esiintyvät haihtuvat orgaaniset yhdisteet tulee määrittää noudattaen joko aktiivisen näytteenoton ISO/DIS 16000-6 -standardia tai vaihtoehtoisesti passiivisen näytteenoton ISO 16017-2:2003 -standardia (Asumisterveysopas 2009, 137).

Tämä edellyttää kaasukromatografian käyttöä näytteiden analysoinnissa. Standardin mukaisesti toimittaessa VOC-näyte syötetään analyysilaitteistoon termodesorptiotekniikalla, jolloin tutkittavien aineiden erotus tapahtuu kaasukromatografilla ja tunnistus sekä kvantitointi massaselektiivisellä detektorilla (MSD). Kvantitointi voidaan suorittaa myös liekki-ionisaatiodetektorilla (FID). Kuvatulla tavalla suoritettua analyysistä saadaan tulokseksi haihtuvien orgaanisten yhdisteiden kokonaispitoisuus (TVOC) ja lisäksi yksittäisten yhdisteiden pitoisuuksia. (Tuomi 2012.) Raja yksittäisten yhdisteiden toteamiselle kuvatun kaltaisessa analyysiprosessissa on noin yksi mikrogramma kuutiometrissä ilmaa (Asumisterveysopas 2009, 138).

TVOC-mittaustulosta ei voida Asumisterveysoppaan (2009, 136) mukaan käyttää suoraan terveyshaitan arviointiin. Kuitenkin reilusti kohonneesta TVOC-pitoisuudesta voidaan päätellä ilmassa olevan epätavallisen suuri määrä kemiallisia yhdisteitä, jolloin tarkemmat tutkimukset vallitsevasta sisäilman laadusta ovat tarpeen. (Asumisterveysopas 2009, 136.)

8.2 Toksikologiset menetelmät

Toksikologiset kosteusvauriomikrobien aineenvaihduntatuotteiden analysointimenetelmät perustuvat biologisen vasteen monitorointiin. Tämän tyyppisessä analyysissä laboratorio-olosuhteissa viljeltyjä kohdesoluja altistetaan tutkimuksen kohteena olevasta sisäympäristöstä kerätyille näytteelle, jotta voidaan tarkkailla kohdesoluissa syntyviä vasteita. (Markkanen ym. 2011, 93–94.) Monitoroitavia muuttujia ovat muun muassa solujen kuolleisuus, tulehdusvälittäjäaineiden tuotanto (Huttunen, Hyvärinen, Nevalainen, Komulainen & Hirvonen 2003, 85), oksidatiivinen stressi (Markkanen ym. 2008, 857),

aiheutuneet perimävauriot (Wang & Yadav 2006, 297) sekä siittiösolujen liikkeen hiipuminen (Andersson ym. 2010, 2041).

Tällä hetkellä tiedostetaan tarve toksiinien yhteisvaikutusta monitoroimaan kykenevän ja kenttätyöskentelyyn soveltuvan toksikologisen testimenetelmän kehittämiseksi. Toistaiseksi tällaista menetelmää ei ole kyetty luomaan, koska kosteusvauriossa vaikuttavan mikrobitoiminnan seurauksena hengitettävään sisäilmaan erittyy monitoroinnin kannalta haasteellinen, monimutkainen yhdisteiden seos. Tiedetään, että haitallinen altistuminen tapahtuu ensisijaisesti hengityksen kautta. Näin ollen kehitettävässä menetelmässä käytettävän kohdesolukon täytyy kyetä antamaan kuva hengitystien reagoinnista hengitysilmaa edustavaan näytteeseen. Menetelmän tulisi myös olla helppokäyttöinen, toistettavissa oleva ja kustannuksiltaan kohtuullinen. Menetelmän kehitys- ja testausvaiheessa tulee käyttää toisiaan täydentäviä tutkimusmenetelmiä ja monia erityyppisiä soluja. (Markkanen ym. 2011, 93–94.)

Koska monet kosteusvaurioista kärsivien rakennusten sisäilmasta havaitut toksiinit ovat mitokondriotoksisia, tulee toksikologista analyysimenetelmää kehitettäessä käyttää kohdesoluja, jotka soveltuvat tämän tyyppisen toksisuuden havainnointiin (Andersson ym. 2010, 2041). Emeritaprofessori Mirja Salkinoja-Salonen on tehnyt asian parissa urauurtavaa työtä tutkien asiaan hyvin soveltuvien sian siittiösolujen käyttöä vastemonitoroinnin kohdesolukkona.

Keväällä 2013 päättyneessä Toxtest-hankkeessa pyrittiin tässä hengessä kehittämään kenttäkäyttöön soveltuvaa toksisuustestiä, tutkien sian siittiöiden, hiiren ja ihmisen solujen sekä bakteerien reagointia näytteisiin (Laitinen 2013, 1). Koska odotuksia herättäneen Toxtest-hankkeen tulokset jäivät valitettavan laihoiksi, ei vielä ole olemassa luotettavasti ja riittävän laaja-alaisesti toimivaa viranomaisten hyväksymää toksikologista kenttäkäyttöön soveltuvaa kosteusvaurionäytteiden analyysimenetelmää.

Kemia-lehden uutiskirjeessä 4/2013 (Laitinen 2013, 2) Mirja Salkinoja-Salonen toteaa riitaisiin tunnelmiin päättyneen Toxtest-hankkeen tuloksia esittelevässä artikkelissa kuitenkin: ”Meidän menetelmämme on jo kenttämenetelmä, mutta nyt se jäi ilman virallista hyväksyntää.”

8.3 Entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys (ELISA)

Koska mykotoksiinien kromatografisiin menetelmiin perustuva analyysi on kallista ja aikaavievää, on tarkoitukseen kehitetty erilaisia pika-analyysitestejä erityisesti elintarviketeollisuuden käyttöön. Yksi eniten käytetyistä on entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys (ELISA). (Yli-Mattila ym. 2006, 2.) Kosteusvauriokohteiden analysointiin käytettävät pikatestit ovat tällä hetkellä luonteeltaan suuntaa antavia, sillä ne kykenevät tunnistamaan vain rajallisen määrän toksiineja.

ELISA (*engl.* Enzyme-linked immunosorbent assay) eli entsyymivälitteinen immunosorbenttimääritys on immunokemiallinen antigeenien tai vasta-aineiden reagointiin perustuva määritysmenetelmä, jonka avulla voidaan osoittaa sekä homeiden että mykotoksiinien läsnäolo (Pätäri & Holthöfer 2003, Haapalahden & Korhosen 2009, 23 mukaan).

ELISA-menetelmän käyttöä on tutkittu myös trikotekeeni-mykotoksiinien testaamiseen mykotoksiinia tuottaville homeille altistuneiden ihmisten kudoksista ja kehon nesteistä (Hooper, Bolton, Guilford & Straus 2009, 1465). Pääasiallisesti ELISA-menetelmä on kuitenkin tällä hetkellä käytössä mykotoksiinianalyysissä lähinnä vilja- ja elintarviketeollisuudessa.

Kaupallisia ELISA-menetelmään perustuvia testikittejä ovat esimerkiksi RIDASCREEN®-testikitit (R-Biopharm, Darmstadt, Saksa). Sarja sisältää kitit aflatoksiinien, sitriniinin, deoksinivalenolin, fumonisiinin, okratoksiini A:n, patuliinin, T-2-toksiinin, trikotekeenien ja zearalenonin määrittämiseen vilja- ja rehunäytteistä.

Vastaavia testikittejä sisäympäristön mykotoksiinien tutkimiseen on olemassa, mutta niiden avulla ei kyetä saamaan kattavia ja kokonaisvaltaisia analyysituloksia. Esimerkkinä tällaisesta kitistä mainittakoon QuantiTox™ Trichothecene test kit (EnviroLogix Inc., Portland, Maine, USA), jolla voidaan määrittää trikotekeenejä pöly- ja materiaalinäytteistä noin tunnissa. Testi tunnistaa satratoksiinin (G ja H), isosatratoksiinin (F), roridiinin (A, E ja L-2), verrukariinin (A ja J) sekä verrukarolin.

9 KANSALLISEN TASON PROJEKTEJA

Parhailtaan on meneillään tai juuri päättynyt kansallisia projekteja, joiden avulla pyritään hankkimaan lisää eksaktia homeisiin ja kosteusvauriomikrobeihin liittyvää tietoa. Tärkeimpiä ovat valtioneuvoston vuonna 2009 käynnistämä Kosteus- ja hometalkoot -projekti, jota koordinoi ympäristöministeriö, ja laaja keväällä 2013 päättynyt tutkimushanke Toxtest, johon osallistuivat Suomen johtavat mikrobiologian ja toksikologian asiantuntijat. Toisena esimerkkinä jo valmistuneesta hankkeesta mainitsen Tampereen teknillisen yliopiston, Teknillisen korkeakoulun ja ilmatieteenlaitoksen yhteinen FRAME-tutkimushankkeen. Seuraavassa tiivistelmä kunkin hankkeen tarkoituksesta.

Kosteus- ja hometalkoot on valtioneuvoston päätöksellä käynnistetty viisivuotinen ohjelma, jonka tarkoituksena on hankkia kokonaisvaltaista tietoa maamme rakennuskannan tämän hetkisestä tilasta. Projektin avulla pyritään käynnistämään uusimman tutkimustiedon myötä kehitettyihin menetelmiin perustuva rakennuskannan korjaaminen ja vähentämään kosteus- ja homevaurioiden asukkaille aiheuttamia terveyshaittoja sekä taloudellisia menetyksiä. Projektin pyrkimyksenä on myös ehkäistä uusien kosteusvaurioiden syntyä jakamalla asiallista ja tuoreinta tietoa aiheesta kansalaisille ja avainammateissa toimiville henkilöryhmille. Kosteus- ja hometalkoot -ohjelma ajoittuu vuosille 2009–2014, ja ohjelmaa vetää ympäristöministeriön nimittämänä tekniikan tohtori Juhani Pirinen. (Kukkonen 2010, 8–9.)

Toxtest-hanke oli Kosteus- ja hometalkoisiin liittyvä laaja tutkimushanke, jonka tarkoitus oli kehittää käytännöllinen toksikologiaan perustuva mittausmenetelmä sisäympäristöstä otettujen näytteiden tutkimiseen. Tutkimushankkeen tuloksena pyrittiin kehittämään analyysimenetelmä, jonka avulla olisi kyetty osoittamaan luotettavammin kulloisessakin ympäristössä terveyshaittoja aiheuttavat tekijät. Tutkimushanke oli kolmevuotinen, ja se toteutettiin sosiaali- ja terveysministeriön johdolla. Tutkimustyö tehtiin Terveyden ja hyvinvoinnin laitoksen (THL), Helsingin yliopiston (HY) sekä Työterveyslaitoksen (TTL) yhteistyönä. Tutkijaryhmiä johtivat toksikologian ja mikrobiologian asiantuntijat, joista mainittakoon professori Maija-Riitta Hirvonen (THL), tutkimusprofessori Aino

Nevalainen (THL), tutkimusprofessori Harri Alenius (TTL) sekä tutkimusjohtaja emeritaprofessori Mirja Salkinoja-Salonen (HY). (TOXTEST kehittää hometalojen tutkimusmenetelmiä 2011, 22.)

Tutkimuksen kohteena olevan asian haastavuutta kuvaa, että Toxtest-hankkeen tuloksena ei kohtuullisesta taloudellisesta ja henkisestä panostuksesta huolimatta onnistuttu kehittämään virallisesti hyväksyttyä sisäilman toksisuuden määrittämenetelmää.

FRAME-hanke on vuonna 2011 valmistunut laaja Tampereen teknillisen yliopiston, Teknillisen korkeakoulun ja Ilmatieteen laitoksen yhteinen tutkimushanke, jonka tavoitteena oli tutkia energiataloudellisen rakentamisen vaatimuksista ja ilmastonmuutoksesta johtuvan lisäeristämisen rakennuksille mahdollisesti aiheuttamia riskejä. FRAME-hanke keskittyi keräämään tietoa nimenomaan niistä rakenteista, joissa suurimmat kosteusongelmat todennäköisimmin ilmenevät. Näitä ovat muun muassa ryömintätilaiset alapohjat, sisäpuolelta eristetyt massiivirakenteet ja tuulettut yläpohjat. (FRAME-hanke rakennusten kosteusongelmien ehkäisemiseksi 2010, 4.) FRAME-hanketta johtava dosentti Juha Vinha TTY:ltä kertoo:

Hanke on erittäin haastava toteuttaa, koska siinä pyritään mallintamaan monimutkaisia vaipparakenteita eri ilmasto-olosuhteissa siten, että kaikki ilmaston räsitustekijät otetaan laskelmissa huomioon. (Rakennusteollisuus 2011).

Kolmivuotisen hankkeen tuloksien johtopäätöksenä todetaan muun muassa, että lisäeristäminen muuttaa rakenteiden rakennusfysikaalista toimintaa, mikä lisää kosteudesta aiheutuvien ongelmien riskiä rakennuksissa. Kosteudenhallinnan merkitys korostuu näin ollen tulevaisuuden energiatehokkaassa rakentamisessa. Projektin tuloksia on hyödynnetty jo useissa valmisteilla olevissa rakentamisen ohjeissa. Hankkeen tuloksia julkaistaan myös kansainvälisissä konferensseissa ja tieteellisissä julkaisuissa, mikä osaltaan edistää kansainvälistä yhteistyötä globaalin tason kosteusvaurioihin liittyvän problematiikan ratkaisuyrityksissä. (FRAME-hanke rakennusten kosteusongelmien ehkäisemiseksi 2010, 4.)

10 YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET

Yllä esiteltyjen kaltaisten hankkeiden organisointi on ilmastonmuutoksen ja rakentamiseen liittyvien tiukentuvien energiavaatimusten myötä jatkossa entistä tärkeämpää. Tutkimusrintamalla eletään nopean uuden oppimisen aikaa ja odotettavissa on uudentyypisiä toimivia käytännön menetelmiä ja ratkaisuja sekä rakennusteollisuuden että rakennuksia isännöivien ja niitä huoltavien tahojen sekä terveydenhuollon tarpeisiin. Läpikäydyn aineiston perusteella pidän erittäin todennäköisenä, että seuraavat kymmenen vuotta ovat positiivisen muutoksen aikaa alalla. Tulevaisuudessa olisi erittäin tärkeää alkaa valistaa kansalaisia kosteusvaurioihin liittyvistä terveydellisistä ja taloudellisista riskeistä jo koulussa. Näin jokainen tuleva talon omistaja ja asunnon vuokraaja olisi itsestään selvästi selvillä modernin asumisen asettamista vaatimuksista kiinteistöjen käytölle.

Yksi suuri haaste on etenevän ilmaston muutoksen myötä muuttuvat paikalliset kosteus- ja tuuliolosuhteet, jotka tulee ottaa huomioon uusien rakennusten suunnittelussa ja vanhojen korjaamisessa kosteusvaurio-ongelmien näkökulmasta. Energiatohokkaaseen rakennustapaan pyrittäessä myös eristemäärät kasvavat, mikä luo lisää tarpeita ymmärtää, kuinka erityyppisissä rakennuksissa kosteus hallitaan niin, että se ei joudu rakenteisiin. Modernissa asumisessa käytetään sisätiloissa monin verroin enemmän vettä aikaisempiin vuosikymmeniin verrattuna. Kaupungeissa kasvaneet sukupolvet käyttävät vettä aikaisempia sukupolvia enemmän, mikä osaltaan aiheuttaa ongelmia asunnoissa, joita ei ole suunniteltu kestämään suurta kosteusrasitusta.

Rakennuskannan keski-ikä ollessa tällä hetkellä yli kolmekymmentä vuotta (FinnEnergia Oy 2012) tulee korjausrakentamisen tarve kasvamaan kiihtyvällä vauhdilla.

Jotta kosteusvaurioihin liittyvä epätietoisuus ja käytäntöjen vaihtelevuus pystytään poistamaan, tarvitaan edelleen lisää tutkimusta ja toimivia yhteiskunnallisia käytäntöjä saavutettujen tutkimustulosten hyödyntämiseksi käytännön neuvonta-, korjaus- ja hoitotyössä. On kehitettävä järjestelmä, joka tarjoaa kosteusvaurioituneen asunnon tai muun tilan omistajalle tai sellaisessa

asumaan joutuneelle oikeudenmukaisen ja oikeaan tietoon sekä menettelytapoihin perustuvan mallin tilanteesta selviämiseen.

Tutkimuksia ja hankkeita organisoimalla on hankittava riittävästi eksaktia tietoa, jotta kosteusvaurion yhteydessä voidaan tarkasti ja riittävän edullisesti selvittää seuraavat asiat:

1. Mitä mikrobeja kosteusvaurioituneella alueella esiintyy?
2. Mikä on kosteusvaurion laajuus, eli missä mikrobeja esiintyy?
3. Onko vaurio korjattavissa ja mitkä ovat kohteeseen soveltuvat korjausmenetelmät
4. Mitä terveysvaikutuksia kosteusvauriomikrobit ovat aiheuttaneet altistuneissa henkilöissä ja mitkä mikrobit ovat terveysvaikutusten aiheuttajia, eli on löydettävä sairastumisten syy-seuraussuhteen luotettavasti osoittavia ja riittävän edullisia näytteenotto- ja analyysimenetelmiä
5. Missä määrin asunnossa tai muussa rakennuksessa olevat tavarat ovat kontaminoituneet kosteusvauriomikrobien aineenvaihduntatuotteista ja ovatko ne turvallisesti puhdistettavissa vai onko omaisuudesta osittain tai kokonaan luovuttava

Näytteidenotto- ja analysointitoiminta pitää saada puolueettomaksi ja riittävän helposti kansalaisten sekä alalla toimivien yritysten tavoitettavaksi.

Kosteusvaurioproblematiikan kanssa painimaan joutuneen asukkaan tai kiinteistön omistajan on saatava yhteiskunnan taholta organisoitua luotettavaa apua ja tietoa.

Edelleen on tärkeää onnistua kehittämään luvussa 7.4.2 kuvatun homevaroittimen kaltaisia kompakteja ja asuntojen hintoihin suhteutettuna kohtuuhintaisia sisäilmaa jatkuvasti monitoroivia laitteita. Tulevaisuudessa kaikissa asunnoissa tulisi palovaroittimen tapaan itsestään selvästi olla mikrobitoiminnan lisääntymisestä varoittava mitta- ja hälytyslaite. Tällaisten laitteiden kehittämisen tueksi tarvitaan yhteiskunnallisesti auktorisoidulta taholta selkeät ja ajanmukaistetut tiedot raja-arvoiksi eri hometoksiineille ja muille mikrobimyrkyille. Raja-arvot tulisi asettaa riittävän alhaiselle tasolle asteittain siten, että niitä tarkennettaisiin tutkimustiedon tarkentuessa. Nykyisestä

tutkimustiedon vähäisyyttä ja hajanaisuutta korostavasta retoriikasta tulisi sekä julkisessa keskustelussa että asiantuntijoiden välisessä köydenvedossa päästä eroon. Vaikka tutkimustieto asiaan liittyen on vielä puutteellista, tulisi olemassa olevaa tietoa kyetä hyödyntämään rohkeasti ja ennakkoluulottomasti niin, että saataisiin luotua vakiintuneet ja ihmisten terveyden turvaavat raja-arvot mikrobiksiinien pitoisuuksille.

Mielestäni onnistuin opinnäytetyössäni osoittamaan keskeiset alaan liittyvät näytteenotto- ja tutkimusmenetelmät sekä kosteusvaurioproblematiikan haastavimmat kehitysalueet.

LÄHTEET

Aatsalo, J. 2012. Homevaroitin haistaa myrkyt. 3T-Lehti. Uutinen 10.12.2012 [viitattu 12.2.2013]. Saatavissa:

http://www.3t.fi/artikkeli/uutiset/teknologia/homevaroitin_haistaa_myrkyt

Abdul-Wahab, S. A. (toim.) 2011. Sick Building Syndrome: in Public Buildings and Workplaces. Berlin Heidelberg, Springer Verlag.

Adan, O. C. G. & Samson, R. A. 2011. Fundamentals of mold growth in indoor environments and strategies for healthy living. The Netherlands, Wageningen Academic Publishers.

Andersen, A. A. 1958. New Sampler for the Collection, Sizing and Evaluation of Viable Airborne Particles, Journal of Bacteriology, Vol. 76 (5), 471–484.

Andersson, M. A., Mikkola, R., Rasimus, S., Hoornstra, D., Salin, P., Rahila, 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, Vol. 24 (7), 2041–2052.

Aru, A., Munk-Nielsen, L. & Federspiel, B. H. 1997. The soil fungus *Chaetomium* in human paranasal sinuses. European Archives of Oto-rhinolaryngology. Vol. 254 (7), 350–352.

AsteInfo. 2/2009. Maljoilla kasvaa homeongelman todisteita. Asumisterveysliiton AsTe ry:n tiedotuslehti AsteInfo 2/2009, 5.

Asumisterveysohje. 2003. Sosiaali- ja terveysministeriön oppaita 2003:1. Helsinki, Edita Prima Oy [viitattu 9.5.2012]. Saatavissa:

http://www.stm.fi/c/document_library/get_file?folderId=28707&name=DLFE-3518.pdf

Asumisterveysopas. 2009. Sosiaali- ja terveysministeriön Asumisterveysohjeen (STM:n oppaita 2003:1) soveltamisopas. 3. korjattu painos. Pori, Ympäristö ja Terveys -lehti.

- Becker, M., Degelmann, P., Herderich, M., Schreier, P. & Humpf, H.-U. 1998. Column liquid chromatography–electrospray ionisation–tandem mass spectrometry for the analysis of ochratoxin. *Journal of Chromatography A*, Vol. 818 (2), 260–264.
- Beltrán, E., Ibáñez, M., Sancho, J. V., Cortés, M. Á., Yusà, V. & Hernández, F. 2011. UHPLC–MS/MS highly sensitive determination of aflatoxins, the aflatoxin metabolite M1 and ochratoxin A in baby food and milk. *Food Chemistry*, Vol. 126 (2), 737–744.
- Bio-Rad. 2006. Real-time PCR Applications Guide. Bio-Rad Laboratories, Inc. [viitattu 7.2.2013]. Saatavissa: <http://www.gene-quantification.de/real-time-pcr-guide-bio-rad.pdf>
- Broad Institute. 2010. Organisms: *Chaetomium globosum*. Broad Institute [viitattu 9.6.2012]. Saatavissa: http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/chaetomium_globosum.2/GenomeDescriptions.html
- Capriotti, A. L., Foglia, P., Gubbiotti, R., Rocchia, C., Samperi, R. & Laganà, A. 2010. Development and validation of a liquid chromatography/atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometric method for the analysis of mycotoxins subjected to commission regulation (EC) No. 1881/2006 in cereals. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1217 (39), 6044–6051.
- CDC Public Health Image Library (PHIL). Centers for Disease Control and Prevention, US Department of Health and Human Services. Saatavissa: <http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>
- EMLab P&K 2012. An index of some commonly encountered fungal genera. EMLab P&K, LLC [viitattu 14.12.2012]. Saatavissa: <http://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po>
- Evira. 2012. Homemyrkyt eli mykotoksiinit. Elintarviketurvallisuusvirasto Evira [viitattu 28.5.2012]. Saatavissa: <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarv>

ikkeiden_riski-_ja_vaaratekijat/kemialliset_vaaratekijat/homemyrkyt_eli_mykoto
ksiinit

Eskeli, H., Hamara, J., Laukkanen, M.-L., Lehtonen, P. O., Luoto, K.,
Vihavainen, M. & Ylihärtilä, A. 2013. Kromatografiset menetelmät.
Laboratorioanalyysit. Opetushallituksen verkko-oppimateriaalit [viitattu
13.2.2013]. Saatavissa:
[http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-
2_kromatografiset_menetelmat.html](http://www03.edu.fi/oppimateriaalit/laboratorio/analyysimenetelmat_2-2_kromatografiset_menetelmat.html)

Fiedler, K., Schütz, E. & Geh, S. 2001. Detection of microbial volatile organic
compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International
Journal of Hygiene and Environmental Health*, Vol. 204, 111–121.

FinnEnergia Oy. 2012. Korjausrakentaminen [viitattu 3.8.2012]. Saatavissa:
<http://finnenergia.fi/index.php?id=53>

Fogle, M. R., Douglas, D. R., Jumper, C. A. & Straus, D. C. 2007. Growth and
mycotoxin production by *Chaetomium globosum*. *Mycopathologia*, Vol. 164 (1),
49–56.

Forsius, A. 2002. Ihmisiä lääketieteen historiassa: Alexander Fleming (1881–
1955) – penisilliinin keksijä [viitattu 12.6.2012]. Saatavissa:
<http://www.saunalahti.fi/arnoldus/fleming.html>

Forsius, A. 2003. Myrkkysieniä on varottava [viitattu 27.8.2012]. Saatavissa:
<http://www.saunalahti.fi/arnoldus/sienimyr.html>

FRAME-hanke rakennusten kosteusongelmien ehkäisemiseksi. 2010.
Sisäilmautiset 2/2010, 4.

Franco, C. M., Fente, C. A., Vazquez, B., Cepeda, A., Lallaoui, L., Prognon, P. &
Mahuzier, G. 1996. Simple and sensitive high-performance liquid
chromatography-fluorescence method for the determination of citrinin application
to the analysis of fungal cultures and cheese extracts. *Journal of Chromatography
A*, Vol. 723 (1), 69–75.

Genuis, S. J. 2007. Clinical medicine and the budding science of indoor mold exposure. *European Journal of Internal Medicine*, Vol. 18, 516–523.

Haapalahti, R. & Korhonen, H. 2009. Biopölyspesifisten IgM-vasta-aineiden viitearvojen määrittäminen osana In-House ELISA -menetelmän validointia. Savonia-ammattikorkeakoulu, Bioanalytiikan koulutusohjelma. Bioanalytiikan opinnäytetyö.

Halttunen, M. 2010. Rakennusmateriaalinäytteen mikrobikasvusto: Menetelmävalidointi. Jyväskylän ammattikorkeakoulu, Laboratorioalan opinnäytetyö.

Hannuksela, M. & Haahtela T. 2009. Homesienten, hiivasienten ja lakkisienten aiheuttamat allergiat. *Terveyskirjasto Duodecim*, 20.11.2009 [viitattu 20.5.2012]. Saatavissa:

http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=alg00266

Hautala, T. 2003. Opportunistiset sieni-infektiot. Oulun yliopiston sairaala, Sisätautien klinikka [viitattu: 12.5.2012]. Saatavissa:

<http://cc oulu.fi/~sisawww/esit/030417.htm>

Heikkilä, M. 2009. Homeista viis, ongelmatalossa sairastuttaa toksiini. *Tiede-lehti* 6/2009, 40–43.

Herrero-Garcia, E., Garzia, A., Cordobés, S., Espeso, E. A. & Ugalde, U. 2011. 8-Carbon oxylipins inhibit germination and growth, and stimulate aerial conidiation in *Aspergillus nidulans*. *Fungal Biology*, Vol. 115 (4–5), 393–400.

Herva, T. & Hokkanen, V.-M. 2011. N6-yksivaihekeräimen (Andersen) käyttöönotto sisäilman mikrobiutkimuksissa. *Aducate Reports and Books* 19/2011. Itä-Suomen yliopisto, Koulutus- ja kehittämisspalvelu Aducate. Kuopio.

Herva, T. & Hokkanen, V.-M. 2012. N6-yksivaihekeräimen (Andersen) käyttöönotto sisäilman mikrobiutkimuksissa. Teoksessa Säteri, J. & Backman, H. (toim.) *Sisäilmastoseminaari 2012. Sisäilmayhdistys raportti 30*. Jyväskylä: Bookwell Oy, 47–51.

- Hilmy, N., Chosdu, R. & Matsuyama, A. 1995. The effect of humidity after gamma-irradiation on aflatoxin B-1 production of *A. flavus* in ground nutmeg and peanut. *Radiation Physics and Chemistry*, Vol. 46 (4–6), 705–711.
- Hintikka, E.-L., Reijula, K. & Nikulin, M. 1998. Nykytietämys mykotoksiineista. *Suomen lääkärilehti*, Vol. 53 (18–19), 2171–2173.
- Hintikka, E.-L., Tuomi, T., Johnsson, T. & Reijula, K. 2003. Sisäilman sieni-itiöt ja mykotoksiinit. *Suomen lääkärilehti* 1/2003, 33–36.
- Hirst, J. M. 1952. An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, Vol. 39 (2), 257–265.
- Hooper, D. G., Bolton, V. E., Guilford, F. T. & Straus, D. C. 2009. Mycotoxin Detection in Human Samples from Patients Exposed to Environmental Molds. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 10, 1465–1475.
- Horppu, T. 2008. Hometaloissa hengitetään myrkyllistä ilmaa. *Kemia-lehti*. Vol. 35 (2008), 6-9.
- Husman, T., Roto, P. & Seuri, M. 2002. Sisäilma ja terveys – tietoa rakentajille. Kansanterveyslaitos, KTL B14 / 2002. Kuopio, Kuopion yliopiston painatuskeskus.
- Huttunen, K., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Komulainen, H. & Hirvonen, M.-R. 2003. Production of proinflammatory mediators by indoor air bacteria and fungal spores in mouse and human cell lines. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 111 (1), 85–92.
- Hyvärinen, A. 2002. Characterizing moisture damaged buildings - environmental and biological monitoring. Publications of National Public Health Institute A8/2002. Kuopio, Finland, Kuopio University Printing Office.
- Häkkinen, S. 2011. Useampi elatusalustoja: Enemmän tietoa vai ylimääräisiä kustannuksia? Teoksessa Säteri, J. & Backman, H. (toim.) *Sisäilmastoseminaari 2011*. Sisäilmayhdistys raportti 29. Jyväskylä, Bookwell Oy, 109–114.

- Jantinen, J. & Saarinen, K. 2008. Pujo taajama-alueiden allergiakasvina. Loppuraportti. Etelä-Karjalan Allergia- ja Ympäristöinstituutti. Joutseno.
- Juan, C., Ritieni, A. & Mañes, J. 2012. Determination of trichothecenes and zearalenones in grain cereal, flour and bread by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, Vol. 134 (4), 2389–2397.
- Kavanagh, K. (toim.) 2011. *Fungi: Biology and Applications*. Second Edition. UK, John Wiley & Sons, Ltd.
- Kemppainen, N. 2010. Ulkoilman mikrobien kulkeutuminen sisäilmaan. Jyväskylän ammattikorkeakoulu, Laboratorioalan opinnäytetyö.
- Kong, W., Zhang, X., Shen, H., Ou-Yang, Z. & Yang, M. 2012. Validation of a gas chromatography-electron capture detection of T-2 and HT-2 toxins in Chinese herbal medicines and related products after immunoaffinity column clean-up and pre-column derivatization. *Food Chemistry*, Vol. 132 (1), 574–581.
- Koponen, A. 1999. *Tiedätkö mitä syöt?* Helsinki: Tammi.
- Korttinen, J. 2010. Sisäilmamittausten laatuun vaikuttavia tekijöitä – Sisäilman mikrobinäytteet. Mikkelin ammattikorkeakoulu, Ympäristötekniikan koulutusohjelma. Ympäristötekniikan opinnäytetyö.
- Kos, G. & Krska, R. 2013a. Gas Chromatography (GC). European Mycotoxins Awareness Network [viitattu 28.2.2013]. Saatavissa: <http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=36>
- Kos, G. & Krska, R. 2013b. High Performance Liquid Chromatography (HPLC). European Mycotoxins Awareness Network [viitattu 23.2.2013]. Saatavissa: <http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=35>
- Kos, G. & Krska, R. 2013c. Thin-Layer Chromatography (TLC). European Mycotoxins Awareness Network [viitattu 23.2.2013]. Saatavissa: <http://services.leatherheadfood.com/eman/FactSheet.aspx?ID=34>

Kosteusvauriomikrobi. 2010. Wikipedia – vapaa tietosanakirja [viitattu 8.5.2012].
Saatavissa: <http://fi.wikipedia.org/wiki/Kosteusvauriomikrobi>

Kukkonen, E. 2010. Juhani Pirinen vetämään kosteus- ja hometalkoita.
Sisäilmautiset 1/2010, 8–9.

Kärkkäinen, P., Nevalainen, A., Rintala, H., Ritari, J., Pitkäranta, M., Paulin, L. & Auvinen, P. 2006. DNA-microarray for detection of harmful microorganisms in indoor environments. Teoksessa Tekes (toim.) FINE – Pienhiukkaset – Teknologia, ympäristö ja terveys 2002–2005. Teknologiaohjelmaraportti 9/2006 [viitattu 10.2.2013]. Saatavissa:
www.tekes.fi/fi/document/43111/fine_pienhiukkaset_pdf

Laajoki, M. & Lehtinen, A. 2012. Vaarojen arviointi ongelmakohteissa: Rakennusten tutkimus- ja korjaustöissä. Itä-Suomen yliopisto, Koulutus- ja kehittämispalvelu Aducate. Rakennusterveysalan opinnäytetyö. Kuopio.

Labnet. 2012. Ilmanäytekeräimet. Esite [viitattu 27.12.2012]. Saatavissa:
<http://www.labnet.fi/doc/ilmanaytekeraimet.pdf>

Laitinen, A. 2012. Ilmanpuhdistimen kyky poistaa VOC-kaasuja sisäilmasta ja sisäilman laatu eräässä saneerauskohteessa. Mikkelin ammattikorkeakoulu, Ympäristötekniikan koulutusohjelma. Ympäristötekniikan opinnäytetyö.

Laitinen, L. 2013. Toxtest-hankkeesta jäi kasa tomua. Kemia-lehden uutiskirje 4/2013, 1–2 [viitattu 24.3.2013]. Saatavissa: http://www.kemia-lehti.fi/wp-content/uploads/2013/02/kemia_uut_2013_4.pdf

Laylin, T. 2012. Jame Ewing Photographs Make it Right's Green Homes in New Orleans. Inhabitat weblog 6.2.2012 [viitattu 3.6.2012]. Saatavissa:
<http://inhabitat.com/james-ewing-photographs-make-it-rights-green-homes-in-new-orleans/>

Lederberg, J. (toim.) 1999. Biological Weapons: Limiting the Threat. Harvard University, Belfer Center for Science and International Affairs. Cambridge, Massachusetts, USA, MIT Press.

- Leivo, V. (toim.). 1998. Opas kosteusongelmiin – Rakennustekninen, mikrobiologinen ja lääketieteellinen näkökulma. Tampereen teknillinen korkeakoulu, Rakennustekniikan osasto. Julkaisu 95. Tampere.
- Lemmetyinen, J. 2002. Metsäekologian perusteet 1. MetsäVerkko. Pohjois-Karjalan koulutuskuntayhtymä [viitattu 10.6.2012]. Saatavissa: <http://virtuoozi.pkky.fi/metsaverkko/metsaekologia/ekologia1.htm>
- Lerda, D. 2010. Mycotoxins factsheet. 3rd edition. JRC Technical Notes 60040. European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements [viitattu 19.3.2013]. Saatavissa: http://irmm.jrc.ec.europa.eu/EURLs/eurl_mycotoxins/Documents/JRC%2060040_Mycotoxin%20factsheet_3rd%20edition.pdf
- Lignell, U., Meklin, T., Rintala, H., Hyvärinen, A., Vepsäläinen, A., Pekkanen, J. & Nevalainen, A. 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*, Vol. 47 (4), 303–308.
- Louhelainen, K., Mäkinen, M. & Rissanen, P. 2004. Biologinen ja kemiallinen altistuminen ja sen vähentäminen perunan ja sipulin kauppakunnostuksessa. Loppuraportti maatalousyrittäjien eläkelaitokselle. Kuopion aluetyöterveyslaitos. Kuopio.
- Machida, M. & Gnomi, K. 2010. *Aspergillus* - Molecular Biology and Genomics. Norfolk, UK, Caister Academic Press.
- Magan, N. & Olsen, M. (toim.) 2004. *Mycotoxins in Food: Detection and Control*. Cambridge, England, Woodhead Publishing Ltd.
- Mahieu, L. M., De Dooy, J. J., Van Laer, F. A., Jansens, H. & Ieven, M. M. 2000. A prospective study on factors influencing *Aspergillus* spore load in the air during renovation works in a neonatal intensive care unit. *Journal of Hospital Infection*, Vol. 45, 191–197.

Markkanen, P. (Penttinen P.), Pelkonen, J., Tapanainen, M., Mäki-Paakkanen, J., Jalava, P.I. & Hirvonen, M.-R. 2008. Co-cultivated damp building related microbes *Streptomyces californicus* and *Stachybotrys chartarum* induce immunotoxic and genotoxic responses via oxidative stress. *Inhalation Toxicology*, Vol. 21 (10), 857–867.

Markkanen, P., Alenius, H., Salkinoja-Salonen, M., Hyvärinen, A., Matikainen, S., Mikkola, R., Nevalainen, A., Andersson, M.A., Täubel, M., Järvi, K. & Hirvonen, M.-R. 2011. Kosteus- ja homevaurion vakavuuden arviointi toksikologisten menetelmien avulla. Teoksessa Säteri, J. & Backman, H. (toim.) *Sisäilmastoseminaari 2011. Sisäilmayhdistys raportti 29*. Jyväskylä: Bookwell Oy, 93–97.

Matysik, S., Herbarth, O. & Mueller, A. 2008. Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wall paper and synthetic media. *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 75, 182–187.

MBL. 2007. *Mold Sampling And Identification Methods*. Mold & Bacteria Consulting Laboratories MBL, February 18, 2007 [viitattu 15.8.2012]. Saatavissa: <http://www.moldbacteriaconsulting.com/fungi/mold-sampling-and-identification.html>

Meklin, T., Putus, T., Hyvärinen, A., Haverinen-Shaughnessy, U., Lignell, U. & Nevalainen, A. 2007. Koulurakennusten kosteus- ja homevauriot – Opas ongelmien selvittämiseen. *Kansanterveyslaitoksen julkaisuja C 9/2007*.

Metropolia. 2012. Metropolian homevaroitin paljastaa sisäilmaongelmia. (Uutinen 26.10.2012) Metropolia Ammattikorkeakoulu [viitattu 15.2.2013]. Saatavissa: [http://www.metropolia.fi/ajankohtaista/uutiset/arkisto/?tx_ttnews\[tt_news\]=3754&cHash=24c8f695391a20b5f1a24cd5225dc2c5](http://www.metropolia.fi/ajankohtaista/uutiset/arkisto/?tx_ttnews[tt_news]=3754&cHash=24c8f695391a20b5f1a24cd5225dc2c5)

Miettinen, J. 2012. Rakennusmateriaalien mikrobikasvun toteaminen teippinäytteiden suoralla mikroskopoinnilla. Itä-Suomen yliopisto, Koulutus- ja kehittämisspalvelu Aducate. Rakennusterveysalan opinnäytetyö. Kuopio.

Miettinen, S. 2008. *Aspergillus*-sienet. Pinkka opiskelijalle – Lajintuntemuksen oppimisympäristö. Helsingin yliopisto [viitattu 12.5.2012]. Saatavissa: <http://www.helsinki.fi/pinkka/aspergillus/index.htm>

Money, N. P. 2004. *Carpet Monsters and Killer Spores: A Natural History of Toxic Mold*. New York, USA, Oxford University Press, Inc.

Nawaz, S., Coker, R. D. & Haswell, S. J. 1992. Development and evaluation of analytical methodology for the determination of aflatoxins in palm kernels, *Analyst*, Vol. 117, 67–74.

Nenonen, M. 2010. Sisäilman mikrobiselvitys Tampereen ammattikorkeakoulussa. Tampereen ammattikorkeakoulu, Kemiantekniikan koulutusohjelma. Kemiantekniikan ja ympäristötekniikan opinnäytetyö.

Oikawa, H., Murakami, Y. & Ichihara, A. 1991. New plausible precursors of chaetoglobosin A accumulated by treatment of *Chaetomium subaffine* with cytochrome P-450 inhibitors. *Tetrahedron Letters*, Vol. 32 (35), 4533–4536.

Palmgren, U., Ström, G., Blomquist, G. & Malmberg P. 1986. Collection of airborne microorganisms on Nuclepore filters, estimation and analysis – CAMNEA-method. *Journal of Applied Bacteriology*, Vol. 61, 401–406.

Pasanen, A.-L., Korpi, A., Kasanen, J.-P. & Pasanen P. 1998. Critical aspects on the significance of microbial volatile metabolites as indoor air pollutants. *Environment international*, Vol. 24 (7), 703-712.

Pessi, A.-M. 2012. qPCR -menetelmä hometaloanalytiikassa. Esitys Turun yliopiston Aerobiologian yksikön asiakaspäivillä 13.12.2012 [viitattu 20.3.2013]. Saatavissa: <http://aerobiologia.utu.fi/tutkimuspalvelut/Asiakaspv2012/qPCR-menetelma-Pessi-Aspv131212.pdf>

Pitkäranta, M., Meklin, T., Hyvärinen, A., Paulin, L., Auvinen, P., Nevalainen, A. & Rintala, H. 2008. Analysis of Fungal Flora in Indoor Dust by Ribosomal DNA Sequence Analysis, Quantitative PCR, and Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 74, 233–244.

Pitkäranta, M., Meklin, T., Hyvärinen, A., Nevalainen, A., Paulin, L., Auvinen, P., Lignell, U. & Rintala, H. 2011. Molecular profiling of fungal communities in moisture damaged buildings before and after remediation – a comparison of culture-dependent and culture-independent methods. *BMC Microbiology*, Vol. 11, 235.

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. *Science of The Total Environment*, Vol. (414), 277–286.

Putus, T. 2006. IndoorAid-verkkosivusto [viitattu 15.5.2012]. Saatavissa: <http://indooraid.com>

Putus, T. 2010. Home ja Terveys. Kosteusvauriohomeiden ja hiivojen terveyshaitat. Suomen Ympäristö- ja Terveysalan Kustannus Oy. Vammala, Vammalan Kirjapaino Oy.

Putus, T. 2011. Moulds as moisture indicators. Abstract. 8th NSMM meeting in Helsinki. May 24–25, 2011 [viitattu 25.5.2012]. Saatavissa: <http://www.nsmm.nu/Abstractbook2011.pdf>

Puustinen, J. 2011. MycoMeter – testin soveltuvuus kosteusvauriotutkimuksiin. *Aducate Reports and Books 14/2011*. Itä-Suomen Yliopisto, Koulutus- ja kehittämispalvelu Aducate. Kuopio, Kopijyvö Oy.

Rai, M. K., Bonde, S. R., Ingle, A. P. & Gade, A. K. 2012. Mycotoxin: rapid detection, differentiation and safety. *Journal of Pharmaceutical Education and Research*, Vol. 3 (1), 22–34.

Rakennusteollisuus. 2011. FRAME-tutkimushankkeen ensimmäiset tulokset valmistuivat - Rakennusten lisäeristäminen korostaa kosteudenhallinnan merkitystä [viitattu 25.7.2012]. Saatavissa: <http://www.rakennusteollisuus.fi/RT/Ajankohtaista/Rakennusten+lis%C3%A4erist%C3%A4minen+korostaa+kosteudenhallinnan+merkityst%C3%A4/>

Rantamäki, J., Kääriäinen, H., Tulla, K., Viitanen, H., Kalliokoski, P., Keskkikuru, T., Kokotti, H. & Pasanen, A.-L. 2000. Rakennusten ja rakennusmateriaalien homeet. VTT Tiedotteita 2030. Valtion teknillinen tutkimuskeskus (VTT). Espoo.

Rautala, T., Hietaniemi, V., Rämö, S., Koivisto, T., Ovaskainen M.-L., Sinkko, H., Kronberg-Kippilä, C., Hirvonen, T., Liukkonen, K.-H., Kartio, M. & Hallikainen, A. 2008. *Fusarium*-toksiinit: saanti viljasta ja viljatuotteista aikuisilla Suomessa. Elintarviketurvallisuusvirasto Eviran tutkimuksia 5/2008. Helsinki, Multiprint Oy.

Reiman, M., Kujanpää, L., Junttila, S., Lappalainen, S., Lindroos, O., Pasanen, A.-L., Rajala, R., Rautiala, S., Reijula, K. & Tuomi, T. 2005. Rakennusten kosteusvaurioita kuvastava mikrobisto. Työterveyslaitos. Ympäristö ja Terveys -lehti 8/2005, 56–59.

Rintala, H. 2006. Uudet tekniikat sisäympäristön mikrobien toteamisessa. Esitys LIITU-päivänä 4.5.2006 Kuopiossa [viitattu 10.3.2013]. Saatavissa: <http://webd.savonia-amk.fi/projektit/markkinointi/EBC/users/commonFiles/LIITU-p%C3%A4iv%C3%A4n%20esityksi%C3%A4/Uudet%20tekniikat%20sis%C3%A4ymp%C3%A4rist%C3%B6n%20mikrobien%20toteamisessa.pdf>

Rodríguez-Carrasco, Y., Berrada, H., Font, G. & Mañes, J. 2012. Multi-mycotoxin analysis in wheat semolina using an acetonitrile-based extraction procedure and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Vol. 1270, 28–40.

Ruokatieto. 1998. Aflatoksiini-määräykset yhtenäisiksi EU:ssa. Ruokatieto yhdistys ry. (Utinen 28.8.1998) [viitattu 6.6.2012]. Saatavissa: http://uutiset.ruokatieto.fi/WebRoot/1043198/X_Arkistoitu_uutinen_tai_tiedote.aspx?id=1078952&NewsItem=18486

Ruukki, J. 2003. Hometalossa riehuvat mikrobijengit. *Tiede-lehti* 7/2003, 20–25.

Salkinoja-Salonen, M. 2002. Mikrobiologian perusteita. Helsingin yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos.

Salkinoja-Salonen, M. (toim.) 1999. Myrkylliset mikrobit sisätiloissa. Mikrobiologian julkaisuja 45/1999. Helsingin yliopisto, Soveltuvan kemian ja mikrobiologian laitos.

Salkinoja-Salonen, M. 2009. Mikrobitoksiinit sisätiloissa. Esitys Sisäilmastoseminaarissa 18.3.2009 Dipolissa, Espoossa [viitattu: 9.6.2012]. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/attachments/sem2009/mikrobitoksiinit_sisatiloissa.pdf

Schothorst, R. C. & Jekel, A. A. 2001. Determination of trichothecenes in wheat by capillary gas chromatography with flame ionisation detection. Food Chemistry, Vol. 73 (1), 111–117.

Seuri, M. & Reiman, M. 1996. Rakennusten kosteusvauriot, home ja terveys. Helsinki, Rakennustieto Oy.

Sienet. 2012. Wikipedia – vapaa tietosanakirja [viitattu 11.5.2012]. Saatavissa:
<http://fi.wikipedia.org/wiki/Sienet>

Sisäilmayhdistys. 2008a. Katsaus mikrobeihin [viitattu 9.5.2012]. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/kosteusvauriot/mikrobit/katsaus_mikrobeihin

Sisäilmayhdistys. 2008b. Kemialliset tutkimukset [viitattu 2.3.2013]. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/ongelmien_tutkiminen/muutt_sisailmatutkimukset/kemialliset_tutkimukset/

Sisäilmayhdistys. 2008c. Mikrobin terveyshaitat [viitattu 28.6.2012]. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/terveysvaikutukset/mikrobin_terveyshaitat

Sisäilmayhdistys. 2008d. Mikrobikasvun edellytykset [viitattu 12.5.2012]. Saatavissa:
http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/kosteusvauriot/mikrobit/mikrobikasvun_edellytykset

Sisäilmayhdistys. 2008e. Näytteenotto [viitattu 24.7.2012]. Saatavissa: http://www.sisailmayhdistys.fi/portal/terveelliset_tilat/ongelmien_tutkiminen/mikrobitutkimukset/naytteenotto

Sokolović, M. & Šimpraga, B. 2006. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin layer chromatography. *Food Control*, Vol. 17 (9), 733–740.

Soleimany, F., Jinap, S., Rahmani, A. & Khatib, A. 2011. Simultaneous detection of 12 mycotoxins in cereals using RP-HPLC-PDA-FLD with PHRED and a post-column derivatization system. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*, Vol. 28 (4), 494–501.

Solunetti. 2006. Kromatografia [viitattu 15.3.2013]. Saatavissa: <http://www.solunetti.fi/fi/solubiologia/kromatografia/>

Spengler, J. D., Samet, J. M. & McCarthy, J. F. (toim.) 2001. *Indoor Air Quality Handbook*. USA, The McGraw-Hill Companies Inc.

Sudakin, D. L. 2003. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters*, Vol. 143 (2), 97–107.

Suomen Ihotautilääkäriyhdistys ry & Kliiniset Mikrobiologit ry. 2001. Ihon, hiusten ja kynsien sieni-infektiot: näytteiden otto, diagnostiikka ja vastauskäytäntö. Käypä hoito -suositus. *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* Vol. 117(4), 450–459.

Tanaka, T., Yoneda, A., Inoue, S., Sugiura, Y. & Ueno, Y. 2000. Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, Vol. 882 (1–2), 23–28.

TOXTEST kehittää hometalojen tutkimusmenetelmiä. 2011. *Sisäilmautiset* 1/2011, 22.

Tuomi, T. 2012. Asumisterveysohjeen mukaiset kemialliset analyysit. Esitys Työterveyshuollon asiantuntijoille 10.2.2012 [viitattu 13.3.2013]. Saatavissa:

http://www.ttl.fi/fi/koulutus/perjantaimetingit/Documents/VOC-mittauksen%20k%C3%A4ytt%C3%B6%20ja%20tulkinta_TapaniTuomi.pdf

Turner, N. W., Subrahmanyam, S. & Piletsky, S. A. 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, Vol. 632, 168–180.

Turun yliopisto. 2012. Rakennuksiin liittyvät analyysit. Turun yliopisto, Aerobiologian yksikkö [viitattu 4.11.2012]. Saatavissa: <http://aerobiologia.utu.fi/tutkimuspalvelut/analyysit.html>

Työterveyslaitos. 2007. Työterveyslaitos: Vuosikertomus 2007 [viitattu 27.6.2011]. Saatavissa: http://www.ttl.fi/fi/tyoterveyslaitos/vuosikertomus/vuosikertomus/Documents/vsk_2007.pdf

Uusi-Kämpä, J. & Rissanen, P. (toim.) 2004. Suuret pihatot – eläinten hyvinvointi, lypsyn työnmenekki, työolot ja ympäristönhoito. Maa- ja elintarviketalous 47. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus MTT. Jokioinen.

Valtion ympäristöhallinto. 2011. Homeet ja sienet. Valtion ympäristöhallinnon verkkopalvelu www.ymparisto.fi [viitattu 27.5.2012]. Saatavissa: <http://www.ymparisto.fi/default.asp?contentid=388990&lan=FI>

Var, I., Kabak, B. & Gök, F. 2007. Survey of aflatoxin B1 in helva, a traditional Turkish food, by TLC. *Food Control*, Vol. 18 (1), 59–62.

Viljanen, M., Kettunen, A.-V., Kauriinvaha, E., Bergman, J., Laamanen, P., Nevalainen, A., Hyvärinen, A. & Meklin, T. 1997. Kosteus- ja homevaurioituneen rakennuksen kuntotutkimus. *Ympäristöopas* 28. Helsinki, Ympäristöministeriö.

Vesper, S., McKinstry, C., Haugland, R., Wymer, L., Bradham, K., Ashley, P., Cox, D., Dewalt, G. & Friedman, W. 2007. Development of an Environmental Relative Moldiness Index for US homes. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, Vol. 49 (8), 829–833.

Vesper, S. 2011. Traditional mould analysis compared to a DNA-based method of mould analysis. *Critical Reviews in Microbiology*, Vol. 37 (1), 15–24.

Wang, H. & Yadav, J. S. 2006. DNA damage, redox changes, and associated stress-inducible signaling events underlying the apoptosis and cytotoxicity in murine alveolar macrophage cell line MH-S by methanol-extracted *Stachybotrys chartarum* toxins. *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 214 (3), 297–308.

Wearing, J. 2010. *Fungi: Mushrooms, Toadstools, Molds, Yeasts and Other Fungi*. USA, Crabtree Publishing Company.

WHO. 2009. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. World Health Organization [viitattu 20.5.2012]. Saatavissa:

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0017/43325/E92645.pdf

Wikimedia Commons. Wikimedia Foundation. Saatavissa:

http://commons.wikimedia.org/wiki/Main_Page

Wilkins, K., Larsen, K. & Simkus, M. 2000. Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. *Chemosphere*, Vol. 41 (3), 437–446.

Wüst, G., Friedl, H., Haas, D., Köck, M., Pichler-Semmelrock, F., Reinthaler, F. F., Schlacher, R. & Marth, E. 2003. A comparison between Andersen (ACFM) and Reuter Centrifugal Sampler (RCS-plus) for indoor sampling of airborne molds. *Aerobiologia*, Vol. 2/19, 125–128.

Yli-Mattila, T., Paavanen-Huhtala, S., Sarlin, T., Jestoi, M., Parikka, P., Rizzo, A., Haikara, A., Gagkaeva, T. & Klemsdal, S. 2006. Kvantitatiivien PCR-pikamäärittämissuunnitelma viljojen *Fusarium*-homeille. Teoksessa: Hopponen, A. (toim.) *Maataloustieteen Päivät 2006*. Suomen Maataloustieteellisen Seuran julkaisu No 21. Julkaistu 9.1.2006 [viitattu 2.2.2013]. Saatavissa:

<http://www.smts.fi/pos06/0906.pdf>

Yli-Pirilä, T. 2009. Amoebae in Moisture-Damaged Buildings. Academic dissertation. National Institute for Health and Welfare, Research 13. Helsinki, Finland.

Young, J. C. & Games, D. E. 1994. Analysis of *Fusarium* mycotoxins by gas chromatography-Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Chromatography A*, Vol. 663 (2), 211–218.