

Työpaperi 56/2022

Mikrobikasvuston selvittämiseen käytettävät menetelmät kosteusvauriokohteissa – kirjallisuuskatsaus

Hanna Leppänen, Kaisa Jalkanen, Anniina Salmela, Anne Hyvärinen

Sisäympäristössä hyvän sisäilman laadun lisäksi tilojen tulee olla hyvinvointia, työntekoa ja oppimista edistäviä. On tärkeää ennaltaehkäistä kosteus- ja mikrobivaurioita kiinnittämällä huomiota ammattitaitoiseen rakennusten suunnitteluun ja rakentamiseen sekä myös huolelliseen kunnossapittoon. Puuttamalla ripeästi rakennuksessa havaittuihin epäpuhtauslähteisiin, kuten kosteusvaurioihin ja niistä aiheutuviin mikrobivaurioihin, voidaan rakennuksen sisäilman laatuun vaikuttaa ja myös myötävaikuttaa, että rakennuksen elinkaari pysyy mahdollisimman pitkänä. Kosteusvauriot tulee tutkia pätevän asiantuntijan toimesta rakennusteknisten selvitysten avulla ja mikäli vaurio ei ole aistinvaraisesti todettavissa, käyttää luotettavia mikrobimääritysmenetelmiä mahdollisen mikrobikasvuston osoittamiseksi. Havaitut kosteus- ja mikrobivauriot tulisi korjata.

Suomessa Terveydensuojelulain (763/1994) määrittämällä terveyshaitalla tarkoitetaan esimerkiksi elinympäristössä olevasta tekijästä tai olosuhteesta aiheutuvaa sairautta tai sen oiretta. Terveyshaitana pidetään myös altistumista terveydelle vaaralliselle tekijälle siinä määrin, että sairauden tai sen oireiden syntyminen on mahdollista. Terveydensuojelulain nojalla annettu asumisterveysasetus (545/2015) ja sen soveltamisohje (Valvira 8/2016) sisältävät toimenpiderajat, joiden ylityessä voi terveydensuojeluviranomainen vaatia sen, jonka vastuulla haitta on, ryhtymään toimenpiteisiin terveydensuojelulain mukaisen terveyshaitan selvittämiseksi ja tarvittaessa sen poistamiseksi tai rajoittamiseksi. Toimenpiderajat eivät ole terveysperusteisia eli niiden avulla ei voi arvioida terveysvaikutuksia.

Asumisterveysasetus ja sen soveltamisohje ohjaavat myös laboratorioita mikrobikasvuston toteamiseksi käytettävistä mikrobimääritysmenetelmistä ja tulosten tulkinnasta mikrobikasvuston osoittamiseksi. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen menetelmien sijaan voidaan viranomaistoinnassa käyttää myös muuta menetelmää mikrobikasvuston osoittamiseksi, mikäli menetelmän luotettavuus on osoitettu tai yhtenevyys asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmällä on Ruokaviraston hyväksyntä.

Katsauksessa käydään läpi erilaisia tutkimusmenetelmiä ja näytetyyppejä, joilla osoitetaan mikrobikasvustoa tai mikrobilähteitä sekä vertaillaan tutkimusmenetelmien tuloksia asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisiin menetelmiin. Katsaus on rajattu koskemaan ainoastaan kansainvälisesti vertaisarvioituja julkaisuja, joissa näytteitä on otettu kosteusvaurioituneista rakennuksista.

Mikrobikasvuston selvittämiseen käytettävät menetelmät kosteusvauriokohteissa – kirjallisuuskatsaus on osa Kansallista sisäilma ja terveys -ohjelmaa ja täydentää ohjelman tavoitteita kehittämällä sisäympäristöön liittyvien ongelmien hallintaa. Kansallisen sisäilma ja terveys -ohjelman tavoitteena on edistää terveyttä ja hyvinvointia vähentämällä sisäympäristöön liittyviä haittoja Suomessa. Ohjelmaa koordinoi Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, ja työhön osallistuvat aktiivisesti Työterveyslaitos, Filha ry, Hengitysliitto, Allergia-, Iho- ja Astmaliitto sekä Sisäilmayhdistys ry. Ohjelma toteuttaa hallituksen Terveet tilat 2028 -ohjelman terveyden ja hyvinvoinnin edistämistä koskevia toimenpiteitä.

Lukijalle

Hyvä sisäilma tukee toimintakykyä ja terveyttä. Hyvän sisäilman lisäksi myös tilojen tulee olla hyvinvointia, työntekoa ja oppimista edistäviä. Tämän vuoksi rakennusten kosteus- ja mikrobivaurioita tulisi ennaltaehkäistä ja korjata. Rakennuksessa olevan mikrobikasvuston osoittamiseen tarvitaan siihen soveltuvia ja luotettavia menetelmiä, silloin kun mikrobikasvu ei ole aistinvaraisesti todettavissa. Tämän kirjallisuuskatsauksen tavoitteena oli selvittää tutkimuskirjallisuuden perusteella asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisten sekä muiden tutkimuskäytössä olevien mikrobikasvustoa ja -lähteitä osoittavien menetelmien käytettävyyttä rakennusten mikrobikasvuston osoittamisessa. Katsaus rajattiin koskemaan ainoastaan kansainvälisiä, vertaisarvioituja julkaisuja, joissa näytteitä oli otettu kosteusvaurioituneista rakennuksista.

Kiitämme Turun Yliopiston biodiversiteettiyksikön erikoistutkija Anna-Mari Pessiä katsauksen kommentoinnista. Kirjallisuuskatsaus on tehty osana Kansallista sisäilma ja terveys -ohjelmaa. Ohjelmaan voi tutustua [ohjelman internetsivulla](#).

Tiivistelmä

Hanna Leppänen, Kaisa Jalkanen, Anniina Salmela, Anne Hyvärinen. Mikrobikasvuston selvittämiseen käytettävät menetelmät kosteusvauriokohteissa – kirjallisuuskatsaus. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL). Työpäperi 56/2022. 40 sivua. Helsinki 2022. ISBN 978-952-343-999-3 (verkkojulkaisu)

Kirjallisuuskatsauksessa käydään läpi sekä asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaiset että tutkimuskäytössä olevat mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen käytettävät menetelmät sekä niiden käytettävyys. Katsaus on rajattu koskemaan ainoastaan kansainvälisiä, vertaisarvioituja julkaisuja, joissa näytteitä on otettu kosteusvaurioituneista rakennuksista.

Kirjallisuuden perusteella asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisia menetelmiä käytetään sellaisenaan pääasiassa vain Suomessa. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen menetelmät pohjautuvat tutkimuskäytössä käytettyihin validoituihin menetelmiin, joihin on kerätty aineistoja sekä kosteus- ja mikrobivaurioituneista että vertailurakennuksista. Tekemämme kyselyn mukaan harvassa muussa maassa on olemassa ministeriön tai hallituksen antama ohjeistus siitä, kuinka mikrobimääritykset (mikrobinäytteet ja -analyysit) tulisi tehdä rakennustutkimuksissa mikrobikasvuston toteamiseksi. Ohjeistukset eroavat toisistaan niin näytteenoton kuin analyysimenetelmien suhteen. Tutkimuskirjallisuutta, jossa tutkimuskäytössä olevilla menetelmillä saatuja tuloksia olisi verrattu asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisten menetelmien tuloksiin, on verrattain vähän.

Avainsanat: mikrobikasvusto, kosteusvaurio, sisäilma

Sisällys

Lukijalle.....	2
Tiivistelmä.....	3
Sisällys.....	4
Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaiset menetelmät ja näytetyypit mikrobikasvuston selvittämisessä.....	5
Mikrobiologiset näytteet ja elinkykyisten mikrobien viljely	5
Rakennusmateriaalinäytteet	5
Pintasivelynäytteet	6
Ilmanäytteet.....	7
Viljelyyn perustuvien menetelmien vahvuudet ja rajoitukset	8
Suoramikroskopointi	8
Kansainvälinen ohjeistus ja lainsäädäntö	9
Kuinka tutkimuskäytössä olevat mikrobimääritysmenetelmät tukevat rakennusten kuntotutkimuksia?.....	12
Kvantitatiivinen PCR (qPCR).....	12
Sekvensointi	13
NAHA-ensyymien aktiivisuus.....	14
Mikrobien rakennekomponentit.....	15
Ergosteroli	15
(1→3)-β-D-glukaanit	15
EPS.....	16
Endotoksiini	17
3-OHFA.....	17
Muramiinihappo.....	18
Mikrobitoksiinit.....	18
MVOC-pitoisuus	19
Menetelmien väliset vertailut.....	22
Mycometer vs. viljely	22
Sekvensointi vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely	22
qPCR vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely.....	22
Kemialliset markerit vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely	23
Erilaiset tutkimuskäytössä olevat näytetyypit mikrobialtistumisen arviointiin	23
Tutkimuskäytössä olevat ilmanäytteet.....	23
Tutkimuskäytössä olevat pölynäytteet.....	25
Tutkimuskäytössä olevat pintanäytteet	26
Näytetyyppien väliset vertailut	26
Näytetyyppien toistettavuus.....	27
Johtopäätökset.....	28
Lähteet.....	31

Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaiset menetelmät ja näytetyypit mikro-bikasvuston selvittämisessä

Rakennuksen terveydellisten olosuhteiden arvioimista varten on säädetty viranomaistoimintaan asumisterveysasetus (545/2015) ja laadittu sen soveltamisohje (Valvira 8/2016). Näiden mukaan toimenpiteisiin terveydensuojelulain (763/1994) mukaisen terveyshaitan selvittämiseksi ja tarvittaessa sen poistamiseksi tai rajoittamiseksi tulee ryhtyä (ns. toimenpiderajan ylitys), kun rakennuksessa esiintyy:

- Korjaamatonta kosteus- tai lahovauriota.
- Aistinvaraisesti todettua ja tarvittaessa analyyseillä varmistettua mikrobikasvua rakennuksen sisäpinnalla, sisäpuolisessa rakenteessa tai lämmöneristeessä silloin, kun lämmöneriste ei ole kosketuksessa ulkoilman tai maaperän kanssa.
- Mikrobikasvua muussa rakenteessa tai tilassa, jos sisätiloissa oleva voi sille altistua.

Terveydensuojelulain mukaisella terveyshaitalla tarkoitetaan ihmisessä todettavaa sairautta, muuta terveydenhäiriötä tai sellaisen tekijän tai olosuhteen esiintymistä, joka voi vähentää väestön tai yksilön elinympäristön terveellisyyttä. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen toimenpiderajat eivät kuitenkaan ole terveysperusteisia, eikä niiden perusteella voi osoittaa terveydellisiä vaikutuksia. Kosteus- ja mikrobivaurion ensisijainen selvittämiskeino on rakennustekninen tutkimus. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan silmin nähtävä mikrobikasvu on sellaisenaan terveydensuojelulain mukainen terveyshaitta. Mikäli rakennusmateriaalissa tai sen pinnalla epäillään mikrobikasvua, voi rakennusteknisen selvityksen tueksi ottaa tarvittaessa mikrobiologisia näytteitä.

Mikrobiologiset näytteet ja elinkykyisten mikrobien viljely

Rakennusmateriaalinäytteet

Asumisterveysasetuksen mukaan mikrobikasvuston toteamiseksi tulisi käyttää ensisijaisesti rakennusmateriaalinäytteen laimennossarja- tai suoraviljelymenetelmää. Menetelmät sisältävät näytteiden kasvatuksen jälkeen mikrobien kokonaispitoisuuden laskemisen ja sienien tunnistamisen mikroskopioimalla soveltamisohjeen määrittämälle tasolle. Rakennusmateriaalinäyte kuvaa suoraan mahdollista lähdettä, eli rakenteissa tai pinnoilla olevaa kosteusvaurion seurauksena kehittyvää mikrobikasvua. Rakennusmateriaalinäyte otetaan suoraan rakenteesta, jossa epäillään kosteusvauriota, kun halutaan varmistaa esiintyykö materiaalissa poikkeavaa mikrobikasvua. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaiset mikrobien kasvatukseen perustuvat laimennossarja- ja suoraviljelymenetelmä pohjautuvat tutkimuskäytössä käytettyihin validoituihin menetelmiin, joilla on kerätty aineistoja sekä kosteusvaurioituneista että vertailurakennuksista (Hyvärinen ym. 2001a, Reiman 2000).

Kirjallisuuskatsausta varten tehtiin haku Web of Science -tietokantaa käyttämällä. Hakusanoina käytettiin: moisture damage AND building material sample. Haulla löytyi yhteensä 94 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua. Näistä artikkeleista 10 kuvasi kosteusvaurioituneista kohteista otettujen rakennusmateriaalinäytteiden mikrobipitoisuuksia.

Rakennusmateriaalinäytteestä asumisterveysasetuksen mukaisesti laimennossarjamenetelmällä viljellyn mikrobikasvun on lukuisissa tutkimuksissa havaittu kuvaavan rakennuksessa esiintyvää kosteusvauriota niin toimistorakennuksissa, kouluissa kuin päiväkodeissa (Haverinen ym. 1999, Lappalainen ym. 2001; 2008, Pasanen ym. 2000, Pitkäranta ym. 2011, Salonen ym. 2007) sekä kodeissa (Hyvärinen ym. 2002, Järvi ym. 2018, Torvinen ym. 2006). Kyseisissä tutkimuksissa kosteusvaurioituneiden materiaalien sienipitoisuudet ovat vaihdelleet välillä $< 45-1,5 \times 10^8$ pmy/g, bakteeripitoisuudet välillä $< 45-6,5 \times 10^7$ pmy/g ja

aktinomykeettipitoisuudet välillä $< 45-3,0 \times 10^7$ pmy/g. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan rakennusmateriaalissa voidaan katsoa esiintyvän mikrobikasvustoa, kun näytteen home- ja hiivasienten pitoisuus laimennossarjamenetelmällä määritettynä on vähintään 10^4 pmy/g tai aktinomykeettien pitoisuus $3,0 \times 10^3$ pmy/g. Vaikka sienipitoisuus jää alle 10^4 pmy/g voivat löydökset viitata mikrobikasvustoon silloin, kun sienten kokonaispitoisuus on $5,0 \times 10^3-10^4$ pmy/g ja näytteessä havaitaan kosteus- ja mikrobivaurioon viittaavia kosteusvaurioindikaattorimikrobeja tai näytteen sienisuvusto on epätavallisen yksipuolinen (1–2 lajia/sukua). Edellä mainitut tutkimukset ovat kaikki suomalaisia. Kirjallisuushaussa löytyi ainoastaan yksi saksalainen tutkimus, jossa kosteusvaurioituneista kohteista otetuista materiaalinäytteistä määritettiin aktinomykeettikasvua laimennossarjamenetelmällä ja viljelyllä. Kasvatusalustoina käytettiin kasvatusalustoja, jotka poikkeavat asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisista alustoista. Tutkimuksessa havaittiin yhteys kosteusvaurion ja aktinomykeettikasvun välillä (Schäfer ym. 2010). Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukainen rakennusmateriaalinäytteiden laimennossarjamenetelmällä toteutettu viljely ei vaikuttaisi olevan vakiintunut tutkimuskäyttöön muissa maissa. International Society of Indoor Air Quality and Climate, ISIAQ:n sisäilma-asiantuntijoille tekemän kyselyn mukaan rakennusmateriaalinäytteiden mikrobiologisia määrittämiä tehdään kuitenkin viranomaistoiminnassa kuntoarvioiden tueksi joissakin maissa, mitä on kuvattu tarkemmin kappaleessa ” Kansainvälinen ohjeistus ja lainsäädäntö”.

Suoraviljelymenetelmässä näyte viljellään suoraan kasvualustoille. Menetelmä on semikvantitatiivinen ja määrittelyssä rakennusmateriaalinäytteissä voidaan katsoa esiintyvän mikrobikasvustoa, kun näytteessä havaitaan elinkykyisiä sieni-itiöitä ja/tai aktinomykeettejä runsaasti (+++/++++). Merkintä +++ tarkoittaa 50 – 199 pesäkettä (runsaasti mikrobeja) ja merkintä ++++ tarkoittaa ≥ 200 pesäkettä (erittäin runsaasti mikrobeja). Suoraviljelyn tulokset voivat viitata mikrobikasvustoon silloin, kun mikrobeja on kohtalaisesti tai niukasti, mutta lajistossa on kosteusvaurioindikaattorimikrobeita. Tällöin toimenpiderajan ylittämistä arvioitaessa on huomioitava muut tekijät, jotka voivat aiheuttaa mikrobipitoisuuden nousua. Toimenpideraja ei ylitä, mikäli on epäiltävissä, että niukat tai kohtalaiset mikrobimäärät selittyvät muilla tekijöillä. Suoraviljelymenetelmä on otettu asumisterveysasetuksen soveltamisohjeeseen uusimpana mikrobiologisena määrittämismenetelmänä. Menetelmästä ei löydy vertaisarvioituja kansainvälisiä tutkimuksia.

Laimennossarjamenetelmällä saadaan selville näytteen mikrobipitoisuus, elinkykyisten sienten ja bakteerien kokonaispitoisuudet ja sienisukujen ja /tai sienten laji- ja sukuryhmien sekä hiivojen ja sädesienten pitoisuudet näytteessä. Suoraviljelymenetelmällä saatu tieto mikrobimäärästä on semikvantitatiivinen. Suoraviljely suosii kuivaitioisia sieniä, joten sillä voidaan havaita paremmin vanha jo kuivunut ja kuollut mikrobikasvusto, jota laimennossarjamenetelmällä ei pystytä määrittämään (Hänninen 2014).

Pintasivelynäytteet

Asumisterveysasetuksen mukaisesti otettujen pintasivelynäytteiden mikrobikasvua selvittäviä julkaisuja haettiin Web of Science -tietokantaa käyttämällä. Hakusanoina käytettiin: moisture damage AND surface sample. Haulla löytyi yhteensä 294 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua. Näistä artikkeleista ainoastaan neljä kuvasi kosteusvaurioituneista kohteista asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti otettujen pintasivelynäytteiden mikrobipitoisuuksia. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukainen validoitu pintasivelynäytteen menetelmä perustuu tutkimusaineistoihin, joissa on analysoitu näytteitä vaurioituneilta pinnoilta ja vaurioitumattomilta vertailupinnoilta.

Pintanäytteitä voidaan suositella otettavan vain silloin, kun rakenteesta, jossa vauriota epäillään, ei voi irrottaa materiaalinäytteitä analysoitavaksi. Pintasivelynäyte otetaan mikrobikasvuston toteamiseksi rakenteen pinnalta, jossa näkyy kosteusvauriojälkiä tai sellaisesta kohdasta rakennetta, jossa vaurion todennäköisyys on suuri. Vaurioitunein kohta on yleensä lähellä kosteuslähdettä. Pintanäytteen lisäksi tarvitaan aina vertailunäyte vastaavalta vaurioitumattomalta pinnalta usean metrin päästä vauriosta. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan pintasivelynäyte otetaan steriiliin laimennosliuokseen kostutetulla pumpuli-puikolla 10 cm x 10 cm alueelta näytepuikkoa tasaisesti pyöritellen, koko alue läpikäyden kolmeen kertaan. Mikäli kasvuston ala on pienempi kuin 100 cm^2 , voidaan näyte ottaa koko kasvuston alalta ja näytteenotto pinta-ala merkitään muistiin tuloksen laskemiseksi. Pinta- ja vertailunäytteet analysoidaan laimennossarjaviljelyllä pitoisuuden selvittämiseksi. Lisäksi näytteessä esiintyvät sienet tunnistetaan mikroskopoimalla soveltamisohjeen määrittämälle tasolle.

Kosteusvaurioituneista rakennuksista asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti otetuista pintasivelynäytteistä tehtyjä tutkimuksia on verrattain vähän ja menetelmä ei sellaisenaan vaikuta olevan vakiintunut viranomais- tai tutkimuskäyttöön muissa maissa. Vanhemmissa suomalaisissa tutkimuksissa on havaittu yhteys kosteusvaurioiden ja asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisten standardoitujen pintasivelynäytteiden osoittaman mikrobikasvun välillä (Hyvärinen ym. 1993, Haverinen ym. 1999; Hyvärinen ym. 2003; Lignell ym. 2005). Suurin osa näistä tutkimuksista on tehty kouluissa. Vauriopinnoilta otettujen pintasivelynäytteiden sienipitoisuudet ovat vaihdelleet välillä $0-1,5 \times 10^6$ pmy/cm² ja bakteeripitoisuudet välillä $0-4,4 \times 10^6$ pmy/cm². Vastaavasti vaurioitumattomien pintojen pintasivelynäytteiden sienipitoisuudet ovat vaihdelleet välillä $0-2,8 \times 10^4$ pmy/cm² ja bakteeripitoisuudet välillä $0-3,6 \times 10^6$ pmy/cm². Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan vauriopinnalta otetun näytteen sieni-itiöpitoisuuden ollessa yli 10^3 pmy/cm² ja vähintään 100 kertaa suurempi kuin vertailupinnalta otetun näytteen pitoisuus, voidaan vauriokohdassa katsoa esiintyvän sienikasvua. Vastaavasti vauriokohdasta otetun näytteen aktinomykeettipitoisuuden ollessa vähintään 10 kertaa suurempi kuin vertailukohdasta otetun näytteen pitoisuus, voidaan vauriokohdassa katsoa esiintyvän aktinomykeettikasvustoa.

On huomioitava, että pintanäyte kertoo näytteenotokohdassa materiaalin pinnalla olevasta mikrobikasvusta tai ilmasta pinnalle laskeutuneen pölyn tai kertyneen lian mikrobistosta. Tämän vuoksi mikrobiston vertaaminen saman rakennuksen vertailunäytteeseen on tärkeää. Pinnalta voidaan ottaa teippinäyte, jonka suoramikroskopointi ja vauriokohdasta tehdyt havainnot tukevat johtopäätöksen tekoa.

Kansainvälisissä tutkimuksissa pintasivelynäytteiden tilalla on käytetty rakennusmateriaalin pinnalta otettavia kontaktimaljanäytteitä, joista on kerrottu kappaleessa ”Tutkimuskäytössä olevat pintanäytteet”.

Ilmanäytteet

Asumisterveysasetuksen mukaisesti otettujen ilmanäytteiden mikrobikasvua selvittäviä julkaisuja haettiin Web of Science -tietokantaa käyttämällä. Hakusanoina käytettiin: moisture damage AND air sample. Haulla löytyi yhteensä 214 tieteellistä kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua. Näistä artikkeleista kuusi kuvasi kosteusvaurioituneista kohteista otettujen Andersen-kuusivaiheimpaktori-ilmanäytteiden mikrobipitoisuuksia. Lisäksi tehtiin haku Google Scholar -hakukoneella, jolla löydettiin lisäksi kahdeksan hakuehdot täyttävää julkaisua. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti otetut ilmanäytteet sekä niiden tulosten tulkinta perustuvat validoituun menetelmään, joka pohjautuu tutkimusaineistoihin kosteusvaurioituneista ja vaurioitumattomista rakennuksista.

Yksittäinen ilmanäyte ei osoita luotettavasti mikrobilähdettä rakennuksessa, sillä mikrobipitoisuudet vaihtelevat suuresti sekä ajallisesti että paikallisesti olosuhteiden muuttuessa ja näin ollen tarvitaan useita näytteenottokertoja kuvaamaan rakennuksen mikrobiologista tilannetta (Hunter ym. 1988, Hyvärinen ym. 2001b, Leppänen ym. 2018). Mikrobivaurioiden esiintymistä rakenteissa ei siis välttämättä saada osoitettua ilmanäytteitä käyttämällä. Toisaalta yksittäinen negatiivinen ilmanäyte ei myöskään poissulje mikrobivaurion mahdollisuutta rakennuksessa. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan mikrobien kasvatukseen perustuvan ilmanäytteen (Andersen 6-vaiheimpaktori) mikrobipitoisuuden lisäksi on oltava myös muuta näyttöä toimenpiderajan ylittymisestä. Sisäilmanäytteitä suositellaan otettavaksi talviaikana, jolloin ulkoilman mikrobipitoisuudet ovat matalia ja näin ollen mahdollinen sisäilman mikrobilähde pystytään havaitsemaan paremmin.

Andersen 6-vaiheimpaktorilla kerättyä, kasvatukseen perustuvaa ilmanäytettä, käytetään monessa maassa ensisijaisena menetelmänä rakennusten kosteusvaurioita selvittäessä. Ilmanäytteiden mikrobipitoisuuksien, on havaittu korreloivan rakennuksen kosteusvaurion kanssa useissa tutkimuksissa sekä kodeissa (Dales ym. 1997, Gallup ym. 1987, Hoppe ym. 2012, Hunter ym. 1998, Waegemaekers ym. 1989) että toimisto-, koulu- ja päiväkotiympäristöissä (Haverinen ym. 1999, Hyvärinen ym. 1993, Koskinen ym. 1995, Lappalainen ym. 2001, Lignell ym. 2005, Meklin ym. 2003, 2005, Salonen ym. 2007). Toisaalta joissakin tutkimuksissa Andersen 6-vaiheimpaktorilla kerättyjen ilmanäytteiden mikrobipitoisuudet eivät ole poikenneet merkittävästi kosteusvaurioituneissa ja vertailurakennuksissa (Pasanen ym. 1992a, 1992b, Strachan ym. 1990). Kosteusvaurioituneiden ja vertailurakennusten mikrobipitoisuuksien välillä on pystytty havaitsemaan ero vertaamalla ulkoilman ja sisäilman mikrobipitoisuuksien suhdetta. Kosteusvaurioituneissa rakennuksissa tämän suhteen

on havaittu olevan suurempi kuin vertailurakennuksissa, mikä kertoo sisäilman suuremmista mikrobipitoisuuksista verrattuna ulkoilmaan (Nevalainen ym. 1991).

Sisäilman sienipitoisuudet tavallisissa kodeissa ympäri maailman vaihtelevat tyypillisesti välillä 10^0 – 10^3 pmy/m³ ja pitoisuudet ovat kertaluokkaa suurempia $> 10^4$ cfu/m³, mikäli kodissa on poikkeava mikrobilähde, esimerkiksi kosteusvaurio (Nevalainen ym. 2015). Kotien sisäilman bakteeripitoisuudet ovat vaihdelleet sekä kosteusvaurioituneissa että vertailukodeissa välillä 10^0 – 10^4 pmy/m³ (DeKoster and Thorne 1995, Pessi ym. 2002, Reponen ym. 1992). Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa on huomioitu laajasti alan tutkimuskirjallisuus ja erityisesti suomalaiset tutkimusaineistot, ja sen mukaan taajamassa sijaitsevien asuntojen sisäilman sienipitoisuudet 100–500 pmy/m³ ovat poikkeavan suuria talviaikaan. Jos myös näytteen mikrobisuvusto on lisäksi tavanomaisesta poikkeava, mikrobikasvun esiintyminen on todennäköistä. Taajamassa sijaitsevan asunnon talviaikainen sienipitoisuus yli 500 pmy/m³ on epätavanomaiseen mikrobilähteeseen viittaava. Vastaavasti suuri bakteeripitoisuus ($> 4,5 \times 10^3$ pmy/m³) viittaa riittämättömään ilmanvaihtoon tilan käyttöön nähden. Alle 100 pmy/m³:n mikrobipitoisuus voi viitata mikrobikasvustoon asunnossa, mikäli näytteen lajistossa esiintyy kosteusvaurioon viittaavia mikrobeja eli ns. kosteusvaurioindikaattoreita.

Sisäilman mikrobipitoisuuksiin voivat vaikuttaa lukuisat eri tekijät muun muassa ulkoilmasta ilmanvaihdon, lemmikkien ja ihmisten vaatetuksen mukana sisäilmaan tulevat mikrobit, biojätteiden, huonekasvien mullan ja polttopuiden sisältämät mikrobit sekä ihminen itse. Monet erityisesti asumiseen liittyvät toiminnot, kuten imurointi tai multaisten perunoiden pesu, voivat kohottaa sisäilman sieni-itiöpitoisuutta tilapäisesti jopa 10–100-kertaiseksi taustatasoon verrattuna. Jotta kosteusvaurioiden aiheuttaman mikrobipitoisuuden osuutta sisäilmassa voidaan arvioida, tulee kaikki tilassa olevat ylimääräiset mikrobilähteet poistaa ennen näytteenottoa. Mikäli mikrobien normaaleja lähteitä ei pystytä poistamaan, sisäilman mikrobinäytteiden tuloksia ei voi tulkita.

Viljelyyn perustuvien menetelmien vahvuudet ja rajoitukset

Mikrobien elinkykyyn perustuvat viljelymenetelmät ovat toistaiseksi ainoita menetelmiä, joille on olemassa ohjeistus ja tulosten tulkintaohjeet asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa. Viljelymenetelmiä onkin käytetty jo pitkään mikrobikasvuston tai -lähteiden osoittamiseen edellä esitellyistä rakennusmateriaali-, pinta- ja ilmanäytteistä. Viljelymenetelmien tulosten tulkinta tehdään näytteen mikrobien kokonaispitoisuuden ja joissain tapauksissa myös lajiston perusteella. Lajiston tunnistaminen perustuu pesäkkeen ulkonäön, kasvunopeuden ja mikroskooppisten rakenteiden tunnistamiseen mikroskooppia apuna käyttäen. Tämä vaatii ammattitaitoa ja kokemusta.

On huomioitava, että viljelymenetelmillä pystytään määrittämään ainoastaan elinkykyisten mikrobien määrä. Tutkimusten mukaan viljelymenetelmillä pystytään määrittämään ainoastaan 0,03–10 % sisäympäristöjen mikrobeista (Golofit-Szymczak & Gorny 2010, Pasanen ym. 1989, Toivola ym. 2002). On huomioitava, että selektiivisillä kasvualustoilla kasvavat ainoastaan ne mikrobit, joita valittu kasvualusta ja kasvatusolosuhteet esim. lämpötila, suosivat, joten viljelymenetelmillä ei pystytä osoittamaan kaikkia mikrobeja (Stolp 1988).

Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa olevista viljelyyn perustuvista menetelmistä on käytännön kokemusta pitkältä aikaväliltä ja niille on laadittu tulkintaohjeet laajojen validoitujen tausta-aineistojen perusteella suomalaisissa asiantuntijalaboratorioissa. Tällä hetkellä vertaisarvioitua tutkimustietoa, jossa asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa olevien määritysmenetelmien tuloksia olisi verrattu keskenään, on rajoitetusti. Hyvärinen ym. (1993) totesivat tutkimuksessaan, että pintasivelynäytteet korreloivat hyvin talviaikaan otettujen ilmanäytteiden kanssa. Mikrobilajit ovat myös olleet yhteneväisiä rakennusmateriaali- ja ilmanäytteissä (Salonen ym. 2007).

Suoramikroskopiointi

Suoramikroskopiointia voidaan käyttää asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan viljelymenetelmän osana silloin, kun näytteessä ei kasva viljelyssä mitään tai pesäkkeitä kasvaa erittäin vähän. Suoramikroskopiointi voidaan tehdä joko suoraan rakennusmateriaalia mikroskopoimalla tai ottamalla materiaalin pinnalta kirkkaalla teipillä ns. teippinäyte. Näin voidaan havaita myös kuivunut ja kuollut kasvusto, jota

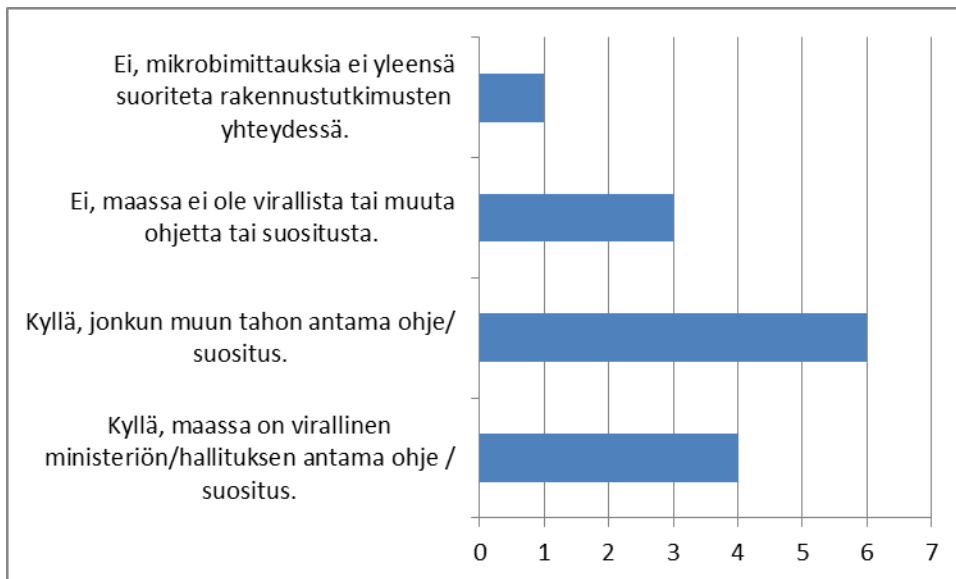
kasvatusmenetelmä ei havaitse. Suoramikroskopointi voidaan tehdä luotettavasti ainoastaan kovilta rakennusmateriaaleilta (esim. puu). Mikroskooppina voidaan käyttää valomikroskooppia ja tukena stereomikroskooppia (Pessi & Jalkanen 2018). Menetelmän avulla havaittu sienirihmasto voi viitata sienikasvustoon tai lahovaurioon näytteessä. Pelkkien itiöiden havaitseminen voi viitata itiöiden kulkeutumiseen muusta lähteestä tutkittavalle pinnalle. Suoramikroskopointi ei sovellu bakteerikasvuston havaitsemiseen. Suoramikroskopoinnista tehtyjä kansainvälisiä vertaisarvioituja julkaisuja etsittiin Google Scholar -hakukonetta käyttämällä. Hakusanoina käytettiin: moisture damage AND tape sample AND microscopy. Haulla löytyi ainoastaan kaksi tutkimusta, joissa havaittiin, että suoramikroskopoinnin avulla pystytään havaitsemaan sienikasvusto kosteusvaurioituneista rakennuksista materiaalin pinnalta otetuista teippinäytteistä (Andersson ym. 1997, Nunez & Hammer 2014). Web of Science -tietokannasta ei vastaavilla hakusanoilla löytynyt yhtään tulosta.

Kansainvälinen ohjeistus ja lainsäädäntö

Suomessa sisäympäristön altistumista koskeva lainsäädäntö ja ohjeistus ovat runsaampaa verrattuna muihin Pohjoismaihin. Suomessa sisäilman laadun kysymyksiin on herätty jo 1990-luvulla. Olemme olleet edelläkävijöitä tutkimuksessa, mikä on mahdollistanut määrittämenetelmien kehityksen ja sitä kautta ohjeistuksen ja lainsäädännön luomisen. Ohjeistusta on suunnattu myös ennaltaehkäisevään työhön ja rakennusten korjaukseen. (Haverinen-Shaugnessy ym. 2020). Suomessa asumisterveysasetus ja sen soveltamisohje ohjaavat mikrobikasvun toteamiseksi käytettävistä mikrobimäärittämenetelmistä ja tulosten tulkinnasta mikrobikasvuston osoittamiseksi. Asumisterveysasetus ja sen soveltamisohje sisältävät toimenpiderajat, joiden ylityksessä voi terveydensuojeluviranomainen vaatia sen, jonka vastuulla haitta on, ryhtymään toimenpiteisiin terveydensuojelulain mukaista terveyshaittaa mahdollisesti aiheuttavan olosuhteen selvittämiseksi ja tarvittaessa sen poistamiseksi tai rajoittamiseksi.

Kansainvälisen ohjeistuksen selvittämiseksi ISIAQ STC-työryhmän tekemässä työssä “Microbes in Indoor Environments” lähetettiin 33:n maan sisäilma-asiantuntijoille kysely, jossa selvitettiin mahdollisen kansallisen ohjeistuksen lisäksi näytetyyppejä ja määrittämenetelmiä, joita käytetään kuntoarvioiden tueksi mahdollisen kosteus- ja mikrobivaurion toteamisessa. Kyselyyn vastasi asiantuntijoita 14:sta eri maasta. Seuraavaksi on esitelty kyselyn tuloksia (Tuloksia ei ole vielä julkaistu).

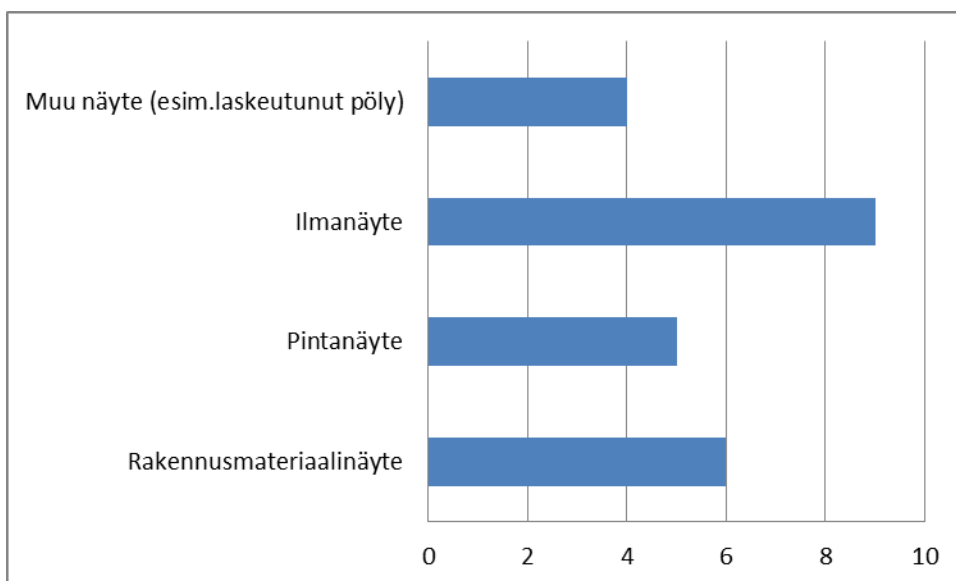
Kysymys: Onko maassanne virallista, kansallista tai muuta ohjetta tai suositusta siitä, miten mikrobimääritykset (mikrobinäytteet ja -analyysit) tehdään rakennustutkimuksissa kosteus- ja mikrobivaurion toteamiseksi?



Kuvio 1. Maassa oleva ohjeistus mikrobimäärityksestä rakennustutkimuksissa kosteus- ja mikrobivaurion toteamiseksi.

Kyselyyn vastanneista maista ainoastaan Saksassa, Portugalissa, Etelä-Koreassa ja Islannissa oli olemassa ministeriön tai hallituksen antama virallinen ohje/suositus mikrobimäärityksiä varten. Muun tahon kuten WHO:n, kansallisen laitoksen, viraston tai yliopiston antama ohjeistus sekä ISO-standardi olivat käytössä kuudessa maassa.

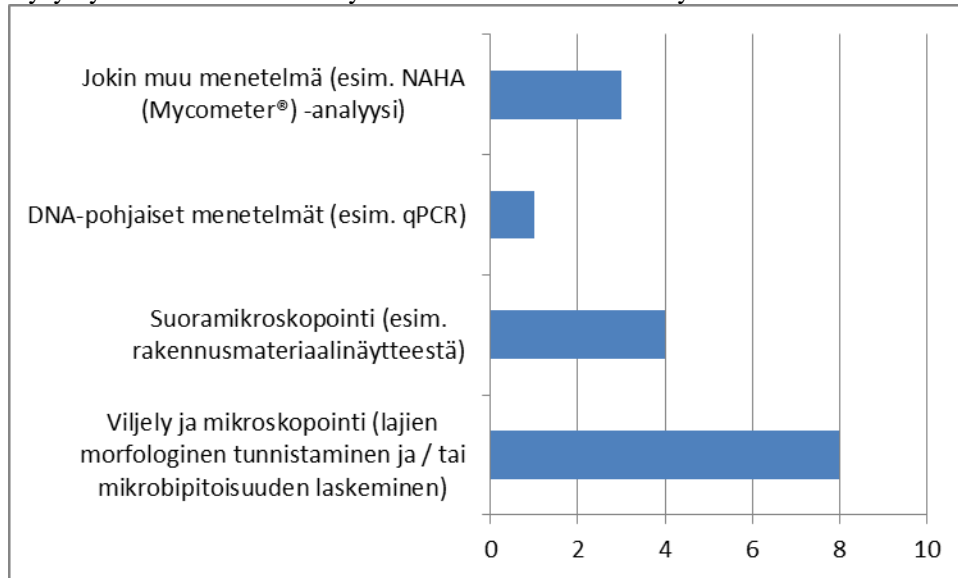
Kysymys: Mitä mikrobien näytteenottomenetelmiä suositellaan käytettäväksi rakennusten kosteusvaurioiden mikrobimäärityksiä varten?



Kuvio 2. Maassa suositeltavat näytteenottomenetelmät kosteusvaurioista johtuvien mikrobivaurioiden mikrobimäärityksiä varten.

Suurimmassa osassa kyselyyn vastanneista maista suositeltiin ilmanäytteitä käytettäväksi rakennusten kosteusvaurioista johtuvien mikrobivaurioiden mikrobimäärityksiä varten. Myös rakennusmateriaalinäytteitä suositeltiin kuudessa maassa. Lähes yhtä monessa maassa suositeltiin pintanäytteiden ottoa. Muita menetelmiä, kuten laskeutuneen pölyn käyttämistä mikrobimäärityksiin suositeltiin neljässä vastanneessa maassa.

Kysymys: Mitä mikrobimääritysmenetelmiä suositellaan käytettäväksi?



Kuvio 3. Maassa suositeltavat mikrobimääritysmenetelmät.

Määritysmenetelmistä selvästi eniten suositeltiin viljelymenetelmää ja lajien morfologista tunnistamista mikroskopoinnilla. Myös suoramikroskopointia esimerkiksi suoraan rakennusmateriaalinäytteestä suositeltiin neljässä maassa. Muita menetelmiä kuten Mycometer®-analyysiä suositeltiin käytettäväksi useammassa maassa kuin DNA-pohjaisia menetelmiä, joita suositteli käytettäväksi ainoastaan yksi kyselyyn osallistunut maa.

Lisäksi asiantuntijoilta kysyttiin, onko maassa olemassa virallista suositusta mikrobipitoisuuden raja-arvoksi, jonka ylittyminen viittaisi epänormaaliin mikrobikasvuun. Saksassa, Slovakiassa ja Portugalissa käytössä oli ministeriön/hallituksen antaman ohjeistuksen määrittelemät raja-arvot. Albaniassa toteutettiin Parman konferenssisitoumusten täytäntöönpanon seuranta, mutta mikrobimäärityksiä ei yleisesti käytetty rakennuksen mikrobivaurioiden selvittämiseen. Kahdessa kyselyyn vastanneessa maassa suositukset koskivat ainoastaan ilmanäytteitä. Ranskassa raja-arvo sienipitoisuudelle oli 1 000 CFU/m³ ja Etelä-Koreassa sienipitoisuudelle 500 CFU/m³ ja bakteeripitoisuudelle 800 CFU/m³. Venäjällä oli käytössä ohje rakennusmateriaalien mikro-organismien aggressiivisen tason arviointiin.

Kuinka tutkimuskäytössä olevat mikrobimääritysmenetelmät tukevat rakennusten kuntotutkimuksia?

Tutkimuskäytössä on runsaasti erilaisia menetelmiä, joilla määritetään mikrobikasvustoa ja -lähteitä. Asuimisterveysasetuksen mukaan mikrobikasvuston osoittamiseen voidaan käyttää muuta menetelmää, jos menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmä on saanut Ruokaviraston hyväksynnän. Elinkykyisten mikrobien kasvattamiseen perustuvien menetelmien ohella on olemassa useita analyysimenetelmiä, joilla voidaan havaita myös elinkykyisiä menettäneet mikrobit, niiden rakenneosat sekä myös mikrobit, jotka ovat ”horrosvaiheessa”. Seuraavaksi on esitelty tällaisia menetelmiä.

Kvantitatiivinen PCR (qPCR)

Haku tehtiin Web of Science -tietokantaa käyttämällä. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (qPCR)). Haulla löytyi yhteensä 37 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua. Näistä artikkeleista 13 kuvasi kosteusvaurioituneista kohteista otettujen pöly-, ilma tai rakennusmateriaalinäytteiden qPCR-analyysien tuloksia. Lisäksi tehtiin haku Google Scholar -hakukoneella, jolla löydettiin neljä hakuehdot täyttävää julkaisua.

QPCR (engl. quantitative polymerase chain reaction) -menetelmällä pystytään havaitsemaan mikrobien elävä ja kuollut kasvusto sekä myös ehjän DNA:n omaavat mikrobisolujen osat (Pitkäranta & Puhka 2013). Näytteessä oleva mikrobien DNA eristetään ja eristetystä DNA:sta analysoidaan mikrobilajit, -suvut tai -ryhmät, joita näytteestä halutaan tutkia. Määritettävän lajin, suvun tai ryhmän, eli käytettävän qPCR sovelluksen, tunnusomaiset DNA:n kohdealueet monistetaan ja monistustuotteen määrää verrataan tunnetun mikrobipitoisuuden standardisuoraan. Menetelmällä pystytään kvantitatiivisesti määrittämään etsittyjen mikrobien pitoisuus näytteessä (Haugland ym. 2004, Rintala & Nevalainen 2006). Aina ennen kunkin sovelluksen käyttöönottoa mikrobikasvuston määrittämiseksi täytyy suorittaa systemaattinen optimointi ja validointi takamaan näiden eri mikrobeja havaitsevien sovellusten spesifisyys ja sensitiivisyys, sillä ne vaihtelevat. QPCR-analyysi on nopea menetelmä, mutta rajoittava tekijä on, että analyysilla voidaan määrittää ainoastaan ennalta määrätyn DNA-jakson määrää näytteessä eli tiettyjen mikrobilajien tai -ryhmien määrää.

Kotiympäristöissä qPCR-menetelmällä huonepölynäytteistä tehdyissä tutkimuksissa on havaittu yhteys mikrobipitoisuuden ja kosteusvaurioiden välillä (Adhikari ym. 2014, Dannemiller ym. 2016, Kettleleson ym. 2013, Lignell ym. 2008, Meklin ym. 2004, Rintala ym. 2004, Roe ym. 2001, Shorter ym. 2016). Myös kouluissa ja toimistoissa tehdyissä tutkimuksissa homeen, kosteusvaurioiden ja homeen hajun on havaittu olevan yhteydessä useisiin qPCR:lla määritettyihin mikrobiryhmiin ja sienien DNA:n kokonaispitoisuuteen pölynäytteissä (Cai ym. 2009, Jacobs ym. 2014a, Pitkäranta ym. 2011, Simoni ym. 2011). Rakennusmateriaalinäytteistä tehdyistä qPCR-analyyseissä on myös havaittu kosteusvaurioiden yhteys tiettyihin mikrobiryhmiin (Pietarinen ym. 2008, Pitkäranta ym. 2011, Rintala ym. 2002, Schäfer ym. 2010). Kosteusvaurioiden korjaamisen on havaittu vähentävän qPCR:lla tutkittujen ilmanäytteiden sienipitoisuuksia koulu- ja toimistorakennuksissa (Huttunen ym. 2008). Mikrobivaurioituneista kodeista otetuissa nestesykloni- ja RCS-ilmanäytteissä on havaittu qPCR-menetelmällä *Aspergillus versicolor* -lajia (Delanoë ym. 2018, Libert ym. 2015). Yleisiä kosteusvaurioituneissa sisäympäristöissä qPCR:lla havaittuja mikrobeja ovat olleet muun muassa seuraavien sukujen lajeja: *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Eurotium*, *Paecilomyces*, *Stachybotrus*, *Trichoderma*, *Wallemia* ja *Streptomyces*.

Yhdysvalloissa on kehitetty usean qPCR-sovelluksen indeksi, jolla pystytään määrittämään rakennuksen ERMI-arvo (Environmental Relative Moldiness Index) (Vesper ym. 2007). Menetelmässä kohteesta otetusta

näytteestä analysoidaan sienilajeja, joista 26 kuuluu kosteusvaurioindikaattorimikrobeihin ja 10 on kodeista satunnaisesti löytyviä lajeja. Näiden perusteella lasketaan ERMI-arvo, jota voidaan verrata kansalliseen ERMI-asteikkoon. Kohteissa, joissa on suuri ERMI-arvo, on havaittu yhteys suurempiin mikrobipitoisuuksiin huonepöly- ja ilmanäytteissä qPCR:lla määritettäessä (Adhikari ym. 2014, Kettleson ym. 2013).

Sekvensointi

Haku tehtiin Web of Science -tietokannasta hakusanoilla (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (NGS OR sequencing)). Haulla löytyi yhteensä 100 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua. Näistä artikkeleista 11 kuvasi kosteusvaurioituneista kohteista otettujen pöly-, ilma tai rakennusmateriaalinäytteiden sekvensoinnin tuloksia.

Sekvensointimenetelmiä on useita ja niiden kehitys on ollut erittäin nopeaa. Uuden sukupolven sekvensointimenetelmiä (Next generation sequencing, NGS) käytetään sisäympäristöjen mikrobisyhteisöjen tunnistamiseen tutkimuskäytössä. Mikrobisyhteisöjä määritetään pääasiassa amplicon sekvensointi -tekniikalla mittaamalla bakteerien 16S ja sienien ITS-alueita. Sekvensoinnin avulla luodaan geenisekvenssejä käsittävä kirjasto, jonka avulla tunnistetaan mikrobeja ja mikrobisyhteisöjä. NGS-sekvensoinnilla on pystytty määrittämään sisäympäristöjen tyypillisimpiä bakteerien pääjaksoja ja sienisukuja (Barberan ym. 2015, Dannemiller ym. 2014, Pitkäranta 2008, Prussin & Marr 2015) sekä niiden esiintymiseen vaikuttavia tekijöitä (Leung & Lee 2016, Täubel ym. 2009, Yamamoto ym. 2015). Sienen ITS-alueen sekvensointi on mahdollistanut tunnistamisen myös lajitasolle asti (Schoch et al., 2012). Amplicon-sekvensoinnilla pystytään tuottamaan kvantitatiivista tietoa, jota viljely ja qPCR-menetelmät eivät voi tarjota (Dannemiller ym. 2014). Menetelmä on myös nopea ja melko edullinen. Menetelmän haaste on sekvenssitiedon analysointi, johon tarvitaan bioinformatiikan osaamista sekä riittävän tehokkaita tietokoneita.

Adams ym. (2020) vertailivat kosteusvaurioituneista ja vertailurakennuksista otettujen näytteiden sekvensointituloksia ja havaitsivat, että tietyissä näytetyypeissä, kuten imuroidussa pölyssä, hydrofiilisiä sieniä esiintyi enemmän kosteusvaurioituneissa kuin vertailurakennuksissa. Yllättäen mesofiilisiä sieniä esiintyi kuitenkin vähemmän näkyvää hometta sisältävien rakennusten huonepölynäytteissä. Kserofiilillä sienillä vastaavaa yhteyttä ei havaittu. Ovenkarmeista otetuissa pyyhintänäytteissä puolestaan kserofiilisiä sieniä esiintyi enemmän kosteusvaurioituneissa rakennuksissa. Tämä tutkimustulos osoittaa, että mikrobien ja kosteusvaurioiden suhde on monitahoinen, mutta tietyt mikrobimarkkerit voivat toimia kosteusvaurioiden mikrobiologisen sormenjäljen osoittamisessa.

Kosteusvaurioiden on havaittu useissa tutkimuksissa lisäävän myös sienisuvuston monimuotoisuutta huonepölyssä (Dannemiller ym. 2014, 2016, Kettleson ym. 2015, Lian ym. 2011, Pitkäranta ym. 2011). Hegarty ym. (2020) tutkivat sekvensoimalla kosteusvaurioituneiden ja vertailurakennusten laskeutuneen pölyn näytteiden sienien esiintyvyyttä ja havaitsivat 11 *Ascomycota*-taksonia, joiden esiintyvyys oli suurempi kosteusvaurioituneissa kodeissa. Vastaavasti yhteensä 14 taksonia *Ascomycota*, *Basidiomycota* ja *Zygomycota* -sienistä esiintyivät yleisimmin vertailukodeissa. An & Yamamoto (2016) tutkivat sieniä näkyvää hometta sisältävien kotien pinnoilta otetuista pyyhintänäytteistä ja havaitsivat, että yleisin suku oli *Cladosporium*, jonka suhteellinen osuus oli 41 % ja se esiintyi yhdessä *Aspergillus* (0,094 %), *Rhodotorula* (6,3 %), *Cryptococcus* (3,7 %), *Alternaria* (4,1 %) ja *Crivellian* (17 %) -sukujen kanssa. Myös kosteusvaurioituneista otetuissa rakennusmateriaalinäytteissä on havaittu tiettyjä taksonia muun muassa *Penicillium*, *Aspergillus* ja *Cladosporium* -sieniä ja aktinobakteereja (Lian ym. 2011, Schäfer ym. 2010).

Tulvan aiheuttamia kosteusvaurioita tutkittaessa on havaittu selvä ero kosteusvaurioituneiden ja vaurioitumattomien kotien pinnoilta otettujen näytteiden sienilajistossa. Yleisimmin havaitut pääjaksot ovat olleet *Ascomycota* ja *Basidiomycota* ja yleisimmät suvut ja niiden keskimääräiset suhteelliset osuudet ovat olleet *Leptospora* (12,0 %), *Cystobasidium* (7,7 %) ja *Pyrenochaetopsis* (6,5 %) (Precha ym. 2020). Toisessa tulvakodeissa tehdyssä tutkimuksessa *Pseudomonadales*-bakteereja ja enterobakteereja esiintyi 1,5 kertaa yleisimmin tulvavaurioituneissa kuin vertailukodeissa otetuissa passiivisissa ilmanäytteissä. *Eurotiales*-sienten suhteellinen osuus oli suurin tulvakodeissa ja sitä esiintyi jopa kaksi kertaa yleisimmin kuin vertailukodeissa.

Sen sijaan *Cladosporium*-sientä esiintyi selvästi yleisimmin vertailu- kuin tulvakodeissa (Emerson ym. 2015).

Kosteusvaurioiden korjauksen vaikutusta mikrobiryhmien koostumukseen on tutkittu vain vähän. Jayaprakash ym. (2017) tutkimuksessa rakennusmateriaalien aktiivisella mikrobikasvulla havaittiin merkittävä, vaikkakin pieni vaikutus huonepölyn bakteeri- ja sieniyhteisöihin. Kosteusvaurioiden korjaaminen ja perheiden muutto toiseen asuntoon vaikutti ainoastaan vähän bakteeriyhteisöjen rakenteeseen. Bakteeri- ja sienilajien rikkaus väheni kunnostetuissa kodeissa, mutta vastaavaa ei havaittu perheen muuttaessa toiseen kotiin. Korjausten vaikutus havaittiin useimmin *Actinomycetales*-lahkon bakteerisuvuilla. Sienten osalta mitkätkään taksonit eivät nousseet näin selvästi esille. Tutkimuksen perusteella kosteusvaurioilla ja niiden korjauksilla voi olla vaikutusta yksittäisten, harvinaisempien ja erityisesti bakteeritaksonien esiintyvyyteen, ei koko mikrobisyhteisön rakenteeseen (Jayaprakash ym. 2017). Pitkäranta ym. (2011) tutkimuksessa selvitettiin kosteusvauriokorjausten vaikutusta kahden rakennuksen huonepölyn sienikoostumukseen. Toisessa rakennuksessa huonepölyn sienien monimuotoisuus väheni korjausten jälkeen, mutta toisessa rakennuksessa vastaavaa vaikutusta ei havaittu.

NAHA-ensyymin aktiivisuus

Haku tehtiin Google Scholar -hakukoneella käyttämällä hakusanoina ("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (NAHA enzyme activity)). Haulla löytyi yhteensä 75 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista neljä kuvasi tutkimuksia, joissa NAHA-ensyymin aktiivisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista ote- tuista pinta- ja ilmanäytteistä. Web of Science -tietokannasta löytyi ainoastaan yksi julkaisu.

NAHA-ensyymiä (β -N-asetyylihexoaminidaasi) esiintyy homesienten rihmastossa ja itiöissä. Sen määrää pystytään mittaamaan fluoresenssilla. Menetelmällä voidaan todeta sekä kasvuvaiheessa oleva että myös vanha ja kuivunut mikrobikasvusto, sillä ensyymiä on havaittu myös lepotilassa olevissa ja elinkyynsä menettäneissä mikrobisoluissa. NAHA-ensyymin aktiivisuutta on tutkittu mikrobivaurioituneiden ja vertailukotien ilmanäytteistä (Rylander ym. 2010, Adhikari ym. 2013, Aktas ym. 2018, 2020). Rylander ym. (2010) ja Adhikari ym. (2013) pystyivät tutkimuksissaan erottamaan vaurio- ja vertailukohteet toisistaan entsyymiaktiivisuuden perusteella. Myös Aktas ym. (2018) tutkimuksessa NAHA-ensyymin aktiivisuus oli suurempi kosteusvauriokohteissa, mutta huomattavaa oli, että vaurioitumattomien kotien ilmanäytteiden NAHA-ensyymin aktiivisuuden vaihtelu oli suurta. Tulokseen on voinut vaikuttaa mahdollisesti piilossa olevat kosteusvauriot, mikä ei kuitenkaan selvinnyt kyseisestä tutkimuksesta. Saman ryhmän uudemman julkaisun perusteella on pystytty luomaan raja-arvot ilma- ja pintanäytteiden normaaleille entsyymiaktiivisuuk- sille sekä eri luokat erilaisille vaurioasteille ja tarvittaville toimenpiteille (Aktas ym. 2020).

NAHA-ensyymin aktiivisuus säilyy näytteessä noin vuoden ajan, jonka jälkeen se alkaa hitaasti vähentyä (Rylander ym. 2015). Myös säilöntätavalla on merkitystä: suodattimelle varastoituna entsyymiaktiivisuuden on havaittu olevan vakaampaa kuin silloin, kun itiöitä on säilytetty suspensiossa vuoden ajan. Suspensionäyt- teissä entsyymiaktiivisuus on lisääntynyt merkittävästi. Entsyymiaktiivisuus vaihtelee myös lajeittain. Esi- merkiksi *Cladosporium*-itiöillä on havaittu korkea NAHA-pitoisuus itiöitä kohden, kun taas *Acremonium*- itiöillä ei ole havaittu entsyymiaktiivisuutta, vaikka elinkelpoisuus on havaittu (Salmela ym. 2017).

Mycometer® menetelmä perustuu NAHA-ensyymin mittaamiseen fluoresenssilla. Menetelmällä arvioidaan semikvantitatiivisesti homesienten kokonaisbiomassaa eli entsyymipitoisuus voi elävän kasvuston lisäksi kertoa myös kuolleesta tai kuivuneesta kasvustosta (Rylander 2015). Tulokset luokitellaan menetelmän kehittäjän ohjeen mukaan kolmeen eri kategoriaan, minkä perusteella voidaan arvioida mikrobikasvun to- dennäköisyyttä: A) mikrobien määrä näytteessä normaali, B) tavanomaisesta hieman poikkeava tai C) selvästi tavanomaista korkeampi. (Handbook of Mycometer 2011). Menetelmän etuja ovat analyysin nopeus ja kenttäkelpoisuus ja sen avulla voidaan analysoida sienikasvua jopa suoraan kohteessa (Jalkanen & Hyvärinen 2015). Menetelmällä pystytään erottamaan vaurio- ja vertailukohteiden pintanäytteiden sienipitoisuudet toisistaan. Sen sijaan rakennusmateriaalinäytteiden kohdalla menetelmällä saadaan vääriä positiivisia ja vääriä negatiivisia tuloksia (Valkonen ym. 2015).

Mikrobien rakennekomponentit

Mikrobisolujen rakenneosia määritetään tutkimuskäytössä kemiallisesti kuvaamaan mikrobien kokonaisbiomassaa eli määrittämään sekä elävä että kuollut mikrobikasvusto. Kemiallisten markkerien pitoisuuksiin sisäympäristössä vaikuttavat useat samat tekijät, kuten sisäilman mikrobipitoisuuksiin, esimerkiksi ulkoilman mikrobit, sisälähteistä muun muassa biojätteet, lemmikkieläimet, polttopuut, ihminen itse sekä mikrobivauriot. Kemiallisia markkereita on määritetty tutkimuksissa pääasiassa huonepöly- ja ilmanäytteistä, jolloin ne kertovat rakennuksen mikrobipitoisuuksista, joille tilan käyttäjä altistuu pölyn tai ilman kautta. Kuten sisäilman mikropitoisuudet, myös sisäilman kemiallisten markkereiden pitoisuudet vaihtelevat ajallisesti ja paikallisesti. Kemiallisia markkereita on joissakin tutkimuksissa määritetty myös rakennusmateriaaleista. Niille ei ole kuitenkaan olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja, joiden avulla mikrobikasvustoa osoittava pitoisuus voitaisiin todeta.

Ergosteroli

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (ergosterol)). Haulla löytyi yhteensä 59 kansainvälistä, vertaisarvoitua julkaisua, joista 15 kuvasi tutkimuksia, joissa ergosterolipitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepöly-, ilma- ja rakennusmateriaalinäytteistä.

Ergosteroli on primääristeroli, jota esiintyy homesienien solukalvossa. Ergosterolia voidaan määrittää kaasukromatografi-massaspektrometrilla (GC-MS) (Axelsson ym. 1995), yhdistämällä GC-MS korkeapainestekromatografiin (HPLC) (Dales ym. 1997) tai kaasukromatografi-tandemmassaspektrometrillä (GC-MS-MS) (Nielsen & Madsen 2000).

Kosteusvaurioiden on havaittu olevan yhteydessä ergosterolipitoisuuteen rakennusmateriaalinäytteissä (Hippelein & Rügamer 2004), ilmanäytteissä (Dales ym. 2010, Foto ym. 2005, Gutarowska ym. 2015, Huttunen ym. 2008, Miller ym. 2007) ja huonepölynäytteissä (Dharmage ym. 1999a,b, Hyvärinen ym. 2006a, Leppänen ym. 2014a, Pitkäranta ym. 2008, Sordillo ym. 2011). Näkyvän homeen laajuuden on myös todettu olevan yhteydessä ergosterolipitoisuuteen ilmanäytteissä (Foto ym. 2005, Miller ym. 2007). Myös rakennusmateriaalilla, josta näyte on otettu, on ollut vaikutusta ergosterolipitoisuuteen. Korkeimmat pitoisuudet on havaittu tapetilla, alhaisimmat kipsilevyllä ja tältä väliltä olevat pitoisuudet maalipinnoilla (Hippelein & Rügamer 2004). On olemassa myös tutkimuksia, joissa kosteusvaurioilla ei ole havaittu olevan yhteyttä ergosterolipitoisuuteen. Choi ym. (2014) tutkivat sekä kosteusvaurioituneita että vertailukoteja ja havaitsivat, että kosteusvaurioilla ei ollut yhteyttä kodin huonepölyn ergosterolipitoisuuteen. Dales ym. (1997) eivät havainneet yhteyttä asukkaiden raportoimien kosteusvaurioiden ja asunnoista otettujen ilmanäytteiden ergosterolipitoisuuden välillä.

Kosteusvaurioiden korjauksen vaikutusta sisäilman ergosterolipitoisuuteen on tutkittu eräissä toimisto- ja koulurakennuksissa tehdyssä tutkimuksessa. Pitoisuus nousi kosteusvauriokorjausten jälkeen, jonka arveltiin johtuvan ulkoilman ergosterolipitoisuuden vaihtelusta (Huttunen ym. 2008). Asunnoissa tehty näkyvän homeen poisto puolestaan laski huonepölynäytteiden ergosterolipitoisuuksia australialaisessa tutkimuksessa (Matheson ym. 2003).

(1→3)-β-D-glukaanit

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (1,3 beta-D-glucan)). Haulla löytyi yhteensä 30 kansainvälistä, vertaisarvoitua julkaisua, joista viisi kuvasi tutkimuksia, joissa (1→3)-β-D-glukaanipitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepöly- ja ilmanäytteistä.

(1→3)-β-D-glukaanit ovat glukoosin polymeerejä, joita syntyy useista eri lähteistä, pääasiassa sienistä. (1→3)-β-D-glukaanien määrä näytteessä kuvastaa sienten biomassaa ja sitä voidaan määrittää inhibitio-entsyymi-immunoanalyysillä (Douwes ym. 1997), Limulus amebosyytti lyaatti (LAL)-menetelmällä (Rylander

ym. 1992) ja lisäksi on kehitetty spesifinen entsyymi-immunoanalyysi määrittämään (1→6), (1→3)-β-D-glukaanien määrää näytteessä (Milton ym. 2001).

Adhikari ym. (2010) tutkimuksessa New Orleansin tulvista kärsineissä kodeissa (1→3)-β-D-glukaanipitoisuudet pysyivät huomattavan korkeina jopa kaksi vuotta tulvan jälkeen, kun biomassaa määritettiin huonepölynäytteistä. Pitoisuudet olivat kuusinkertaiset verrattuna tutkimusryhmän aiemmin tekemässä tutkimuksessa havaittuihin pitoisuuksiin huonepölyssä, jotka oli kerätty Cincinnatiassa sijaitsevista kodeista (Iosifova ym. 2007). Sen sijaan ilmanäytteiden (1→3)-β-D-glukaanipitoisuudet olivat alhaisempia kuin aiemmissa tutkimuksissa raportoidut pitoisuudet tulvakodeissa otetuissa näytteissä ja lähellä tyypillisiä tasoja, jotka on mitattu kodeissa, joissa ei ole tulvavaurioita (Adhikari ym. 2010).

Mikrobi- ja kosteusvaurioiden yhteys huonepölyn (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuteen vaihtelee eri tutkimusten ja näytetyyppien välillä. Reponen ym. (2010) tutkimuksessa havaittiin, että homeen hajua oli tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä ilmanäytteiden (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuteen, kun sitä verrattiin koteihin, joissa ei esiintynyt homeen hajua. Vastaava vaikutus havaittiin huonepölynäytteiden kohdalla, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Kun kyseiset kodit jaettiin ERMI-arvojen (Environmental Relative Moldiness Index) perusteella suurimpaan ja pienimpään hometaakaan, havaittiin suurempi (1→3)-β-D-glukaanipitoisuus suurimman hometaakan kohteissa otetuissa ilma- ja huonepölynäytteissä. Huomattavaa on, että näkyvän homeen luokitusta käytettäessä (ei näkyvää hometta, vähän näkyvää hometta, paljon näkyvää hometta) (1→3)-β-D-glukaanipitoisuus oli kääntäen verrannollinen näkyvän homeen esiintymiseen, kun kyseessä oli ilmanäyte eli mitä enemmän näkyvää hometta, sitä vähemmän (1→3)-β-D-glukaaniamia ilmassa. Sen sijaan huonepölynäytteiden (1→3)-β-D-glukaanipitoisuus oli suurempi kodeissa, joissa näkyvää hometta esiintyi paljon kuin kodeissa, jossa sitä ei esiintynyt lainkaan. (Reponen ym. 2010).

Muissa huonepölynäytteitä käyttäneissä tutkimuksissa kosteus- ja mikrobivaurioilla ei ole havaittu vaikutusta (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuteen. Asunnoissa tehdyssä tutkimuksessa ei havaittu yhteyttä huonepölyn (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuden sekä mikrobi- ja kosteusvaurioiden välillä (Choi ym. 2014). Myöskään kolmesta eurooppalaisesta syntymäkohortti-tutkimuksesta koostuvassa seurantatutkimuksessa ei havaittu yhteyttä näkyvän homeen sekä sängystä ja matosta kerättyjen pölynäytteiden (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuden välillä (Casas ym. 2013a, Tischer ym. 2011).

Kosteusvauriokorjausten vaikutusta ilmanäytteiden (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuteen on selvitetty Rylander ym. (1997) tutkimuksessa. Korjausten jälkeen (1→3)-β-D-glukaanipitoisuudet laskivat selvästi.

EPS

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: ("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (EPS)). Haulla löytyi yhteensä 10 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista kaksi kuvasi tutkimuksia, joissa EPS-pitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepöly- ja ilmanäytteistä.

Sienet tuottavat kasvaessaan solujensa pinnalla immunologisesti aktiivista EPS (extracellular polysaccharides) -polymeeria, jota voidaan määrittää sandwich-immunomäärityksellä huonepölynäytteistä. EPS-määrittäystä käytetään kuvaamaan pääasiassa *Penicillium* ja *Aspergillus* -sukujen sienten biomassaa (Douwes ym. 1999).

Tutkimuksia, joissa EPS-pitoisuutta olisi määritetty kosteusvaurioituneista rakennuksista on todella vähän. Eurooppalaisessa syntymäkohortti-tutkimuksesta koostuvassa seurantatutkimuksessa havaittiin tilastollisesti merkitsevä yhteys huonepölyn EPS-pitoisuuden ja raportoitujen kosteusvaurioiden välillä (Casas ym. 2013a). Toisessa asunnoissa tehdyssä tutkimuksessa havaittiin, että huonepölynäytteen EPS-pitoisuus oli jopa kuusi kertaa suurempi kodeissa, joissa asukkaat olivat raportoineet kosteusvaurioita tai hometäpliä verrattuna koteihin, joissa ei raportoitu mikrobi- ja kosteusvaurioita. Kuitenkaan tutkijan havaitsemien kosteus- ja mikrobivaurioiden sekä huonepölynäytteiden EPS-pitoisuuksien välillä ei havaittu yhteyttä (Douwes ym. 1999).

Endotoksiini

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (endotoxin)). Haulla löytyi yhteensä 193 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista 21 kuvasi tutkimuksia, joissa endotoksiinipitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepöly- ja ilmanäytteistä.

Bakteerien rakennekomponenteista endotoksiini eli lipopolysakkaridi (LPS) on ollut pisimpään tutkimuskäytössä, erityisesti astmaan ja allergioihin suuntautuvissa epidemiologissa tutkimuksissa. Endotoksiinia esiintyy Gram-negatiivisten bakteerien ulkokalvolla ja sitä määritetään mittaamalla LPS:n biologista aktiivisuutta (Douwes ym. 1995, Alwis & Milton 2006, McKenzie ym. 2011, Thorne ym. 2010). Ilman endotoksiinipitoisuudelle on ehdotettu terveysperusteiseksi 8-tunnin raja-arvoksi 90 EU/m³ (EU = endotoxin unit eli endotoksiiniyksikkö), jonka ylittyessä työntekijöille saattaa aiheutua hetkellisiä tai pitkäaikaisia terveyshaittoja (Työterveyslaitos 2021). Ilmanäytteistä mitatuille pitoisuuksille on lähivuosien aikana tarkoitus valmistella HTP-arvo tai sitova raja-arvo (sosiaali- ja terveysministeriö 2020).

Useissa tutkimuksissa on havaittu kosteusvaurioiden yhteys sisäilmanäytteiden endotoksiinipitoisuuteen (Holst ym. 2016, Rao ym. 2020). Myös huonekaluista ja lattialta kerättyjen pölynäytteiden endotoksiinipitoisuuden on havaittu olevan yhteydessä kodin kosteusvaurioihin (Casas ym. 2013a,b, Hyvärinen ym. 2006a, Sordillo ym. 2011). Vastaava yhteys on havaittu myös kouluissa tarkasteltaessa laskeutuneen pölyn endotoksiinipitoisuutta (Jacobs ym. 2014a,b,c). Ilma- ja huonepölynäytteiden endotoksiinipitoisuuden on havaittu olevan yhteydessä myös homeen hajuun (Reponen ym. 2010, Sousa 2022). Yhdysvaltalaisen tutkimusryhmän tutkimuksissa kodit jaettiin ERMI-arvojen (Environmental Relative Moldiness Index) perusteella suurimpaan ja pienimpään ”hometaakkaan” eli kuinka paljon näytteen qPCR-analyysien perusteella kodissa altistutaan sienille. Samassa tutkimuksessa havaittiin kahtena eri ajankohtana (2010 ja 2011) otetuissa ilma- ja huonepölynäytteissä suurempi endotoksiinipitoisuus niissä kodeissa, joissa määritysten mukaan altistuttiin eniten tutkituille sienille. Ilma- ja huonepölynäytteiden endotoksiinipitoisuus oli myös suurempi kodeissa, joissa näkyvää hometta esiintyi paljon, verrattuna koteihin, jossa näkyvää hometta esiintyi vain vähän tai ei lainkaan (Adhikari ym. 2014, Reponen ym. 2010, Sordillo ym. 2011).

Cho ym. (2016) havaitsivat koulututkimuksessaan, että rakennusmateriaalin kosteus oli tilastollisesti heikosti negatiivisesti yhteydessä huonepölyn endotoksiinipitoisuuteen. Myös Holst ym. (2016) tutkimuksessa koululuokista havaitut kosteusvauriot olivat negatiivisesti yhteydessä laskeutuneen pölyn ja lattiapölyn endotoksiinipitoisuuteen. Samassa tutkimuksessa lapsen makuuhuoneen kosteusvauriot eivät olleet yhteydessä makuuhuoneen huonepölyn endotoksiinipitoisuuteen (Holst ym. 2016). Leavey ym. (2012) havaitsivat pilottitutkimuksessaan, että sänkyöpölyn endotoksiinipitoisuus oli negatiivisesti yhteydessä kodin mikrobivaurioihin. On myös muita tutkimuksia, joissa kosteusvaurioilla ei ole havaittu olevan merkittävää yhteyttä huonepölynäytteiden tai ilmanäytteiden endotoksiinipitoisuuteen (Douwes ym. 1998, Gereda ym. 2001, Johansson ym. 2011).

Tulvien vaikutuksia selvittävässä tutkimuksessa tulva- ja ei-tulva-alueilla sekä sisä- ja ulkotiloissa ilmanäytteistä mitattujen keskimääräisten endotoksiinipitoisuuksien välillä ei havaittu merkittäviä eroja (Solomon ym. 2006). Sen sijaan tulvavahinkojen korjausten vaikutusta selvittävässä tutkimuksessa ilmanäytteiden endotoksiinipitoisuus laski selvästi korjausten jälkeen (Chew ym. 2006, Dales ym. 2006, Hoppe ym. 2012). Sama vaikutus havaittiin myös laskeutuneen pölyn endotoksiinipitoisuudessa (Hoppe ym. 2012). Myös kosteusvaurioituneiden työpisteiden korjaaminen on vähentänyt huonepölyn endotoksiinipitoisuutta merkittävästi (Cho ym. 2011).

3-OHFA

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (3 fatty acid)). Haulla löytyi yhteensä 20 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista kaksi kuvasi tutkimuksia, joissa 3-hydroksi-rasvahappopitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepölynäytteistä. Lisäksi Google Scholar -hakukoneella löytyi yksi hakuehtoja vastaava julkaisu.

LPS:n pitoisuutta ympäristönäytteissä voidaan kuvata myös määrittämällä 3-hydroksi-rasvahappoja (3-OHFA) kaasukromatografi-tandem massaspektrometrilla (GS-MS-MS) (Sebastian & Larsson 2003). Tutkimuksia, joissa 3-OHFA-pitoisuuksia olisi tutkittu kosteusvaurioituneissa rakennuksissa on vain vähän. Kosteusvaurioiden on havaittu olevan yhteydessä kotien huonepölynäytteiden kohonneeseen 3-OHFA-pitoisuuteen (Hyvärinen ym. 2006a, Leppänen 2014b). Toisaalta Nilssonin (ym. 2004) tutkimuksessa 3-OHFA-pitoisuus ei poikennut kosteusvaurioituneista ja vertailukodeista kerätyissä laskeutuneen pölyn näytteissä (Nilsson ym. 2004).

Muramiinihappo

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (muramic acid)). Haulla löytyi yhteensä 12 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista kuusi kuvasi tutkimuksia, joissa muramiinihappopitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepölynäytteistä. Lisäksi Google Scholar -hakukoneella löytyi yksi hakuehtoja vastaava julkaisu.

Muramiinihappo on aminosokeri ja bakteerin soluseinän peptidoglykaanikerroksen ainesosa. Peptidoglykaania esiintyy huomattavasti enemmän Gram-positiivisissa bakteereissa ja siksi muramiinihappoa käytetään kuvaamaan Gram-positiivisten bakteerien biomassaa ympäristönäytteissä. Muramiinihappoa määritetään GS-MS-MS (Sebastian ym. 2004), kaasu-nestekromatografi- massaspektrometrilla (GLC-MS) (Findlay ym. 1983) tai korkeapaine nestekromatografilla (Mimura & Romano 1985).

Cho ym. (2016) pisteyttivät tutkimuksessaan tutkimukseen osallistuneet koulut ja toimistot kosteusvaurioiden, kosteusjälkien, näkyvän homeen ja homeen hajun perusteella. Lisäksi huomioitiin, kuinka monessa huoneen osassa vaurioita esiintyi. Huonepölyn muramiinihappopitoisuuden ja havaittujen vaurioiden välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä yhteys. Pitoisuus nousi vauriohavaintojen lisääntyessä. Myös toisessa kouluissa tehdyssä tutkimuksessa kosteusvauriot olivat yhteydessä huonepölyn kohonneeseen muramiinihappopitoisuuteen (Huttunen ym. 2016). Tutkimuksessa, jossa tutkimuskodit jaettiin ERMI-arvon (Environmental Relative Moldiness Index) mukaan vähän (ERMI-arvo <5) ja vakavasti vaurioituneisiin kohteisiin (ERMI-arvo >5), havaittiin tilastollisesti merkitsevä yhteys suuren ERMI-arvon ja huonepölyn suuremman muramiinihappopitoisuuden välillä (Adhikari ym. 2014). Myös muissa kodeissa tehdyissä tutkimuksissa on havaittu yhteys kosteusvaurioiden ja huonepölyn muramiinihappopitoisuuden välillä (Leppänen ym. 2014b, Sordillo ym. 2011, Tischer ym. 2015). Nilsson ym. (2004) tutkimuksessa vastaavaa yhteyttä ei havaittu (Nilsson ym. 2004).

Mikrobitoksiinit

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (toxin)). Haulla löytyi yhteensä 86 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista kaksitoista kuvasi tutkimuksia, joissa mikrobitoksiinipitoisuutta oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista huonepöly-, ilma-, pinta- ja rakennusmateriaalinäytteistä.

Mikrobien sekundaarimetaboliittien eli mikrobitoksiinien määrittämiseen käytetään kromatografisia menetelmiä: ohutkerroskromatografiaa (TLC), korkean suorituskyvyn nestekromatografiaa (HPLC) ja kaasukromatografiaa (GC) (Bloom ym. 2007, Buiarelli ym. 2015, Takitani & Asabe 1983).

Tulvavahingoista kärsineissä rakennuksissa tehdyssä tutkimuksessa, rakennuksista otetuissa materiaalinäytteissä suurimmat *Stachybotrys chartarum* -sienen tuottamat trikoteenipitoisuudet havaittiin kipsilevyn paperiverhouksessa, seuraavaksi suurimmat pitoisuudet vanueristeissä ja puutavaran paperiverhouksessa. Trikoteenipitoisuus kasvoi ajan kuluessa ja tämä oli selkeimmin havaittavissa kipsilevyissä (Skrobot ym. 2017). Toisessa tulvavahinkoja selvittävässä tutkimuksessa havaittiin huonepölynäytteistä yhteensä 75 toksiinia, jotka liittyivät *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Stachybotrys* ja muihin sieniin (Jaksik ym. 2021).

Stachybotrys chartarum, *Aspergillus*- ja *Penicillium*- lajien on havaittu olevan yleisiä toksiinin tuottajia rakennusmateriaaleilla kasvaessaan (Andersson ym. 1997, Gutarowska ym. 2010, Jezak ym. 2016).

Kansainvälisissä tutkimuksissa laajemmin käytetty BULK-menetelmä on pintaa rikkova menetelmä, jossa näytteet otetaan analysoitavan rakennusmateriaalin pinnalta raaputtamalla tai irrottamalla materiaalista pieniä palasia. Menelmässä käytettävät näytteenotto-, esikäsittely- ja määritysmenetelmät voivat poiketa toisistaan eri tutkimusten kesken. Tuomi ym. (2000) tutkimuksessa sitriniini-toksiinia löydettiin kosteusvaurioituneesta rakennuksesta otetuissa BULK-näytteissä. *Aspergillus versicolor*-sienikasvustoa havaittiin useimmissa sterigmatokystiinia sisältävissä rakennusmateriaalinäytteissä ja vastaavasti *Stachybotrys spp.* -sientä näytteissä, joista löydettiin satratoksiineja. Mykotoksiineja tuottavien sienten läsnäolo ei kuitenkaan korreloinut hyvin havaittujen toksiinien kanssa. Kuitenkin, kun mykotoksiineja löydettiin, läsnä oli yleensä joitakin toksineja tuottavia sieniä, vaikka mykotoksiinin tuottamisesta oletettavaa lajia ei havaittu (Tuomi ym. 2000). Myös Hodgson ym. (1998) tutkimuksessa havaittiin sakratoksiineja kosteusvaurioituneista kohteista otetuissa BULK-näytteissä.

Bloom ym. (2007) havaitsivat, että *Stachybotrys chartarum* ja *Aspergillus versicolor* -sienilajien tuottamia mykotoksiineja (ts. makrosykliset trikotekeenit, trikodermiini, sterigmatokystiini ja satratoksiini G) esiintyi useasti materiaalinäytteissä ja laskeutuneessa pölyssä, kun näytteet oli otettu rakennuksista, joissa oli todettu näytteenottohetkellä esiintyvä tai aiemmin tapahtunut kosteusvaurio. Jezak ym. (2016) havaitsivat tutkimuksessaan *Aspergillus versicolor*- ja *Penicillium chrysogenum*-sienilajeja kosteusvauriokohteiden pinnoilta, mutta kyseisiltä pinnoilta raaputetuissa näytteissä ja tilasta otetuissa ilmanäytteissä ei kuitenkaan havaittu mykotoksiineja. Gutarowska ym. (2010) tutkimuksessa mitattiin mykotoksiinien tuottoa homeen kasvaessa rakennusmateriaalissa. Tutkimuksessa havaittiin, että stachybotrylactam, sterigmatokystiini ja roquefortin mykotoksiineja esiintyi *Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus versicolor* ja *Penicillium chrysogenum* sienien kasvaessa kipsilevyllä ja betonilla. Kuitenkin joidenkin mykotoksiinien tuotto väheni tai jopa loppui homeen kasvaessa. Mykotoksiineja, kuten *Stachybotrys chartarum* -sienen tuottamia toksiineja on havaittu myös kosteusvaurioituneiden rakennusten ilmanäytteissä (Brasel ym. 2005, Gottschalk ym. 2008). Alecsik ym. 2017 havaitsivat, että kosteusvaurioituneen rakennuksen tapetoituilla pinnoilla kasvavat *Penicillium brevicompactum*, *Aspergillus versicolor* ja *Stachybotrys chartarum* sienet aerosolisoiutuvat ilmaan, mikä vaikuttanee mykotoksiinien esiintymiseen ilmassa. Kyseisessä tutkimuksessa havaittiin, että eri sienilajien aerosolisoiutumiseen tarvitaan eri ilmavirta, esimerkiksi *P. brevicompactum* tarvitsi aerosolisoiutukseen ilmavirran 0,3 m/s, kun taas *S. chartarum* aerosolisoiutui vasta 5,9 m/s ilmavirrassa (Alecsik ym. 2017).

Mikrobitoksiineja on havaittu esiintyvän sekä kosteusvaurioituneissa että vauriottomissa rakennuksissa ja erot toksiinipitoisuuksissa ovat olleet vähäisiä (Kirjavainen ym. 2016).

MVOC-pitoisuus

Kirjallisuushaku tehtiin Web of Science -tietokannasta. Hakusanoina käytettiin: (("moisture damage" OR mold OR dampness OR "visible mold" OR mould OR "visible mould") AND (indoor OR "built environment") AND (MVOC)). Haulla löytyi yhteensä 50 kansainvälistä, vertaisarvioitua julkaisua, joista seitsemän kuvasi tutkimuksia, joissa MVOC-pitoisuuksia oli mitattu kosteusvaurioituneista kohteista otetuista ilmanäytteistä.

Mikrobien aineenvaihdunnassa syntyy sivutuotteina haihtuvia orgaanisia yhdisteitä, joita kutsutaan myös MVOC:ksi (Microbial volatile organic compounds). Osa ns. MVOC-yhdisteistä ovat yhteisiä usealle eri mikrobilajille, mutta osa yhdisteistä on suku- tai lajikohtaisia. MVOC-yhdisteisiin kuuluvat muun muassa erilaiset alkoholit, aldehydit, ketonit, terpenit, esterit, aromaattiset yhdisteet, amiinit ja rikkiä sisältävät yhdisteet. MVOC-pitoisuuksien määrittämiseen on käytetty tutkimuskäytössä kaasukromatografisia menetelmiä: kaasukromatografi-massaspektrometri (GC-MS), korkeapaine-nestekromatografi (HPLC), nestekromatografi-tandemmassaspektrometri (LC-MS/MS) -määritysmenetelmiä (Dewey ym. 1995, Pasanen ym. 1997, Vishwanath ym. 2011).

Kansainvälisesti vertaisarvioituja julkaisuja, joissa ns. MVOC-pitoisuuksia olisi mitattu kosteusvaurioituneissa ja vertailurakennuksissa on verrattain vähän. MVOC- menetelmän spesifisyyttä on arvioitu kriittisesti. Useilla MVOC-yhdisteillä on sisäympäristöissä myös muita lähteitä kuin mikrobivauriot, esimerkiksi rakennusmateriaalit ja elintarvikkeet, ja näin ollen ne eivät ole luotettavia mikrobikasvun toteamiseen (Korpi ym. 2009, Schleibinger ym. 2008). Schleibinger ym. (2008) vertailivat kosteusvaurioituneiden rakennusten

ilmanäytteiden pitoisuuksia vastaaviin vertailurakennusten näytteisiin. Tulokset eivät osoittaneet merkittävää yhteyttä useimpien analysoitujen MVOC-yhdisteiden ja tilan mikrobikasvun välillä. Ainoastaan 2-metyyli-1-butanoli ja 1-okten-3-oli -pitoisuuden ja tilan mikrobikasvun välillä oli tilastollisesti merkitsevä, mutta heikko yhteys. MVOC-pitoisuuksiin vaikuttivat pääasiassa muut sisätilojen lähteet. Pasanen ym. (1998) tekemässä tutkimuksessa MVOC-yhdisteiden teoreettisten ilmassa olevien pitoisuuksien arvioitiin olevan vain noin 1 % korkeampia mikrobivaurioituneissa tiloissa kuin niissä, joissa on kosteita steriilejä materiaaleja. Itse asiassa mitkään yksittäiset MVOC-yhdisteet eivät tutkimuksessa osoittaneet yksinomaan mikrobikontaminaatiota, vaan niitä saattoi vapautua jopa steriileistä, kosteista rakenteista (Pasanen ym. 1998).

Araki ym. (2012) havaitsivat, että 1-pentanolin pitoisuuden ja *Aspergillus* -sienen esiintyvyyden välillä sekä 2-heksanonin pitoisuuden ja *Cryptococcus*- ja *Rhodotorula* -sienien esiintyvyyden välillä oli heikko positiivinen korrelaatio. Sitä vastoin MVOC-pitoisuuksien ja *Cladosporium* -sienen esiintyvyyden välillä havaittiin heikko negatiivinen korrelaatio. Toisessa ilmanäytteitä määrittäneessä tutkimuksessa kosteusvaurioituneissa rakennuksissa havaittiin korkeammat 3-metyylifuraanin ja etyyli-isobutyraatin tasot kuin vertailurakennuksissa (Sahlberg ym. 2013). Myös Dewey ym. (1995) tutkivat kosteus- ja mikrobivaurioituneita sekä vertailurakennuksia ja havaitsivat, että vaurioituneissa rakennuksissa ilmanäytteissä havaittiin suuremmat pitoisuudet 2-heksanonia, 2-heptanonia ja 1-okten-3-olia. Shinohara ym. (2018) selvittivät tutkimuksessaan kodeissa havaittujen mikrobi- ja kosteusvaurioiden yhteyttä MVOC-pitoisuuksiin. Isobutyliasetaatia, 2-metyyli-1-butanolin ja 3-metyyli-1-butanolin pitoisuudet sisätiloissa, joissa oli näkyvää homeetta seinillä, olivat merkittävästi korkeammat kuin sisätiloissa, joissa näkyvää homeetta ei havaittu. Lisäksi 2-heksanonin pitoisuudet olivat korkeampia makuuhuoneissa, joissa asukkaat havaitsivat homeen hajua, kuin makuuhuoneissa, joissa vastaavaa hajua ei havaittu. Ryhmä käytti tutkimuksessaan myös neliluokkaista kosteusvaurioindeksiä, joka perustui kosteusvaurion esiintymiseen asuinhuoneissa (olohuone, makuuhuone), vaurion vakavuuteen ja laajuuteen, homeen hajuun ja näkyvään homeeseen. Näytteiden MVOC-pitoisuuksien havaittiin kasvavan kosteusindeksin kasvaessa, vaikka tilastollisesti merkittävää yhteyttä ei havaittukaan. Myös Elke ym. (1999) tutkivat lasten makuuhuoneissa esiintyvän näkyvän homeen yhteyttä ilmanäytteiden MVOC-pitoisuuksiin. 3-metyylibutan-1-oli, heksan-2-oni, heptan-2-oni ja oktan-3-oli -pitoisuudet korreloivat vahvimmin lapsen makuuhuoneessa esiintyvän näkyvän homeen kanssa. Choi ym. (2017) tutkivat yhteensä 28 MVOC:in pitoisuuksia kodeissa, joiden ilman absoluuttinen kosteus oli joko korkea ($\geq 2,95 \text{ g/m}^3$) tai matala ($< 2,95 \text{ g/m}^3$). Ryhmä havaitsi, että tutkittujen MVOC-yhdisteiden pitoisuudet olivat yhteydessä korkeaan absoluuttiseen kosteuteen ja heikkoon ilmanvaihtoon.

Taulukko 1. Tutkimuskäytössä olevien menetelmien yhteys mikrobivaurioihin, menetelmien rajoitukset sekä soveltuvuus mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.

Menetelmä	Mitä menetelmällä määritetään?	Mitä rajoituksia menetelmällä on?	Soveltuuko menetelmä mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen?
qPCR	Menetelmällä pystytään havaitsemaan mikrobien elävä ja kuollut kasvusto sekä myös ehjän DNA:n omaavat mikrobisolujen osat. Tutkimuksissa on havaittu, että kosteusvaurioilla on yhteys tiettyjen mikrobiryhmien esiintymiseen.	Menetelmällä voidaan määrittää ainoastaan ennalta määrätyn DNA-jakson määrää näytteessä.	QPCR-menetelmää voidaan käyttää rakennusmateriaalinäytteen analysointiin mikrobikasvuston -ja lähteiden osoittamiseen, jos menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmällä on Ruokaviraston hyväksyntä.
sekvensointi	Menetelmää käytetään sisäympäristöjen mikrobiyhteisöjen tunnistamiseen tutkimuskäytössä. Tutkimuksissa on havaittu eroja kosteusvaurioituneiden ja vaurioitumattomien kotien mikrobiryhmien koostumuksessa.	Menetelmä ei ole kvantitatiivinen. Ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintaohjeita, joiden avulla mikrobikasvustoa osoittava mikrobiryhmien koostumus voitaisiin todeta.	Menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.
NAHA-entsyymiaktiivisuus	Menetelmällä voidaan todeta sekä kasvuvaiheessa olevat että myös kuolleet ja kuivuneet sienet. Menetelmällä pystytään erottamaan vaurio- ja vertailukohteiden pintanäytteiden sienipitoisuudet toisistaan.	Rakennusmateriaalinäytteiden kohdalla menetelmällä saadaan vääriä positiivisia ja vääriä negatiivisia tuloksia.	Menetelmä (Mycometer) voi soveltaa kenttäkäyttöön nopeaksi menetelmäksi pintanäytteiden osalta viljelymenetelmän rinnalle.
mikrobien rakennekomponentit	Eri mikrobien rakennekomponentteja määrittämällä voidaan havaita biomassa eli sekä elävä että kuollut mikrobikasvusto. Osassa tutkimuksista on havaittu yhteys rakennekomponenttien pitoisuuden sekä kosteus- ja mikrobivaurion välillä. Osassa tutkimuksia yhteyttä ei ole havaittu.	Menetelmille ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja mikrobikasvustoa osoittavista pitoisuuksista.	Menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.
mikrobitoksiinit	Menetelmällä määritetään mikrobien sekundäärimetaboliitteja. Osassa tutkimuksista on havaittu yhteys mikrobitoksiinipitoisuuden sekä kosteus- ja mikrobivaurion välillä. Osassa tutkimuksia yhteyttä ei ole havaittu.	Mikrobitoksiineja esiintyy sekä kosteusvaurioituneissa että vaurioitumattomissa rakennuksissa ja erot toksiinipitoisuuksissa ovat vähäisiä. Mikrobitoksiineille ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja mikrobikasvustoa osoittavista pitoisuuksista.	Menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.
MVOC	Menetelmällä määritetään mikrobien aineenvaihdunnassa syntyviä sivutuotteita: haihtuvia orgaanisia yhdisteitä (ns. MVOC, Microbial volatile organic compounds). Osassa tutkimuksista on havaittu yhteys MVOC-pitoisuuden sekä kosteus- ja mikrobivaurion välillä. Osassa tutkimuksia yhteyttä ei ole havaittu.	Useilla MVOC-yhdisteillä on sisäympäristöissä myös muita lähteitä kuin mikrobivauriot, kuten esimerkiksi rakennusmateriaalit ja elintarvikkeet. Ns. MVOC-yhdisteitä voi vapautua jopa steriileistä, kosteista rakenteista. Menetelmälle ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja mikrobikasvustoa osoittavista pitoisuuksista.	Menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.

Menetelmien väliset vertailut

Tässä kappaleessa käydään läpi tutkimuskirjallisuus, jossa tutkimuskäytössä olevia mikrobikasvun ja -lähteiden selvittämiseen käytettäviä menetelmiä verrataan asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen menetelmiin.

Mycometer vs. viljely

Mensah-Attipoe ym. (2015, 2016) testasivat laboratorio-olosuhteissa erilaisia rakennusmateriaaleja, jotka oli siirrostettu *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides* ja *Penicillium brevicompactum* -sienillä. Mikrobin kasvu arvioitiin neljänä eri ajankohtana viljelemällä ja määrittämällä NAHA-entsyymiä. NAHA:n aktiivisuus ja viljelytulokset korreloivat hyvin (Pearsonin korrelaatio: 0,7). NAHA-entsyymiaktiivisuuteen perustuvaa Mycometer-menetelmää on verrattu elinkykyisten mikrobin viljelymenetelmään rakennusmateriaalinäytteiden lisäksi myös pintanäytteiden osalta (Hyytiäinen 2017, Valkonen ym. 2019). Mycometer-menetelmän on havaittu erottelevan paremmin pintanäytteet mikrobivaurion vakavuuden perusteella kuin viljelymenetelmä. Rakenteita rikkomattomilla sisäpinoilla kerättävillä pintanäytteillä ei kuitenkaan kummallakaan menetelmällä ole pystytty havaitsemaan rakenteiden sisällä piilevää mikrobivauriota, vaikka näytteenotto on kohdistettu vauriorakenteesta sisäilmaan johtavan vuotoilmareitin läheisyyteen. Rakennusmateriaalinäytteiden osalta Mycometer-menetelmä on tuottanut sekä vääriä positiivisia että negatiivisia tuloksia verrattuna viljelymenetelmään. Tämänhetkisen viljelytulosten vertailuun perustuvan tiedon perusteella Mycometer-analyysi voisi soveltua kenttäkäyttöön nopeaksi menetelmäksi pintanäytteiden osalta viljelymenetelmän rinnalle.

Sekvensointi vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely

Rakennusmateriaalinäytteiden elinkykyisten mikrobin viljelytuloksia on verrattu rakennusmateriaalinäytteiden sekvensointituloksiin tietävästi ainoastaan yhdessä tutkimuksessa. Tarkasteltaessa viljelyllä luokiteltujen vaurioituneiden ja ei-vaurioituneiden näytteiden sekvensointituloksia, havaittiin bakteerisukuja, jotka olivat tilastollisesti merkittävästi yleisempiä vaurioituneissa materiaaleissa verrattuna vaurioitumattomiin materiaaleihin, kun luokittelu perustui viljelyyn (Täubel ym. 2020). Pitkäranta ym. (2011) vertasivat rakennusmateriaalinäytteiden viljelytuloksia samasta tilasta otettujen huonepölynäytteiden sekvensointituloksiin. Menetelmien vertailu osoitti sekvensoinnin toimivuuden kokonaislajiston kuvauksessa sekä osoitti kohtuullisen kvantitatiivisen korrelaation sekvensoinnin ja qPCR:n antamien tulosten välillä. Tutkimus vahvisti aiempia havaintoja siitä, että viljelymenetelmä antaa sekä määrällisen että laadullisen aliarvion lajistosta. Tulevaisuudessa sekvensointi voi mahdollistaa selvittämään mikrobilajeja, jotka indikoivat rakennusten kosteusvaurioita. Tutkimustyötä on jo tehty, mutta sitä tarvitaan edelleen luomaan kattava vertailuaineisto, jotta sekvensoimalla tehtyjä havaintoja pystytään yleistämään käytännön tarpeisiin muun muassa rakennusten kuntoarvioiden tueksi (Hegarty ym. 2018, 2019, 2020, Peccia ym. 2021).

qPCR vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely

Tutkimuksia, joissa on vertailtu rakennusmateriaalinäytteiden viljelyn ja qPCR-menetelmän tuloksia samasta näytteestä, on verrattain vähän. Mensah-Attipoe ym. (2016) havaitsivat hyvän korrelaation (Pearsonin korrelaatio: 0,8) näiden menetelmien välillä. Sen sijaan Pietarinen ym. (2008) havaitsivat rakennusmateriaalinäytteiden sieni- ja bakteeripitoisuuksissa melko heikon korrelaation (Spearmanin korrelaatio: -0,1–0,7) qPCR- ja viljelymenetelmien välillä. Korrelaatio tosin vahvistui mikrobipitoisuuden kasvaessa. Valkonen ym. (2019) havaitsivat tutkimuksessaan, että qPCR-menetelmä luokitteli rakennusmateriaalinäytteiden vaurion melko samansuuntaisesti (84 %) kuin elinkykyisten mikrobin viljely. Tegelberg ym. (2020) vertasivat qPCR-analyysin tulosten tulkintaa laimennossarjaviiljelyn tulostulkintaan, ja havaitsivat, että 77 % näytteistä sai yhtenevän tulostulkinnan kyseisillä menetelmillä. Myös Eklundin (2012) opinnäytetyössä havaittiin, että mineraalivillaeristenäytteiden viljelyn ja qPCR-määrityksen tulokset olivat samaa suuruusluokkaa keskenään, kun taas puumateriaalinäytteiden qPCR-tulosten mediaani oli jopa yhdeksänkertainen kuin vastaava viljelymenetelmän tulos. QPCR-menetelmää voidaan käyttää rakennusmateriaalinäytteen analysointiin, jos

menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja sille on saatu Ruokaviraston hyväksyntä. On tärkeä huomioida, että qPCR-analysilla pystytään määrittämään ainoastaan ennalta määrätyn DNA jakson määrää näytteessä eli tiettyjen mikrobilajien tai -ryhmien määrää.

Kemialliset markerit vs. rakennusmateriaalinäytteen viljely

Mensah-Attipoe ym. (2016) tutkivat ergosterolimäärityksen ja rakennusmateriaalinäytteen viljelyn välistä korrelaatiota ja havaitsivat, että korrelaatio menetelmien välillä oli erittäin hyvä (Pearson 0,8). Myös toisessa tutkimuksessa menetelmien välistä korrelaatiota tutkittiin rakennusmateriaalinäytteitä käyttämällä. Puulastunäytteissä ($r > 0,7$, $p \leq 0,009$) ja kipsilevynäytteissä ($r > 0,5$, $p \leq 0,059$) havaittiin hyvä korrelaatio ergosterolipitoisuuden ja sienipitoisuuksien välillä, kun taas lasivillanäytteitä tutkittaessa menetelmien välinen korrelaatio oli heikko (Pasanen ym. 1999). Ergosterolia, kuten muitakin mikrobien rakennekomponentteja määrittäessä saadaan selville näytteen biomassasta eli sekä elävä että kuollut mikrobikasvusto. Menetelmällä ei saada selville mikrobilajistoa.

Kansainvälisiä vertaisarvioituja artikkeleita, joissa tutkimuskäytössä olevien rakennusmateriaalinäytteiden (1→3)-β-D-glukaani-, EPS-, endotoksiini-, 3-OHFA-, muramiinihappo-, MVOC- ja mikrobikoksiinipitoisuutta olisi verrattu asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaiseen rakennusmateriaalinäytteen viljelyyn, ei ole. Myöskään artikkeleita, joissa tutkimuskäytössä olevia menetelmiä olisi verrattu asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti otettuihin ilmanäytteisiin ei löydy. Seuraavassa kappaleessa on esitetty tutkimuskäytössä olevia erilaisia näytematriiseja.

Erilaiset tutkimuskäytössä olevat näytetyypit mikrobialtistumisen arviointiin

Tutkimuskäytössä olevat ilmanäytteet

Bioaerosoleja voidaan kerätä sisäilmasta usealla eri menetelmällä. Tutkimuskäytössä yleisesti käytettävät ilmanäytteiden keräysmenetelmät on esitetty taulukossa 2. Menetelmän valintaan vaikuttavat bioaerosolien keräämisen tarkoitus, ympäristö, josta näytteitä kerätään, sekä käytössä olevat resurssit. Ilmanäytteen keräysmenetelmillä pystytään keräämään elinkykyiset ja/tai elinkykynsä menettäneet mikrobit. Aktiivisen ilmanäytteen keräyksessä hyödynnetään useita eri fysiikan periaatteita: inertia-impaktiota, keskipakovoima-impaktiota, törmäystä nesteeseen (impingerit) ja suodatusta. Kaikki taulukossa 2 kuvattavat menetelmät ovat ns. aktiivisia ilmanäytteitä ja niissä käytetään joko henkilökohtaista tai paikallista pumppua. Näytekeräimet poikkeavat leikkausrajaltaan (d_{50}), mikä tarkoittaa hiukkaskokoa, jota suurempia hiukkasia keräimellä pystytään keräämään vähintään 50 %. Näytteenkeräin tulee siis valita niin, että sen leikkausraja on pienempi kuin mikrobien koko, joita halutaan tarkastella.

Ilmanäytteitä on käytetty sisäilman mikrobeja määrittävissä tutkimuksissa, sillä niiden on ajateltu kuvaavan hyvin hengitysilman kautta tapahtuvaa mikrobialtistumista. On kuitenkin havaittu, että sisäilman mikrobipitoisuudet vaihtelevat voimakkaasti sekä ajallisesti että paikallisesti (Hyvärinen ym. 2006b, Leppänen ym. 2014a, b, Leppänen ym. 2018, Kaarakainen ym. 2009). Sisäilman mikrobipitoisuuksiin vaikuttavat lukuisat eri tekijät, kuten ulkoilman pitoisuus, ilmanvaihto, sisälähteiden määrä ja voimakkuus ja ihmisten ja eläinten toiminta. Pitoisuus voi nousta hetkellisesti hyvinkin suureksi esimerkiksi biojäteastiaa avattaessa tai kukkamultia vaihtaessa. Näin ollen yksittäinen ilmanäytteen keräys ei riitä kuvaamaan rakennuksen todellista mikrobipitoisuutta. Tarvitaan useampi näytteenotokerta, mielellään eri vuodenaikoina otettuna (Hyvärinen ym. 2001b, Leppänen 2014a,b).

Taulukko 2. Tutkimuskäytössä yleisesti käytettävät ilmanäytteiden keräysmenetelmät.

Näytteen keräyksen fysikaalinen periaate	Näytekeräin esi-merkki	Menetelmän edut	Menetelmän rajoittavat tekijät	Kirjallisuusviite esi-merkit
Inertia-impaktio	- Monivaiheinen impaktori (1-, 2- tai 6-vaiheinen) esim. Andersen-impaktori - SAS-keräin	- Elinvykyisten mikrobien määrittäminen. - Lajien tunnistaminen. - Kerätään suoraan kasvatusalustoille. Ei vaadi näytteen esikäsittelyä. - Monivaihekeräimellä pystytään erottamaan hiukkaskokojakauma.	- Soveltuu ainoastaan lyhyeen näytteenottoon. - Negatiivinen tulos ei ole poissulkeva. - Ei pystytä määrittämään elinvykyisyyttä mikrobeja. - Valikoiva kasvatusalusta. - Mikrobien kasvatus vie paljon aikaa. - Hitaasti kasvavien lajien aliarviointi.	Mehta ym. 1996 Meklin ym. 2003
	- Buckard-keräin - Slit-keräin esim. Mattson-Garvin - Impaktio lasilevylle esim. Allergenco	- Kokonaismäärän määrittäminen. - Soveltuu suuremmille näytetilavuuksille. - Nopea menetelmä.	- Ei pystytä määrittämään lajeja.	Jensen ym. 1992 Macher ym. 2008
Keskipakovoima-impaktio	- RCS-keräin - NIOSH-keräin	- Keräys agarliuskalle, mikrosentrifugiputkeen. - Voidaan käyttää viljelyyn, mikrobien rakennekomponentti- ja qPCR-analyysiin. - Ei vaadi jatkokäsittelyä.	- Soveltuu ainoastaan lyhyeen näytteenottoon.	Lindsley ym. 2006 Singh ym. 2011b
Impaktio nesteeseen (impingerit)	- AGI-30-keräin - BioSampler-keräin	- Menetelmä soveltuu suurille mikrobipitoisuuksille ja pidemmälle näytteenkeräysajalle. - Voidaan käyttää viljelyyn, mikrobien rakennekomponentti- ja qPCR-analyysiin.	- Sienet voivat impaktioitua heikentyneellä teholla. - Vaatii näytteen jatkokäsittelyn.	Lin ym. 1999
Suodatus	- IOM-keräin - Sartorius MD8-keräin - Button-keräin	- Menetelmä soveltuu suurille mikrobipitoisuuksille ja pidemmälle näytteenkeräysajalle. - Voidaan käyttää mm. viljelyyn, mikrobien rakennekomponentti- ja qPCR-analyysiin.	- Mikrobien kuivuminen ja elinvykyisyyden lasku pitkän näytteenottoajan vuoksi. - Vaatii näytteen jatkokäsittelyn.	Kenny ym. 1999 Aizenberg ym. 2000 Burton ym. 2007

Tutkimuskäytössä olevat pölynäytteet

Huonepölynäytteitä on alettu keräämään tutkimuskäytössä korvaamaan ilmanäytteitä, koska ne kuvaavat paremmin pidempiaikaista mikrobialtistumista. Ne ovat myös halpoja, eivätkä vaadi pumppuja tai henkilöresursseja näytteenottoon kuten ilmanäytteet. Huonepölynäytteitä voidaan hyödyntää laajoissa epidemiologisissa tutkimuksissa, sillä tutkimukseen osallistuvat henkilöt voivat ottaa näytteet itse. Huonepölynäytteet kuvaavat ilmvälitteistä mikrobialtistumista pinnoille laskeutuneena tai uudelleen ilmaan nousseena eli resuspensoituneena pölynä. Menetelmällä on kuitenkin omat rajoituksensa siinä, kuinka hyvin erilaiset huonepölynäytteet kuvaavat todellista mikrobialtistumista.

Pölypussista tai lattialta kerättyä pölyä sekä patjasta kerättyä sänkypölyä on käytetty useissa tutkimuksissa kuvaamaan pidempiaikaista mikrobialtistumista. Näissä näytetyypeissä on kuitenkin aina myös mikrobeja, jotka eivät ole rakennuksesta peräisin vaan ne ovat kulkeutuneet sisälle esim. kenkien, vaatteiden tai lemmikkien mukana. Lisäksi ihmisestä itsestään sekä myös lemmikeistä irtoaa mikrobeja, jotka ei aina resuspensoitu ilmaan. Patjasta otetuissa pölynäytteissä, ihmisen itse on havaittu olevan suurin mikrobien lähde (Täubel ym. 2009). Johtuen moninaisista mikrobilähteistä pölypussi-, lattia- ja sänkypölynäytteet eivät kuvaa kovin hyvin sisäilmassa olevaa mikrobipitoisuutta (Frankel ym. 2012, Leppänen ym. 2018, Noss ym. 2008). Eri tutkimusten tulosten vertailu on haastavaa, sillä ajanjakso, jolloin pöly on kertynyt pinnoille, voi vaihdella jopa tutkimuksen sisällä, ellei sitä ole etukäteen tarkkaan määritelty. Myös näytteenkeräysohjeet, näytteenkeräys pinta-ala, näytteiden esikäsittely ja varastointi voivat vaihdella eri tutkimusten välillä.

Ilmasta laskeutunut pöly, joka on kerätty lattian yläpuolisilta pinnoilta joko näytekeraimella tai pintoja pyyhkimällä, kuvaa paremmin ilmassa olevaa mikrobipitoisuutta kuin esimerkiksi pölypussipöly (Institute of Medicine (US) Committee on Damp Indoor Spaces and Health, 2004, Leppänen ym. 2018). Taulukossa 3. on esitetty yleisesti tutkimuskäytössä olevat erilaisten huonepölynäytteiden keräysmenetelmät.

Taulukko 3. Tutkimuskäytössä yleisesti käytettävät huonepölynäytteiden keräysmenetelmät.

Näytematriisi	Keräysmenetelmä esimerkki	Lyhyt kuvaus	Kirjallisuusviite esimerkit
Lattiapöly	- Imurointi nylon-keräyssukkaan tai ALK- suuttimeen	- Näyte imuroidaan määritetyltä pinta-alalta matosta tai paljalta lattialta tietyn ajanjakson ajan. - Näytteenkeräysaika ja -pinta-ala voivat vaihdella eri tutkimusten välillä.	Douwes ym. 1997 Wouters ym. 2000 Schram-Bijkerk ym. 2006
Sänkypöly	- Imurointi nylon-keräyssukkaan tai ALK-suuttimeen	- Näyte imuroidaan patjasta määritetyltä pinta-alalta tietyn ajanjakson ajan. - Näytteenkeräysaika ja -pinta-ala voivat vaihdella eri tutkimusten välillä.	van Strien ym. 2004 Hyvärinen ym. 2006b Schram-Bijkerk ym. 2006
Pölypussipöly	- Kerätään pölypussista tai keskuspölynimurista	- Tutkimushenkilö imuroi kotiaan normaalisti määritetyn ajanjakson ajan. - Näytteenkeräysaika voi vaihdella eri tutkimusten välillä.	Hyvärinen ym. 2006a Vesper ym. 2007
Laskeutunut pöly	- Elektrostaattiset laskeutuneen pölyn keräimet (EDC) - Laskeutuneen pölyn keräin (Dust-fall Collector) - Petrialja - Lasimalja - Pinnan pyyhintänäyte - Imurointi nylon-keräyssukkaan	- Ilmasta laskeutuva pöly laskeutuu näytekeraimeen tai pinnalle määritetyn ajanjakson ajan. - Näytteenottokorkeus on lattiapinnan yläpuolella. - Näytteenkeräysaika ja -korkeus voivat vaihdella eri tutkimusten välillä.	Wady ym. 2004 Thorne ym. 2005 Wurtz ym. 2005 Niemeier ym. 2006 Noss ym. 2008 Lappalainen ym. 2001 Frankel ym. 2012 Adams ym. 2013

Tutkimuskäytössä olevat pintanäytteet

Tässä kappaleessa on esitetty tutkimuskäytössä kosteusvauriokohteista otettuja pintanäytteitä, jotka poikkeavat näytteenottomenetelmänsä asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesta pintasivelynäytteenotelmästä. Erilaisia pintasivelynäytteitä käyttäneissä tutkimuksissa on havaittu selvästi kohonneita mikrobipitoisuuksia tai tiettyjä mikrobilajeja epäillyltä mikrobivauriopinnalta otetuissa pintanäytteissä verrattuna samasta tilasta otettuihin vertailunäytteisiin. Yleisiä mikrobilajeja kosteusvauriokohteissa otetuissa vaurioepäilynäytteissä ovat olleet mm. *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium* suvun lajit ja *Cladosporium* suvun lajit (Bellanger ym. 2009, Cooley ym. 1998, Reboux ym. 2009). On huomioitava, että monet tekijät vaikuttavat pintasivelymenetelmän tehokkuuteen: näytteenottajan oma toimintatapa, sivelyyn käytettävän puikon materiaali (puuvilla, polyuretaanivaaho, viskoosi, polyesteri, nylon), sivelypuikon kosteus sekä näytteenotokohdan materiaali ja näytteenotto pinta-ala (Rose ym. 2004; Edmonds ym. 2009a,b). Eri tutkimuksista saatuja tuloksia ei voida siis verrata toisiinsa, mikäli käytössä ei ole ollut sama standardoitu näytteenottotapa.

Joissakin tutkimuksissa on käytetty kontaktimaljoja selvittämään rakennusmateriaalin pinnan mikrobistoa (Andersen ym. 2011, Gravesen ym. 1999). Kontaktimalja-menetelmässä kasvatusalusta painetaan suoraan pintaa vasten. Tähän tarvitaan riittävän pitkä aika, jotta mikro-organismit ehtivät kiinnittyä alustaan. Kasvatusalustoja inkuboidaan tietty aika. *Penicillium chrysogenum* ja *Aspergillus versicolor* ovat olleet usein havaittuja lajeja kosteusvaurioituneista rakennuksista otetuissa kontaktimaljanäytteissä. Myös *Chaetomium* spp., *Acremonium* spp., *Ulocladium* spp. ja *Stachybotrys chartarum* mikrobeja on havaittu usein kosteusvaurioituneissa rakennusmateriaalien pinnoilla. Tutkimusten mukaan mikrobipitoisuus riippuu useasta eri tekijästä, muun muassa paineesta kasvatusalustan ja pinnan välillä sekä ajasta, jota kasvatusalustan pintaan painamisessa on käytetty. Pintanäytteiden tulosten tulkinnassa tulee huomioida, että tulos kertoo jokomateriaalin pinnalla olevasta mikrobikasvusta tai ilmasta pinnalle laskeutuneen pölyn mikrobistosta. Näin ollen on huomioitava, että pintanäytteen mikrobisto voi olla myös muista lähteistä, kuten ulkoilmasta tai muista normaaleista lähteistä peräisin.

Näytetyyppien väliset vertailut

Mikrobialtistumisen arviointiin käytetään tutkimuskäytössä useita erilaisia näytetyyppejä. Näytteenottotavat voivat vaihdella eri tutkimusten välillä, mikä vaikeuttaa tutkimuksista saatujen tulosten vertailua. Laskeutuneen pölyn mikrobipitoisuuden (elektrostaattinen pölynkeräin (EDC)) on havaittu korreloivan parhaiten ilman mikrobipitoisuuden (Button-keräys) kanssa (Frankel ym. 2012, Kilburg-Basnyat 2015). Myös Harvard-impaktorilla kerättyjen ilmanäytteiden endotoksiinipitoisuus on korreloinut vahvasti EDC-keräimellä kerättyjen pölynäytteiden endotoksiinipitoisuuden kanssa (Noss ym. 2008). Leppänen ym. (2018) havaitsivat tutkimuksessaan, että laskeutunut pöly (pölynkeräyslaatikko) ja aktiivinen ilmanäyte kuvasivat samalla tavalla mikrobipitoisuuksien vuodenaikaisvaihtelua sekä eri mikrobityyppien esiintymistä, kun näytteiden mikrobipitoisuus analysoitiin qPCR:lla. Ryhmän toisessa tutkimuksessa ei kuitenkaan havaittu merkittävää yhteyttä laskeutuneen pölyn (pölynkeräyslaatikko) ja IOM-ilmanäytteen endotoksiinipitoisuuden välillä (Hyvärinen ym. 2006b).

Muiden huonepölynäytteiden (lattiapöly, sänky-pöly ja pölypussipöly) ja aktiivisesti kerättyjen ilmanäytteiden mikrobipitoisuuksissa ei ole havaittu yhteyttä tai se on ollut heikko. Tutkimuksissa, joissa sänky- ja lattiapölynäytteiden endotoksiinipitoisuutta on verrattu aktiivisesti kerättyjen ilmanäytteiden endotoksiinipitoisuuteen, ei näiden välillä ole havaittu korrelaatiota (Barnig ym.2013, Park ym. 2000). Singh ym. (2011a) havaitsivat heikon korrelaation lattiapölyn ja aktiivisten ilmanäytteiden (Button- ja syklonikeräin) endotoksiini- ja (1→3)-β-D-glukaanipitoisuuden välillä. Myös Hyvärinen ym. (2006b) havaitsivat heikon korrelaation lattia-, sänky- ja pölypussipölyn sekä IOM-keräimellä kerättyjen ilmanäytteiden endotoksiinipitoisuuden välillä. Huonepölynäytteistä viljelyllä määritettyjen elinkykyisten mikrobien pitoisuuksissa ei ole myöskään havaittu yhteyttä ilmanäytteiden elinkykyisten mikrobien pitoisuuksiin (Buckard-keräin, RCS-keräin) (Chew ym. 2003, Miller ym. 1988, Ren ym. 1999). Kaarakainen ym. (2009) havaitsivat, että lattia- ja pölypussipölyn välinen korrelaatio vaihteli huonosta kohtalaiseen riippuen siitä, mitä mikrobilajia tai -ryhmää määritettiin qPCR:lla. Esimerkiksi korrelaatio pölypussipölynäytteen ja lattiapölynäytteen *P.*

brevicompectum/stoloniferum -pitoisuuksien välillä oli hyvä (Spearman: 0,67). Vastaavasti *E. amstelodami*-pitoisuuksien kohdalla korrelaatio oli selvästi heikompi (Spearman: 0,02).

Näytetyyppien toistettavuus

Buttner ym. (1993) vertailivat erilaisten ilmanäytteiden (Andersen- ja SAS-keräin) sekä laskeutuneen pölyn (RODAC-malja) toimivuutta mikrobialtistuksen arvioinnissa. Tutkimuksessa havaittiin, että Andersen-keräimellä oli paras toistettavuus (39 %), kun se sijaan SAS-keräimen (2,2 %) ja laskeutuneen pölyn (1,8 %) toistettavuudet olivat heikot. Leppänen ym. (2018) havaitsivat, että henkilökohtaisen ilmanäytteen (Button) toistettavuus qPCR:lla määritetyillä mikrobeilla oli 64–79 %. Tämä näytetyyppi osoitti vahvempaa toistettavuutta kuin pölypussipöly (42–72 %), lattiapöly (24–66 %), sänkypöly (18–78 %), laskeutunut pöly (30–66 %) ja aktiivinen ilmanäyte (11–62 %) olo- tai makuuhuoneesta.

Pölynäytteiden toistettavuutta selvittäviä tutkimuksia löytyy verrattain paljon. Kaarakainen ym. (2009) tutkimuksessa havaittiin, että eri aikoina otettujen lattia- ja pölypussipölynäytteiden mikrobipitoisuudet (qPCR) vaihtelivat enemmän tutkimuskodin sisällä kuin eri tutkimuskotien välillä, mikä osoittaa heikkoa toistettavuutta ja pölynäytteiden mikrobipitoisuuksien suurta ajallista vaihtelua. Sen sijaan rinnakkaisnäytteiden (sama näyte) toistettavuus eri mikrobeille oli erinomainen (46–92 %), mikä osoittaa qPCR-menetelmän hyvää toimivuutta. Leppänen ym. (2014a,b) havaitsivat vastaavasti erinomaisen toistettavuuden lattiapölyn rinnakkaisnäytteiden välillä ergosteroli-, muramiinihappo- ja 3-hydroksirasvahappopitoisuutta määrittäessä (77–92%). Kun toistettavuutta vertailtiin eri aikoina otettujen näytteiden kesken, oli toistettavuus ergosterolipitoisuudelle ja 3-hydroksirasvahapolle heikko (22–31 %) sekä muramiinihapolle hyvä (66 %). Pölypussinäytteiden toistettavuudet olivat hieman heikommat kuin lattiapölynäytteiden toistettavuudet.

Hyvärinen ym. (2006b) osoittivat tutkimuksessaan, että sänkypölynäytteiden endotoksiinipitoisuuden toistettavuus oli hyvä (66 %). Laskeutuneen pölyn (51 %) ja lattiapölynäytteiden (52 %) toistettavuus oli kohtalainen ja pölypussipölynäytteiden toistettavuus oli puolestaan heikko. Myös Park ym. (2000) havaitsivat parhaimman toistettavuuden sänkypölynäytteelle, kun taas lattiapölyllä ja ilmanäytteillä kodin välinen endotoksiinipitoisuuden vaihtelu oli suurempaa kuin kotien välinen vaihtelu. Lattiapölynäytteen mikrobipitoisuuden toistettavuuden on havaittu olevan heikko myös muissa tutkimuksissa (Topp ym. 2003, Matheson ym. 2003, Verhoeff ym. 1994).

Laskeutuneen pölyn keräysmenetelmien toistettavuutta tarkasteltiin Adams ym. (2015) tutkimuksessa, jossa kerättiin kustakin tutkimuskohteesta kaksi rinnakkaista näytettä jokaisella näytekeräimellä. Rinnakkaisnäytteiden toistettavuus oli suurin EDC-keräimillä (97 %) tarkasteltaessa kaikkia qPCR-ajoja. Petrimaljoilla kerätyillä näytteillä toistettavuus oli myös erinomainen 96 %. Teftex-materiaalille kerättyjen rinnakkaisnäytteiden toistettavuus oli puolestaan hieman heikompi (76 %).

Johtopäätökset

Kirjallisuuskatsauksessa käytiin läpi sekä asumisterveysasetuksen soveltamisohjeessa että tutkimuskäytössä olevat mikrobikasvuston ja -lähteiden määrittämiseen käytettävät menetelmät. Katsaus rajattiin koskemaan ainoastaan vertaisarvioituja, kansainvälisiä tutkimuksia, joissa näytteitä oli otettu kosteusvaurioituneista rakennuksista.

Kirjallisuuden perusteella asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisia menetelmiä käytetään selaisenaan pääasiassa vain Suomessa. Kosteus- ja mikrobivaurion ensisijainen selvittämiskeino on rakennustekninen tutkimus. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaan silmin nähtävä mikrobikasvu on selaisenaan terveydensuojelulain mukainen terveyshaitta. Mikäli rakennusmateriaalissa tai sen pinnalla epäillään mikrobikasvua, mutta sitä ei voida aistinvaraisesti varmistaa, voi rakennusteknisen selvityksen tueksi ottaa tarvittaessa mikrobiologisia näytteitä, ensisijaisesti rakennusmateriaalinäytteitä, jotka analysoidaan laimennossarja- tai suoraviljelymenetelmällä. Rakennusmateriaalinäytteestä laimennossarjamenetelmällä viljellyn mikrobikasvun on useissa tutkimuksissa havaittu olevan yhteydessä rakennuksessa esiintyvään kosteusvaurioon. Rakennusmateriaalinäytteen laimennossarja- tai suoraviljelyn käyttöä puoltaa myös se, että rakennusmateriaalinäyte kuvaa hyvin mahdollista lähdeä, eli kosteusvaurion aiheuttamaa mikrobikasvua, ja menetelmälle on olemassa myös laajat vertailuaineistot. Vastaavasti pintanäyte kertoo materiaalin pinnalla olevasta mikrobikasvusta tai ilmasta pinnalle laskeutuneen pölyn mikrobistosta, mutta pintanäytteen toimivuudesta mikrobikasvuston osoittamisessa on vähemmän näyttöä ja kokemusta. Tilan pintojen mikrobisto voi olla myös muista lähteistä kuten ulkoilmasta tai muista normaaleista lähteistä (esim. kukkamulta ja biojätteet) peräisin ja tämän vuoksi vertailunäyte samasta tilasta on tärkeä. Tämä kirjallisuuskatsaus puoltaa pintasivelynäytteen poistumista asumisterveysasetuksesta sen seuraavan päivityksen yhteydessä. Elinkykyisten mikrobien kasvatukseen perustuvan ilmanäytteen mikrobipitoisuuksien on havaittu korreloivan rakennuksen kosteusvaurion kanssa useissa tutkimuksissa. On kuitenkin huomioitava, että sisäilman mikrobipitoisuudet vaihtelevat tutkimusten perusteella suuresti sekä ajallisesti että paikallisesti. Näin ollen kohteesta tarvittaisiin useita näytteitä, mielellään eri vuodenaikoina otettuna, jotta voitaisiin kuvata rakennuksen sisäilman keskimääräistä mikrobipitoisuutta. On tärkeää ymmärtää, että sisäilman mikrobipitoisuudet voivat olla pieniä, vaikka rakennuksessa on epätavanomainen mikrobilähde. Näin ollen yksittäiset negatiiviset ilmanäytteet eivät myöskään poissulje epätavanomaista mikrobilähdeä. Sisäilman mikrobipitoisuuksiin vaikuttavat useat eri lähteet, jotka kuuluvat normaaliarkeen. Näitä ovat esimerkiksi ulkoilman mikrobit, polttopuut, biojätteet ja lemmikkieläimet. Näin ollen ilmanäytteiden kohonneet pitoisuudet eivät myöskään osoita, mistä lähteestä mikrobit ovat peräisin. Tämä kirjallisuuskatsaus puoltaa myös ilmanäytteen poistumista asumisterveysasetuksesta sen seuraavan päivityksen yhteydessä.

Tutkimuskäytössä käytetään useita erilaisia näytetyyppejä, ilma-, huonepöly- ja pintanäytteitä määritettäessä kosteus- ja mikrobivaurioiden yhteyttä mikrobipitoisuuksiin. Ilmanäytteiden on perinteisesti ajateltu kuvaavan parhaiten hengityksen kautta tapahtuvaa mikrobialtistumista. Ilmanäytteiden mikrobipitoisuuksien suuren ajallisen ja paikallisen vaihtelun vuoksi niitä kuitenkin tarvittaisiin useita, mikä on kallista ja työlästä. Ilmanäytteiden rinnalla onkin alettu ottamaan huonepölynäytteitä, koska ne kuvaavat hyvin pitkäaikaista mikrobialtistumista. Huonepölynäytteistä laskeutunut pöly kuvaa parhaiten ilman kautta tapahtuvaa bioaerosolialtistumista, sillä se on ilmasta yläpinnoille laskeutunutta pölyä. Tutkimusten mukaan laskeutunut pöly korreloikin parhaiten ilmanäytteiden kanssa, kun vertaillaan erilaisia huonepölynäytteitä.

Jotta mikrobialtistumista voidaan määrittää luotettavasti, tulee näytteenottomenetelmän toistettavuus olla hyvä. Ilmanäytteistä henkilökohtaisilla Button-keräimillä on havaittu tutkimuksissa paras toistettavuus. Huonepölynäytteistä paras toistettavuus on havaittu sänkypölynäytteellä, joskin ihminen itse on merkittävin mikrobilähde. Laskeutuneen pölyn toistettavuus on ollut tutkimuksissa kohtalainen. Lattia- ja pölypussinäytteiden toistettavuus on puolestaan ollut heikointa.

Tutkimuskäytössä on olemassa runsaasti menetelmiä, joilla voidaan havaita myös elinkykynsä menettäneet mikrobit, niiden rakenneosat sekä myös mikrobit, jotka ovat ”horrosvaiheessa” ja joilla voi olla merkitystä altistumisen kannalta. Asumisterveysasetuksen mukaan mikrobikasvuston selvittämisessä voidaan

käyttää myös muuta menetelmää, jos menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmällä on Ruokaviraston hyväksyntä. QPCR-analyysi on nopea menetelmä, mutta sillä voidaan määrittää ainoastaan ennalta määrätyn DNA-jakson määrää näytteessä eli tiettyjen mikrobilajien tai -ryhmien määrää. Rakennusmateriaalinäytteistä tehdyistä qPCR-analyysissä on havaittu kosteusvaurioiden yhteys tiettyihin mikrobiryhmiin. Myös pöly- ja ilmanäytteitä käyttäneissä tutkimuksissa on havaittu yhteys mikrobipitoisuuden ja kosteusvaurioiden välillä. Menetelmän käyttöönottoa varten täytyy suorittaa validointi ja optimointi takaamaan eri mikrobeja havaitsevien sovellusten spesifisyys ja sensitiivisyys. Tämä kirjallisuuskatsaus puoltaa qPCR-menetelmän käyttämistä rakennusmateriaalinäytteen analysoinnissa mikrobikasvuston ja -lähteiden osoittamiseen, jos menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmälle on saatu Ruokaviraston hyväksyntä. Molekyylibiologiset menetelmät ovat yleistyneet tutkimuskäytössä huomattavasti viime vuosikymmenien aikana ja uusimman tulokkaan NGS-sekvensoinnin avulla on pystytty määrittämään sisäympäristöjen tyypillisimpiä bakteerien pääjaksoja ja sienisukuja sekä niiden esiintymiseen vaikuttavia tekijöitä. Tulevaisuudessa menetelmällä voidaan mahdollisesti erottaa myös kosteus- ja mikrobivaurioituneen rakennuksen tyypillinen mikrobiryhmien koostumus. Menetelmälle ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja, joiden avulla mikrobikasvustoa osoittava pitoisuus voitaisiin todeta. Menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.

NAHA-entsyymien aktiivisuutta selvittäviä tutkimuksia on vielä melko vähän. Menetelmällä pystytään tutkimusten mukaan erottamaan vaurio- ja vertailukohteiden pintanäytteiden sienipitoisuudet toisistaan. Sen sijaan rakennusmateriaalinäytteiden kohdalla menetelmällä saadaan vääriä positiivisia ja vääriä negatiivisia tuloksia. Mycometer-analyysi voisi tämänhetkisen tutkimustiedon perusteella soveltaa kenttäkäyttöön nopeaksi menetelmäksi pintanäytteiden osalta. Kemiollisia markkereita eli mikrobisolujen rakenneosia on puolestaan käytetty tutkimuskäytössä pidempään kuvaamaan mikrobien biomassaa eli määrittämään sekä elävä että kuollut mikrobikasvusto. Kemiollisia markkereita on mitattu pääasiassa huonepölystä ja sisäilmasta, joten ne eivät viittaa suoranaisesti lähteeseen eli mikrobivaurioon. Menetelmälle ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja, joiden avulla mikrobikasvustoa osoittava pitoisuus voitaisiin todeta. Menetelmä ei katsauksen perusteella sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen. Mikrobitoksiineja on mitattu tutkimuksissa ilma-, huonepöly- ja rakennusmateriaalinäytteistä tulva- ja kosteusvaurioituneissa kohteissa. Mikrobitoksiineja esiintyy tutkimusten mukaan sekä kosteusvaurioituneissa että vauriotomissa rakennuksissa ja erot toksiinipitoisuuksissa ovat vähäisiä. Mikrobitoksiineille ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja mikrobikasvustoa osoittavista pitoisuuksista. Kirjallisuuskatsauksen perusteella menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen. Kansainvälisiä, vertaisarvioituja artikkeleita, joissa MVOC-pitoisuuksia olisi mitattu kosteusvaurioituneissa ja vertailurakennuksissa on verrattain vähän ja useassa tutkimuksessa on havaittu heikko tai negatiivinen korrelaatio MVOC-pitoisuuden ja mikrobikasvun välillä. Mitkään yksittäiset VOC-yhdisteet eivät osoita yksinomaan mikrobikontaminaatiota, vaan niitä saattaa vapautua jopa steriileistä, kosteista rakenteista. Useilla MVOC-yhdisteillä on sisäympäristöissä myös muita lähteitä kuin mikrobivauriot esimerkiksi pesuaineet, elintarvikkeet. Menetelmälle ei ole olemassa laajaa vertailuaineistoa eikä täten myöskään tulkintarajoja, joiden avulla mikrobikasvustoa osoittava pitoisuus voitaisiin todeta. Katsauksen perusteella, menetelmä ei tällä hetkellä sovellu mikrobikasvuston ja -lähteiden selvittämiseen.

Vertaisarvioituja tieteellisiä artikkeleita, joissa tutkimuskäytössä olevilla menetelmillä saatuja tuloksia olisi verrattu asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti laimennosarjamenetelmällä viljeltyjen rakennusmateriaalinäytteiden tuloksiin on vain muutama. Tutkimukset ovat osoittaneet, että viljelymenetelmä antaa sekä määrällisen että laadullisen aliarvion lajistosta, kun tuloksia verrataan qPCR:lla ja sekvensoinnilla saatuihin tuloksiin. Toisaalta qPCR-analyysillä pystytään määrittämään ainoastaan ennalta määrätyn DNA-jakson määrää näytteessä eli tiettyjen mikrobilajien tai -ryhmien määrää. Asumisterveysasetuksen soveltamisohjeen mukaisesti otettuihin ilmanäytteisiin ei löydy vertailevia tutkimuksia.

Suomessa sisäympäristön altistusta koskeva lainsäädäntö ja ohjeistus on runsaampaa kuin monessa muussa maassa. Suomessa asumisterveysasetus ja sen soveltamisohje ohjaavat mikrobikasvun toteamiseksi käytettävistä mikrobimääritysmenetelmistä, toimenpiderajoista ja tulosten tulkinnasta mikrobikasvuston

osoittamiseksi. Asumisterveysasetuksen ja soveltamisohjeen toimenpiderajojen ylittyessä tulee ryhtyä toimenpiteisiin terveydensuojelulain mukaisen terveyshaitan selvittämiseksi ja tarvittaessa sen poistamiseksi tai rajoittamiseksi. Kyselytutkimuksessa tehdyn selvityksen mukaan ainoastaan neljässä 14:sta kyselyyn vastanneesta maasta oli ministeriön tai hallituksen antama ohje siitä, kuinka mikrobimääritykset (mikrobinäytteet ja -analyysit) tulisi tehdä rakennustutkimuksissa mikrobikasvun toteamiseksi. Monessa maassa käytettiin eniten ilmanäytteitä ja rakennusmateriaalinäytteitä käytettiin toiseksi eniten. Elinkykyisten mikrobien viljely ja suoramikroskopointi olivat yleisimmin käytetyt mikrobimääritysmenetelmät.

Kirjallisuuskatsauksen perusteella tutkimuskäytössä on menetelmiä, joita voidaan käyttää perinteisten elinkykyisten mikrobien kasvatusmenetelmien sijaan tukemaan mikrobikasvuston selvittämistä. Asumisterveysasetuksen mukaan muita kuin viljelymenetelmiä voidaan käyttää mikrobikasvuston toteamiseen, jos menetelmän luotettavuus on osoitettu tai menetelmällä saatujen tulosten yhtenevyys asetuksessa olevilla menetelmillä saatuihin tuloksiin on varmistettu ja menetelmällä on Ruokaviraston hyväksyntä. On siis ehdottoman tärkeää, että menetelmä on validoitu eli sen soveltavuus ja luotettavuus on vahvasti osoitettu, mikäli sitä käytetään viranomaispäätöksiä tehtäessä.

Lähteet

- Adams R.I., Miletto M., Taylor JW., Bruns TD. (2013) Dispersal in microbes: fungi in indoor air are dominated by outdoor air and show dispersal limitation at short distances, *ISME Journal*, 7, 1262-1273.
- Adams RI., Tian Y., Taylor JW., Bruns TD., Hyvärinen A. and Täubel M. (2015) Passive dust collectors for assessing airborne microbial material, *Microbiome*, 3, UNSP 46.
- Adams RI., Sylvain I., Spilak MP., Taylor JW., Waring MS., Mendell MJ. (2020) Fungal Signature of Moisture Damage in Buildings: Identification by Targeted and Untargeted Approaches with Mycobiome Data. *Applied and Environmental Microbiology*, 86.
- Adhikari A., Lewis JS., Reponen T., DeGrasse EC., Grimsley LF., Chew GL., Iossifova Y., Grinshpun SA. (2010) Exposure matrices of endotoxin, (1->3)-beta-D-glucan, fungi, and dust mite allergens in flood-affected homes of New Orleans. *Science of the Total Environment*, 408 (22): 5489-5498.
- Adhikari A., Reponen T., Rylander R. (2013) Airborne fungal cell fragments in homes in relation to total fungal biomass. *Indoor Air*, 23: 142-147.
- Adhikari A., Kettleson E.M., Vesper S., Kumar S., Popham D.L., Schaffer C., Indugula R., Chatterjee K., Allam K.K., Grinshpun S.A. and Reponen T. (2014) Dustborne and airborne Gram-positive and Gram-negative bacteria in high versus low ERMI homes, *Science of the Total Environment*, 482-483, 92-99.
- Aizenberg V., Reponen T., Grinshpun SA., Willeke K. (2000). Performance of air-o-cell, burkard, and button samplers for total enumeration of airborne spores. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 61 (6):855-864.
- Aktas YD., Ioannou I., Altamirano H., Reeslev M., D'Ayala D., May N., Canales M. (2018) Surface and passive/active air mould sampling: A testing exercise in a North London housing estate. *Science of the Total Environment*, 643: 1631-1634.
- Aktas YD., Reeslev M., Altamirano H., May N., D'Ayala D. Normal background levels of air and surface mould reserve in English residential building stock: a preliminary study towards benchmarks based on NAHA measurements. *UCL Open: Environment*. 2020;(1):02. Available from: <https://dx.doi.org/10.14324/111.444/ucloe.000005>
- Aleksic B., Draghi M., Ritoux S., Bailly S., Lacroix M., Oswald IP., Bailly JD., Robine E. (2017) Aerosolization of Mycotoxins after Growth of Toxinogenic Fungi on Wallpaper. *Applied and Environmental Microbiology*, 83 (16) doi: 10.1128/AEM.01001-17.
- Alwis K. and Milton, D. (2006) Recombinant factor c assay for measuring endotoxin in house dust: Comparison with LAL, and (1->3)-beta-D-glucans. *American Journal of Industrial Medicine*, 4: 296-300.
- An C., Yamamoto N. (2016). Fungal compositions and diversities on indoor surfaces with visible mold growths in residential buildings in the Seoul Capital Area of South Korea. *Indoor Air*, 26: 714-723.
- Andersen B., Frisvad JC., Søndergaard Ib., Rasmussen Ib S., Larsen LS. (2011) Associations between Fungal Species and Water-Damaged Building Materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 (12): 4180-4188.
- Andersson M.A., Nikulin M., Köljalg U., Andersson M.C., Rainey F., Reijula K., Hintikka E.-L., Salkinoja-Salonen M. (1997). Bacteria, Molds, and Toxins in Water-Damaged Building Materials. *Applied and Environmental Microbiology*. 63 (2): 387-393.
- Araki A., Kanazawa A., Kawai T., Eitaki Y., Morimoto K., Nakayama K., Shibata E., Tanaka M., Takigawa T., Yoshimura T., Chikara H., Saijo Y., Kishi R. (2012) The relationship between exposure to microbial volatile organic compound and allergy prevalence in single-family homes. *Science of the Total Environment*, 423:18-26.
- Axelsson B.O., Saraf A. and Larsson L. (1995) Determination of ergosterol in organic dust by gas-chromatography mass-spectrometry, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 666, 77-84.
- Barberan A., Dunn RR., Reich BJ., Pacifici K., Laber EB., Menninger HL., Morton JM., Henley JB., Leff JW., Miller SL., Fierer N. (2015) The ecology of microscopic life in household dust, *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282, 212-220.
- Barnig C., Reboux G., Roussel S., Casset A., Sohy C., Dalphin J., de Blay, F. (2013) Indoor dust and air concentrations of endotoxin in urban and rural environments. *Letters of Applied Microbiology*, 56: 161-167.
- Bellanger AP; Reboux G; Roussel S; Grenouillet F; Didier-Scherer E; Dalphin JC; Millon L (2009) Indoor fungal contamination of moisture-damaged and allergic patient housing analysed using real-time PCR. *Letters in Applied Microbiology*, 49 (2): 260-266.
- Bloom E., Bal K., Nyman E., Larsson L. (2007) Optimizing a GC-MS method for screening of Stachybotrys mycotoxins in indoor environments. *Journal of Environmental Monitoring*, 9 (2): 151-156.
- Brasel TL., Martin JM., Carriker CG., Wilson SC., Straus DC. (2005) Detection of airborne Stachybotrys chartarum macrocyclic trichothecene mycotoxins in the indoor environment. *Applied and Environmental Microbiology*, 71 (11): 7376-7388.
- Buiarelli F., Di Filippo P., Riccardi C., Pomata D., Rumolo E., Giannetti L., Neri B. (2015) Analytical method for the determination of mycotoxins in indoor/outdoor airborne particulate matter by HPLC-MS-MS. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95 (8): 713-729.
- Burton NC., Grinshpun SA., Reponen T. (2007) Physical collection efficiency of filter materials for bacteria and viruses. *Annals of Occupational Hygiene*. 51:143-151.
- Buttner M, Stetzenbach L. (1993) Monitoring Airborne Fungal Spores in an Experimental Indoor Environment To Evaluate Sampling Methods and the Effects of Human Activity on Air Sampling. *Applied and Environmental Microbiology*, 59 (1): 219-226.
- Cai G.-., Broms K., Malarstig B., Zhao Z.-., Kim J.L., Svardsudd K., Janson C. and Norback, D. (2009) Quantitative PCR analysis of fungal DNA in Swedish day care centers and

- comparison with building characteristics and allergen levels. *Indoor Air*, 19, 392-400.
- Casas L., Tischer C., Wouters I.M., Valkonen M., Gehring U., Doekes G., Torrent M., Pekkanen J., Garcia-Esteban R., Hyvärinen A., Heinrich J., Sunyer, J. (2013a) Endotoxin, extracellular polysaccharides, and beta(1-3)-glucan concentrations in dust and their determinants in four European birth cohorts: results from the HITEA project, *Indoor Air*, 23: 208-218.
- Casas L., Torrent M., Zock J.P., Doekes, G., Fors J., Guxens M., Täubel M., Heinrich J. and Sunyer J. (2013b) Early life exposures to home dampness, pet ownership and farm animal contact and neuropsychological development in 4 year old children: A prospective birth cohort study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 216: 690-697.
- Chew GL., Rogers C., Burge HA., Muilenberg ML., Gold DR. (2003) Dustborne and airborne fungal propagules represent a different spectrum of fungi with differing relations to home characteristics. *Allergy*, 58: 13-20.
- Chew GL., Wilson J., Rabito FA., Grimsley F., Iqbal S., Reponen T., Muilenberg ML., Thorne PS., Dearborn DG., Morley RL. (2006) Mold and endotoxin levels in the aftermath of Hurricane Katrina: A pilot project of homes in New Orleans undergoing renovation. *Environmental Health Perspectives*, 114 (12): 1883-1889.
- Cho SJ., Park JH., Kreiss K., Cox-Ganser JM. (2011) Levels of microbial agents in floor dust during remediation of a water-damaged office building. *Indoor Air*, 21 (5): 417-426.
- Cho SJ., Cox-Ganser JM., Park JH. (2016) Observational scores of dampness and mold associated with measurements of microbial agents and moisture in three public schools. *Indoor Air*, 26 (2): 168-178.
- Choi H., Byrne S., Larsen LS., Sigsgaard T., Thorne PS., Larsson L., Sebastian A., Bornehag CG. (2014). Residential culturable fungi, (1-3,1-6)-beta-D-glucan, and ergosterol concentrations in dust are not associated with asthma, rhinitis, or eczema diagnoses in children. *Indoor Air*, 24 (2): 158-170.
- Choi H., Schmidbauer N., Bornehag CG. (2017) Volatile organic compounds of possible microbial origin and their risks on childhood asthma and allergies within damp homes. *Environment International*, 98, 143-151.
- Cooley JD., Wong WC., Jumper CA., Straus DC. (1998) Correlation between the prevalence of certain fungi and sick building syndrome, *Occupational and Environmental Medicine*, 55:579-584.
- Dales R.E., Miller D. and McMullen, E. (1997) Indoor air quality and health: Validity and determinants of reported home dampness and moulds. *International Journal of Epidemiology*, 26, 120-125.
- Dales R., Miller D., Ruest K., Guay M., Judek S. (2006) Airborne endotoxin is associated with respiratory illness in the first 2 years of life. *Environmental Health Perspectives*, 114 (4): 610-614.
- Dales R., Ruest K., Guay M., Marro L., Miller JD. (2010) Residential fungal growth and incidence of acute respiratory illness during the first two years of life. *Environmental Research*, 110 (7): 692-698.
- Dannemiller K., Mendell M., Macher J., Kumagai K., Bradman A., Holland N. et al. 2014. Next-generation DNA sequencing reveals that low fungal diversity in house dust is associated with childhood asthma development. *Indoor Air* 24: 236-247.
- Dannemiller K.C., Gent J.F., Leaderer B.P., Peccia J. (2016). Influence of housing characteristics on bacterial and fungal communities in homes of asthmatic children, *Indoor Air*, 26 (2): 179-192.
- Delanoe A., Guillamin M., Heutte N., Gente S., Seguin V., Garon D. (2018) Interest of the qPCR method calibrated with flow cytometry to quantify *Aspergillus versicolor* in mold-damaged homes and comparison with the cultural approach, *Atmospheric Pollution Research*, 9 (5): 871-876.
- Dekoster J.A. and Thorne, P.S. (1995) Bioaerosol concentrations in noncomplaint, complaint, and intervention homes in the midwest, *American Industrial Hygiene Association Journal*, 56, 573-580.
- Dewey S., Sagunski H., Palmgren U., Wildeboer B. (1995) Microbial volatile organic compounds – a new approach in assessing health risks by indoor mold. *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, 197 (6): 504-515.
- Dharmage, S., Bailey, M., Raven, J., Mitakakis, T., Thien, F., Forbes, A., Guest, D., Abramson, M. and Walters, E.H. (1999a) Prevalence and residential determinants of fungi within homes in Melbourne, Australia, *Clinical and Experimental Allergy*, 29, 1481-1489.
- Dharmage S., Bailey M., Raven J., Mitakakis T., Guest D., Cheng A., Rolland J., Thien F., Abramson M., Walters E.H. (1999b) A reliable and valid home visit report for studies of asthma in young adults. *Indoor Air*, 9 (3): 188-192.
- Douwes J., Versloot P., Hollander A., Heederik D., Doekes G. (1995) Influence of various dust sampling and extraction methods on the measurement of airborne endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 61: 1763-1769.
- Douwes J., Doekes G., Montijn R., Heederik D., Brunekreef B. (1997) An immunoassay for the measurement of (1 -> 3)-beta-D-glucans in the indoor environment. *Mediators of Inflammation*, 6: 257-262.
- Douwes J., Doekes G., Heinrich J., Koch A., Bischof W., Brunekreef B. (1998) Endotoxin and beta(1 -> 3)-glucan in house dust and the relation with home characteristics: A pilot study in 25 German houses. *Indoor Air*, 8 (4): 255-263.
- Douwes J., van der Sluis B., Doekes G., van Leusden F., Wijnands L., van Strien R., Verhoeff A., Brunekreef B. (1999) Fungal extracellular polysaccharides in house dust as a marker for exposure to fungi: Relations with culturable fungi, reported home dampness, and respiratory. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 103 (3): 494-500.
- Edmonds JM. (2009a) Efficient methods for large-area surface sampling of sites contaminated with pathogenic microorganisms and other hazardous agents: current state, needs, and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 84:811-816.
- Edmonds JM., Collett PJ., Valdes ER., Skowronski Evan W., Pellar GJ., Emanuel PA. (2009b) Surface Sampling of Spores in Dry-Deposition Aerosols. *Applied and Environmental Microbiology*, 75 (1): 39-44.

- Eklund M. Kvantitatiivisen PCR (qPCR)- ja kasvatusmenetelmien vertailu rakennusten mineraalivillaeriste- ja puumateriaalinäytteiden mikrobimäärytyksissä. Opinnäytetyöt rakennusterveys 2012. Koulutus- ja kehittämispalvelu Aducate. Itä-Suomen yliopisto.
- Elke K., Begerow J., Oppermann H., Kramer U., Jermann E., Dunemann L. (1999) Determination of selected microbial volatile organic compounds by diffusive sampling and dual-column capillary GC-FID - a new feasible approach for the detection of an exposure to indoor mould fungi? *Journal of Environmental Monitoring*, 1 (5): 445-452.
- Emerson JB., Keady PB., Brewer TE., Clements N., Morgan EE., Awerbuch J., Miller SL., Fierer N. (2015) Impacts of Flood Damage on Airborne Bacteria and Fungi in Homes after the 2013 Colorado Front Range Flood, *Environmental Science and Technology*, 49 (5), 2675-2684.
- Findlay R., Moriarty D., White D. (1983) Improved method of determining muramic acid from environmental-samples. *Geomicrobiology Journal*, 3: 135-150.
- Foto M., Vrijmoed LLP., Miller JD., Ruest K., Lawton M., Dales RE. (2005) A comparison of airborne ergosterol, glucan and Air-O-Cell data in relation to physical assessments of mold damage and some other parameters. *Indoor Air*, 15 (4): 257-266.
- Frankel M., Timm M., Hansen EW., Madsen AM. (2012) Comparison of sampling methods for the assessment of indoor microbial exposure. *Indoor Air*, 22: 405-414.
- Gallup J., Kozak P., Cummins L., Gillman S. (1987) Indoor mold spore exposure: characteristics of 127 homes in Southern California with endogenous mold problems. *Advances in Aerobiology* 51:139-142.
- Gereda J.E., Klinnert M.D., Price M.R., Leung D.Y.M., Liu A.H. (2001) Metropolitan home living conditions associated with indoor endotoxin levels. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107: 790-796.
- Golofit-Szymczak, M. and Gorny, R.L. (2010) Bacterial and fungal aerosols in airconditioned office buildings in Warsaw, Poland-the winter season, *Int J Occup Saf Ergon*, 16, 465-476.
- Gottschalk C., Bauer J., Meyer K. (2008) Detection of Satratoxin G and H in indoor air from a water-damaged building. *Mycopathologia*, 166 (2): 103-107.
- Gravesen S., Nielsen PA., Iversen R., Nielsen KF. (1999) Microfungal Contamination of Damp Buildings-Examples of Risk Constructions and Risk Materials. *Environmental Health Perspectives*, 107 (3): 505-508.
- Gutarowska B., Skora J., Pielech-Przybylska K. (2015) Evaluation of ergosterol content in the air of various environments. *Aerobiologia*, 31 (1): 33-44.
- Gutarowska B., Sulyok M., Krška R. (2010) A Study of the Toxicity of Moulds Isolated from Dwellings. *Indoor and Built Environment*, 19 (6): 668-675.
- Handbook of Mycometer: Methods Handbook for Mycometer-Surface Instrumentation and Analysis. 6th Edition. 2011.
- Haugland R., Varma M., Wymer L. and Vesper S. (2004) Quantitative PCR analysis of selected *Aspergillus*, *Penicillium* and *Paecilomyces* species, *Systematic and Applied Microbiology*, 27, 198-210.
- Haverinen U., Husman T., Toivola M., Suonketo J., Pentti M., Lindberg R., Leinonen J., Hyvärinen A., Meklin T., Nevalainen A. (1999). An approach to management of critical indoor air problems in school buildings. *Environmental Health Perspectives*, 107 (3): 509-514.
- Haverinen-Shaughnessy U., Leppänen H., Salmela A., Hyvärinen A. Altistuminen sisäympäristössä: yleisyys Suomessa ja Pohjoismaissa. Työpaperi 20/2020 Terveiden ja hyvinvoinnin laitos.
- Hegarty B., Dannemiller KC., Peccia J. (2018). Gene expression of indoor fungal communities under damp building conditions: Implications for human health. *Indoor Air*, 28(4):548-558.
- Hegarty B., Haverinen-Shaughnessy U., Shaughnessy R., Peccia J. (2019). Spatial Gradients of Fungal Abundance and Ecology throughout a Damp Building. *Environmental Science and Technology Letters*, 6, 329–333.
- Hegarty B., Pan A., Haverinen-Shaughnessy U., Shaughnessy R., Peccia J. (2020). DNA Sequence-Based Approach for Classifying the Mold Status of Buildings. *Environmental Science and Technology*. 54: 15968-15975.
- Hippelein M., Rügamer M. (2004). Ergosterol as an indicator of mould growth on building materials. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 207 (4): 379-385.
- Hodgson MJ., Morey P., Leung WY., Morrow L., Miller D., Jarvis BB., Robbins H., Halsey JF., Storey E. (1998) Building-associated pulmonary disease from exposure to *Stachybotrys chartarum* and *Aspergillus versicolor*. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 40 (3): 241-249.
- Holst GJ., Host A., Doekes G., Meyer HW., Madsen AM., Plesner KB., Sigsgaard T. (2016) Allergy and respiratory health effects of dampness and dampness-related agents in schools and homes: a cross-sectional study in Danish pupils. *Indoor Air*, 26 (6): 880-891.
- Hoppe KA., Metwali N., Perry SS., Hart T., Kostle PA., Thorne PS. (2012) Assessment of airborne exposures and health in flooded homes undergoing renovation. *Indoor Air*, 22: 446-456.
- Hunter CA., Grant C., Flannigan B., Bravery AF. (1988) Mould in buildings: the air spora of domestic dwellings. *International Biodeterioration* 24:81-101.
- Huttunen K., Rintala H., Hirvonen MR., Vepsäläinen A., Hyvärinen A., Meklin T., Toivola M., Nevalainen A. (2008) Indoor air particles and bioaerosols before and after renovation of moisture-damaged buildings: The effect on biological activity and microbial flora. *Environmental Research*, 107: 291-298.
- Huttunen K., Tirkkonen J., Täubel M., Krop E., Mikkonen S., Pekkanen J., Heederik D., Zock JP., Hyvärinen A., Hirvonen MR. (2016) Inflammatory potential in relation to the microbial content of settled dust samples collected from moisture-damaged and reference schools: results of HITEA study. *Indoor Air*, 26 (3): 380-390.
- Hyvärinen A., Reponen T., Husman T., Ruuskanen J., Nevalainen A. (1993). Characterizing mold problem buildings – concentrations and flora of viable fungi. *Indoor Air*. 3 (4): 337-343.

- Hyvärinen A., Meklin T., Vepsäläinen A., Rautiala S., Nevalainen A. (2001a) Mikrobiston diversiteetti vaurioituneissa rakennusmateriaaleissa. Sisäilmastoseminaari 2001. SIY Raportti 2001.15: 65-70
- Hyvärinen A., Vahteristo M., Meklin T., Jantunen M., Nevalainen A., Moschandreas D. (2001b) Temporal and spatial variation of fungal concentrations in indoor air, *Aerosol Science and Technology*, 35, 688-695.
- Hyvärinen A., Meklin T., Vepsäläinen A., Nevalainen A. (2002) Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials - concentrations and diversity, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 49: 27-37.
- Hyvärinen A., Husman T., Laitinen S., Meklin T., Taskinen T., Korppi M., Nevalainen A. (2003) Microbial exposure and mold-specific serum IgG levels among children with respiratory symptoms in 2 school buildings. *Archives of Environmental Health*, 58(5):275-283.
- Hyvärinen A., Sebastian A., Pekkanen J., Larsson L., Korppi M., Putus T. and Nevalainen A. (2006a) Characterizing microbial exposure with ergosterol, 3-hydroxy fatty acids, and viable microbes in house dust: Determinants and association with childhood asthma, *Archives of Environmental and Occupational Health*, 61, 149-157.
- Hyvärinen A., Roponen M., Tiittanen P., Laitinen S., Nevalainen A., Pekkanen J. (2006b) Dust sampling methods for endotoxin - an essential, but underestimated issue. *Indoor Air*, 16: 20-27.
- Hyttiäinen HK. Mycometer®-menetelmän soveltuvuus terveysturvallisuuden tarpeisiin kosteusvaurioon liittyvän mikrobikasvun havaitsemisessa. Pro Gradu -tutkielma. Itä-Suomen Yliopisto. Ympäristötieteen laitos. 2017.
- Hänninen M., Kirsi M., Kujanpää L., Lindroos O., Rautiala S., Reiman M. (2014) Rakennusmateriaalinäytteen mikrobimääritys suoraviljelymenetelmällä. Sisäilmastoseminaari 2014, 359-62 (SIY raportti 32).
- Iossifova Y., Reponen T., Bernstein D., Levin L., Zeigler H., Kalra H., et al. House dust(1→3)-β-D-glucan and wheezing in infants. *Allergy* 2007, 62:504-13.
- Jacobs J., Borràs-Santos A., Krop E., Täubel M. et al. (2014a) Dampness, bacterial and fungal components in dust in primary schools and respiratory health in schoolchildren across Europe. *Occupational and Environmental Medicine*, 71(10):704-12. doi: 10.1136/oemed-2014-102246.
- Jacobs JH., Krop EJ., Borràs-Santos A., Zock JP., Täubel M. ym. (2014b) HITEA schools study consortium. Endotoxin levels in settled airborne dust in European schools: the HITEA school study. *Indoor Air*, 24(2):148-57.
- Jacobs JH., Krop EJM., de Wind S., Spithoven J., Heederik DJJ. (2014c) Endotoxin levels in homes and classrooms of Dutch school children and respiratory health. *European Respiratory Journal*, 42 (2): 314-322.
- Jaksic D., Sertic M., Kifer D., Kocsube S., Turk AM., Nigovic B., Sarkanj B., Krška R., Sulyok M., Klaric MS. (2021) Fungi and their secondary metabolites in water-damaged indoors after a major flood event in eastern Croatia. *Indoor Air*, 31 (3): 730-744.
- Jalkanen K., Hyvärinen A. (2015) Mikrobiologiset menetelmät homevaurion toteamisessa. *Ympäristö ja Terveys lehti*. 5: 48-52.
- Jayaprakash B., Adams RI., Kirjavainen P. ym. (2017). Indoor microbiota in severely moisture damaged homes and the impact of interventions. *Microbiome*, 13;5(1):138
- Jensen PA., Todd WF., Davis GN., Scarpino PV. (1992) Evaluation of 8 bioaerosol samplers challenged with aerosols of free bacteria. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 53 (10): 660-667.
- Jezak K., Kozajda A., Sowiak M., Brzezniński S., Bonczarowska M., Szadkowska-Stanczyk I. (2016) The capability of fungi isolated from moldy dwellings to produce toxins. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 29 (5): 823-836.
- Johansson E., Vesper S., Levin L., LeMasters G., Grinshpun S. and Reponen T. (2011) Streptomyces in house dust: associations with housing characteristics and endotoxin. *Indoor Air*, 21: 300-310.
- Järvi K., Hyvärinen A., Täubel M. ym. (2018). Microbial growth in building material samples and occupants' health in severely moisture-damaged homes. *Indoor Air*, 28(2):287-297.
- Kaarakainen P., Rintala H., Vepsäläinen A., Hyvärinen A., Nevalainen A., Meklin, T. (2009) Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Science of the Total Environment*, 407: 4673-4680.
- Kenny LC., Bowry A., Crook B., Stancliffe JD. (1999) Field testing of a personal size-selective bioaerosol sampler. *Annals of Occupational Hygiene*, 43 (6):393-404.
- Kettleson E., Kumar S., Reponen T., Vesper S., Meheust D., Grinshpun S.A., Adhikari A. (2013) *Stenotrophomonas*, *Mycobacterium*, and *Streptomyces* in home dust and air: associations with moldiness and other home/family characteristics. *Indoor Air*, 23: 387-396.
- Kettleson E., Adhikari A., Vesper S., Chatterjee K., Indugula R., Reponen T. (2015). Key Determinants of the Fungal and Bacterial Microbiomes in Homes. *Environmental Research*, 138: 130-135.
- Kilburg-Basnyat B., Peters TM., Perry SS., Thorne PS. (2015) Electrostatic dust collectors compared to inhalable samplers for measuring endotoxin concentrations in farm homes. *Indoor Air*, 26: 724-733.
- Kirjavainen PV, Täubel M, Karvonen AM ym. (2016). Microbial Secondary Metabolites in Homes in Association with Moisture Damage and Asthma. *Indoor Air* 26(3):448-56.
- Korpi, A & Järnberg, J & Pasanen, A-L. 2009. Microbial Volatile Organic Compounds, *Critical Reviews in Toxicology*, Vol. 39:2, s.139-193, DOI: 10.1080/10408440802291497.
- Koskinen O., Husman T., Hyvärinen A., Reponen T., Nevalainen A. (1995) Respiratory symptoms and infections among children in a day-care center with mold problems. *Indoor Air*, 5:3-9.
- Lappalainen S, Kahkonen E, Loikkanen P, Palomaki E, Lindroos O, Reijula K (2001). Evaluation of priorities for repairing in moisture-damaged school buildings in Finland. *Building and Environment* 36: 981-986.
- Lappalainen S., Salonen H., Lindroos O., Harju R., Reijula K. (2008) Fungal species in mold-damaged and nondamaged

- office buildings in southern Finland. *Scandinavian Journal of Work Environment and Health* (4):18-20.
- Leavey A., Perez HR., Burstyn I. (2012) Endotoxin and Particle Concentrations in Subsidized Households with Asthmatic Children in Philadelphia: A Pilot Study. *Indoor and Built Environment*, 21 (4): 515-523.
- Leppänen H., Nevalainen A., Vepsäläinen A., Roponen M., Täubel M., Laine O., Rantakokko P., von Mutius E., Pekkanen J., Hyvärinen A. (2014a) Determinants, reproducibility and seasonal variation of ergosterol levels in house dust. *Indoor Air*, 24: 248-259.
- Leppänen H., Täubel M., Roponen M., Vepsäläinen A., Rantakokko P., Pekkanen J., Nevalainen A., von Mutius E., Hyvärinen A. (2014b) Determinants, reproducibility and seasonal variation of bacterial cell wall components in house dust. *Indoor Air*, 25: 260-272.
- Leppänen H., Täubel M., Jayaprakash B., Vepsäläinen A., Pasanen P., Hyvärinen A. (2018) Quantitative assessment of microbes from samples of indoor air and dust. *J Expo Sci Environ Epid*, 28(3):231-241.
- Leung MHY., Lee PKH. (2016) The roles of the outdoors and occupants in contributing to a potential pan-microbiome of the built environment: a review. *Microbiome*, 4, 21.
- Leppänen HK., Nevalainen A., Vepsäläinen A., Roponen M., Täubel M., Laine O., Rantakokko P., von Mutius E., Pekkanen J., Hyvärinen A. (2014a) Determinants, reproducibility, and seasonal variation of ergosterol levels in house dust. *Indoor Air*, 24 (3): 248-259.
- Leppänen H, Täubel M, Roponen M, Vepsäläinen A, Rantakokko P, Pekkanen J, Nevalainen A, von Mutius E, Hyvärinen A (2014b). Determinants, reproducibility and seasonal variation of bacterial cell wall components in house dust. *Indoor Air*, 25, 260-272.
- Leppänen H, Täubel M, Jayaprakash B, Vepsäläinen A, Pasanen P, Hyvärinen A. Quantitative assessment of microbes from samples of indoor air and dust. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 2018, 28(3):231-241.
- Lian X., Lackner M., de Hoog GS., van de Ende AHGG., Priha O., Suihko ML., Houbraken J., Varga J., Samson RA., Malarstig B., Thompson P., Stott R., Richardson MD. (2011) Assessment of identity of filamentous fungi colonizing water-damaged building materials. *Sydowia*, 63:49-66.
- Libert X., Chasseur C., Bladt S., Packeu A., Bureau F., Roosens N.H., De Keersmaecker S.C.J. (2015). Development and performance assessment of a qualitative SYBRA (R) green real-time PCR assay for the detection of *Aspergillus versicolor* in indoor air, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99 (17):7267-7282.
- Lignell U., Meklin T., Putus T., Vepsäläinen A., Roponen M., Torvinen E., Reeslev M., Pennanen S., Hirvonen M-R., Kalliokoski P., Nevalainen A. (2005). Microbial exposure, symptoms and inflammatory mediators in nasal lavage fluid of kitchen and clerical personnel in schools. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 8(2):139-50.
- 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 streptomycetes in relation to moisture damage of the house. *Letters in Applied Microbiology*, 47, 303-308.
- Lin X., Reponen TA., Willeke K., Grinshpun S. A., Foadre K. K., Ensor DS. (1999) Long-Term Sampling of Airborne Bacteria and Fungi into a Nonevaporating Liquid, *Atmospheric Environment*, 33:4291-4298.
- Lindsley WG., Schmechel D., Chen BT. (2006) A two-stage cyclone using microcentrifuge tubes for personal bioaerosol sampling. *Journal of Environmental Monitoring*. 8 (11):1136-1142.
- Macher J., Chen B., Rao C. (2008) Field evaluation of a personal, bioaerosol cyclone sampler. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 5 (11):724-734.
- Matheson M.C., Dharmage S.C., Forbe A.B., Raven J.M., Woods R.K., Thien F.C., Guest D.I., Rolland J.M., Haydn Walters E., Abramson M.J. (2003) Residential characteristics predict changes in Der p 1, Fel d 1 and ergosterol but not fungi over time. *Clinical & Experimental Allergy*, 33: 1281-8.
- McKenzie J.H., Alwis K.U., Sordillo J.E., Kalluri K.S. and Milton D.K. (2011) Evaluation of lot-to-lot repeatability and effect of assay media choice in the recombinant Factor C assay, *Journal of Environmental Monitoring*, 13: 1739-1745.
- Mehta SK., Mishra SK., Pierson DL (1996) Evaluation of three portable samplers for monitoring airborne fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 62 (5): 1835-1838.
- Meklin T., Putus T., Pekkanen J., Hyvärinen A., Hirvonen M-R., Nevalainen A. (2005). Effects of moisture-damage repairs on microbial exposure and symptoms in schoolchildren. *Indoor Air*, 15: 40-47.
- Meklin T., Haugland R.A., Reponen T., Varma M., Lummus Z., Bernstein D., Wymer L.J., Vesper S.J. (2004) Quantitative PCR analysis of house dust can reveal abnormal mold conditions, *Journal of Environmental Monitoring*, 6: 615-620.
- Meklin T., Hyvärinen A., Toivola M., Reponen T., Koponen V., Husman T., Taskinen T., Korppi M., Nevalainen A. (2003). Effect of building frame and moisture damage on microbiological indoor air quality in school buildings. *AIHA Journal*, 64: 108-116.
- Mensah-Attipoe J., Reponen T., Salmela A., Veijjalainen A-M., Pasanen P. (2015) Susceptibility of green and conventional building materials to microbial growth. *Indoor Air*, 25: 273-284.
- Mensah-Attipoe J., Reponen T., Veijjalainen A-M., Rintala H., Täubel M., Rantakokko P., Ying J, Hyvärinen A., Pasanen P. (2016) Comparison of methods for assessing temporal variation of growth of fungi on building materials. *Microbiology*, 162: 1895-1903.
- Miller JD., Laflamme AM., Sobol Y., Lafontaine P., Greenhalgh R. (1988) Fungi and fungal products in some Canadian houses. *International Biodeterioration*, 24: 103-120.
- Miller JD., Dugandzic R., Frescura AM., Salares V. (2007). Indoor- and outdoor-derived contaminants in urban and rural homes in Ottawa, Ontario, Canada. *Journal of the Air and Waste Management Association*, 57 (3): 297-302.
- Milton D., Alwis K., Fiset L., Muilenberg, M. (2001) Enzyme-linked immunosorbent assay specific for (1 -> 6) branched, (1 -> 3)-beta-D-glucan detection in environmental samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 5420-5424.

- Mimura T. and Romano J.C. (1985) Muramic acid measurements for bacterial investigations in marine environments by high-pressure liquid chromatography. *Applied and Environmental Microbiology*, 50: 229-237.
- Nevalainen A., Pasanen A-L., Niininen M., Reponen T., Kallioikoski P. (1991) The indoor air quality in Finnish homes with mold problems. *Environment International*. 17:299-302.
- Nevalainen A., Täubel M., Hyvärinen A. (2015) Indoor fungi: companions and contaminants. *Indoor Air*, 25: 125-156.
- Niemeier R.T., Sivasubramani S.K., Reponen T., Grinshpun S.A. (2006) Assessment of fungal contamination in moldy homes: comparison of different methods, *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 3: 262-273.
- Nielsen K.F. and Madsen J.O. (2000) Determination of ergosterol on mouldy building materials using isotope dilution and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 898: 227-234.
- Nilsson A., Kihlstrom E., Lagesson V., Wessen B., Szponar B., Larsson L., Tagesson C. (2004) Microorganisms and volatile organic compounds in airborne dust from damp residences. *Indoor Air*, 14 (2): 74-82.
- Noss I., Wouters IM., Visser M., Heederik D., Thorne PS., Brunekreef B., Doekes G. (2008) Evaluation of a low-cost electrostatic dust fall collector for indoor air endotoxin exposure assessment. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 5621-5627.
- Park JH., Spiegelman DL., Burge HA., Gold DR., Chew GL., Milton DK. (2000) Longitudinal study of dust and airborne endotoxin in the home. *Environmental Health Perspectives*, 108: 1023-1028.
- Pasanen A-L., Kallioikoski P., Pasanen P., Salmi T. and Tossavainen A. (1989) Fungi carried from farmers work into farm homes. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 50: 631-633.
- Pasanen A-L. (1992a). Airborne mesophilic fungal spores in various residential environments. *Atmospheric Environment*, 26A(16):2861-2868.
- Pasanen A-L., Niininen M., Kallioikoski P., Nevalainen A., Jantunen MJ. (1992b) Airborne Cladosporium and other fungi in damp versus reference residences. *Atmospheric Environment*, 26B(1):117-120.
- Pasanen P., Korpi A., Kallioikoski P., Pasanen A-L. (1997) Growth and volatile metabolite production of *Aspergillus versicolor* in house dust. *Environment International*, 23 (4): 425-432.
- Pasanen A-L., Korpi A., Kasanen JP., Pasanen P. (1998) Critical aspects on the significance of microbial volatile metabolites as indoor air pollutants. *Environment International*, 24 (7): 703-712.
- Pasanen A-L., Yli-Pietilä K., Pasanen P., Kallioikoski P., Tarhanen J. (1999) Ergosterol content in various fungal species and biocontaminated building materials, *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 138-142.
- Pasanen A-L., Rautiala S., Kasanen JP., Raunio P., Rantamäki J., Kallioikoski P. (2000) The relationship between measured moisture conditions and fungal concentrations in water-damaged building materials. *Indoor Air*, 11: 111-120.
- Peccia J., Haverinen-Shaughnessy U., Täubel M., Gentner DR., Shaughnessy R. (2021). Practitioner-driven research for improving the outcomes of mold inspection and remediation. *Science of the Total Environment*, 762.
- Pessi AM., Suonketo J., Pentti M., Kurkilahti M., Peltola K., Rantio-Lehtimäki A. (2002) Microbial growth inside insulated external walls as an indoor air biocontamination source, *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 963-967.
- Pietarinen V-M., Rintala H., Hyvärinen A., Lignell U., Kärkäinen P., Nevalainen A. (2008) Quantitative PCR analysis of fungi and bacteria in building materials and comparison to culture-based analysis. *Journal of Environmental Monitoring*, 10: 653-663.
- 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*, 11, 235.
- Pitkäranta M, Puhka A. 2013. Kvantitatiivinen PCR sisäilman mikrobiologisen laadun arvioinnissa. Opinnäytetyöt, rakennusterveys. Koulutus- ja kehittämispalvelu Aducate. Itä-Suomen yliopisto. Kuopio.
- 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, *Appl Environ Microbiol*, 74, 233-244.
- Precha N., Kliengchuy W., Woo C., Yamamoto N., Tantrakarnapa K. (2020). Fungal Assemblages on Indoor Surfaces with Visible Mold Growth in Homes after the 2016 Flood Disaster in Thailand. *Applied Sciences-Basel*, 10 (15).
- Prussin A., Marr L. (2015) Sources of airborne microorganisms in the built environment, *Microbiome*, 3, UNSP 78.
- Rao CY., Riggs MA., Chew GL., Muilenberg ML., Thorne PS., Van Sickle D., Dunn KH., Brown C. (2020) Characterization of airborne molds, endotoxins, and glucans in homes in New Orleans after Hurricanes Katrina and Rita. *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (5): 1630-1634.
- Reboux G., Bellanger AP., Roussel S., Grenouillet F., Sornin S., Piarroux R., Dalphin JC., Millon L. (2009) Indoor mold concentration in Eastern France. *Indoor Air*, 19: 446-453.
- Reiman M., Kujanpää L., Vilkkii R., Sundholm P., Kujanpää R: Microbes in building materials of different densities. *Proceedings of Healthy Buildings 2000*. Vol. 3: 313-316.
- Ren P., Jankun TM., Leaderer BP. (1999) Comparisons of seasonal fungal prevalence in indoor and outdoor air and in house dusts of dwellings in one Northeast American county. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 9: 560-568.
- Reponen T., Nevalainen A., Jantunen M., Kallioikoski P. (1992) Normal range criteria for indoor air bacteria and fungal spores in subarctic climate. *Indoor Air*, 2, 26-31.
- Reponen T., Singh U., Schaffer C., Vesper S., Johansson E., Adhikari A., Grinshpun S.A., Indugula R., Ryan P., Levin L., LeMasters G. (2010) Visually observed mold and moldy odor versus quantitatively measured microbial exposure in homes, *Science of the Total Environment*, 408: 5565-5574.

- Reponen T., Singh U., Schaffer C., Vesper S., Johansson E., Adhikari A., Grinshpun SA., Indugula R., Ryan P., Levin L., LeMasters G. (2019) Visually observed mold and moldy odor versus quantitatively measured microbial exposure in homes. *Science of the Total Environment*, 48 (22): 5565-5574.
- Rintala H. and Nevalainen A. (2006) Quantitative measurement of streptomycetes using real-time PCR. *Journal of Environmental Monitoring*, 8, 745-749.
- Rintala H., Hyvärinen A., Paulin L., Nevalainen A. (2004) Detection of streptomycetes in house dust - comparison of culture and PCR methods. *Indoor Air*, 14 (2): 112-119.
- Rintala H., Nevalainen A., Suutari M. (2002) Diversity of streptomycetes in water-damaged building materials based on 16S rDNA sequences. *Letters in Applied Microbiology*, 34 (6): 439-443.
- Roe JD., Haugland RA., Vesper SJ., Wymer LJ. (2001) Quantification of *Stachybotrys chartarum* conidia in indoor dust using real time, fluorescent probe-based detection of PCR products. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 11 (1):12-20.
- Rose L., Jensen B., Peterson A., Banerjee SN., and Arduino MJ. (2004) Swab Materials and *Bacillus anthracis* Spore Recovery from Nonporous Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 10 (6): 1023-1029.
- Rylander R., Reeslev M., Hulander T. (2010) Airborne enzyme measurements to detect indoor mould exposure. *Journal of Environmental Monitoring*, 12: 2161-2164.
- Rylander R. (2015) β -N-Acetylhexosaminidase (NAHA) as a Marker of Fungal Cell Biomass – Storage Stability and Relation to β -Glucan. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*; 3 (4): 205-209.
- Rylander R., Persson K., Goto H., Yuasa H., Tanaka S. (1992) Airborne β -1,3-glucan may be related to symptoms in sick buildings. *Indoor and Built Environment*, 1: 263-267.
- Rylander R. (1997) Airborne (1->3)- β -D-glucan and airway disease in a day-care center before and after renovation. *Archives of Environmental Health*, 52 (4): 281-285.
- Sahlberg B., Gunnbjornsdottir M., Soon A., Jogi R., Gislason T., Wieslander G., Janson C., Norback D. (2013) Airborne molds and bacteria, microbial volatile organic compounds (MVOC), plasticizers and formaldehyde in dwellings in three North European cities in relation to sick building syndrome (SBS). *Science of the Total Environment*, 444: 433-440.
- Salmela A., Lappalainen V., Reponen T., Pasanen P. (2017) Retention of fungal enzyme activity in environmental liquid and filter samples. *Environmental Science: Processes and Impacts*, 19: 134-140.
- Salonen H., Lappalainen S., Lindroos O., Harju R., Reijula K. (2007) Fungi and bacteria in mould-damaged and non-damaged office environments in a subarctic climate. *Atmospheric Environment*, 41: 6797-6807.
- Schoch CL, Seifert KA, Huhndorf S, Robert V, Spouge JL, Levesque CA et al. (2012) Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for fungi. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 109: 6241- 6246.
- Schleibinger H., Laussmann D., Bornehag CG., Eis D., Rueden H. (2008) Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments. *Indoor Air*, 18 (2): 113-124.
- Schram-Bijkerk D., Doekes G., Boeve M., Douwes J., Riedler J., Ublagger E., von Mutius E., Benz M., Pershagen, G., Wickman M., Alfvén T., Braun-Fahrlander C., Waser M., Brunekreef B., Parsifal Study Grp. (2006) Exposure to microbial components and allergens in population studies: a comparison of two house dust collection methods applied by participants and fieldworkers. *Indoor Air*, 16: 414-425.
- Schäfer J., Martin K., Kampfer P. (2010) Analysis of Actinobacteria from mould-colonized water damaged building material. *Systematic and Applied Microbiology*, 33 (5): 260-268.
- Sebastian A. and Larsson L. (2003) Characterization of the microbial community in indoor environments: a chemical-analytical approach, *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 3103-3109.
- Sebastian A., Harley W., Fox A., Larsson, L. (2004) Evaluation of the methyl ester O-methyl acetate derivative of muramic acid for the determination of peptidoglycan in environmental samples by ion-trap GC-MS-MS, *J Environmental Monitoring*, 6, 300-304.
- Shinohara N., Hasegawa K., Kagi N., Sakaguchi J., Shiraishi Y., Mitamura T. (2018) Microbial volatile organic compounds and dampness in 60 houses of East Japan. *Building and Environment*, 132: 338-344.
- Shorter C., Crane J., Piers N. ym. (2016) Indoor visible mold and mold odour are associated with new-onset childhood wheeze in a dose dependent manner. *Indoor Air*, 28(1): 6-15.
- Singh U., Levin L., Grinshpun SA., Schaffer C., Adhikari A., Reponen, T. (2011a) Influence of home characteristics on airborne and dustborne endotoxin and β -D-glucan. *Journal of Environmental Monitoring*, 13: 3246-3253.
- Singh U., Reponen T., Cho KJ., Grinshpun SA., Adhikari A., Levin L., Indugula R., Green BJ. (2011b) Airborne Endotoxin and β -D-glucan in PM1 in Agricultural and Home Environments. *Aerosol and Air Quality Research*, 11 (4): 376-386.
- Simoni M., Cai G., Norback D., Annesi-Maesano I., Lavaud F., Sigsgaard T., Wieslander G., Nystad W., Canciani M., Viegi G. and Sestini, P. (2011) Total viable molds and fungal DNA in classrooms and association with respiratory health and pulmonary function of European schoolchildren. *Pediatric Allergy and Immunology*, 22: 843-852.
- Skrobot F., Diehl SV., Borazjani H. (2017) Mycotoxin Production by *Stachybotrys chartarum* on Water-Damaged Building Materials. *Bioresources*, 12 (3): 6490-6503.
- Solomon GM., Hjelmroos-Koski M., Rotkin-Ellman M., Hammond SK. (2006) Airborne mold and endotoxin concentrations in New Orleans, Louisiana, after flooding, October through November 2005. *Environmental Health Perspectives*, 114 (9): 1381-1386.
- Sordillo JE., Alwis UK., Hoffman E., Gold DR., Milton DK. (2011) Home Characteristics as Predictors of Bacterial and Fungal Microbial Biomarkers in House Dust. *Environmental Health Perspectives*, 119 (2): 189-195.

- Sosiaali- ja terveystieteiden tutkimuskeskus ja muun oleskelutilan terveydellisistä olosuhteista sekä ulkopuolisten asiantuntijoiden pätevyysvaatimuksista (545/2015).
- Sosiaali- ja terveystieteiden tutkimuskeskus julkaisuja 2020: 24. HTP-arvot 2020. Haitalliseksi tunnetut pitoisuudet. Saatavilla osoitteesta: https://julkaisut.valtioneuvosto.fi/bitstream/handle/10024/162457/STM_2020_24_J.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Sousa J. (2022) Association between home characteristics and occupant's behaviours and concentrations of bacteria, fungi and endotoxins. *Journal of Building Engineering*, 45.
- Stolp H. (1988) *Microbial ecology: Organisms, habitats, activities* (Cambridge studies in ecology). Cambridge University Press.
- Strachan DP., Flannigan B., McCabe EM., McGarry F. (1990) Quantification of airborne moulds in the homes of children with and without wheeze. *Thorax* 45:382-387.
- Takitani S., Asabe Y. (1983) Thin-layer chromatographic analysis of trichothecene mycotoxins In: Ueno Y (ed) *Trichothecens: chemical, biological and toxicological aspects* Elsevier, Science, New York, pp 113-120
- Tegelberg P., Hirvonen H., Kronqvist M., Kokkonen A., Rintala H. Viljely- ja qPCR-menetelmien vertailu rakennustekniisiin havaintoihin materiaalinäytteissä. Sisäilmastoseminaari 2020, 107-111 (SIY raportti 38).
- Terveydensuojelulaki (763/1994).
- Thorne P.S., Kulhankova K., Yin M., Cohn R., Arbes S.J., Zeldin DC. (2005) Endotoxin exposure is a risk factor for asthma - the national survey of endotoxin in United States housing, *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 172: 1371-1377.
- Thorne P.S., Perry S.S., Saito R., O'Shaughnessy P.T., Mehaffy J., Metwali N., Keefe T., Donham K.J. and Reynolds S.J. (2010) Evaluation of the Limulus amebocyte lysate and Recombinant Factor C assays for assessment of airborne endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*, 76: 4988-4995.
- Tischer C., Chen CM., Heinrich J. (2011) Association between domestic mould and mould components, and asthma and allergy in children: a systematic review. *European Respiratory Journal*, 38 (4): 812-824.
- Tischer C., Zock JP., Valkonen M., Doekes G., Guerra S., Heederik D., Jarvis D., Norback D., Olivieri M., Sunyer J., Svanes C., Täubel M., Thiering E., Verlato G. (2015) Predictors of microbial agents in dust and respiratory health in the Echrh. *BMC Pulmonary Medicine*, 15.
- Toivola M., Alm S., Reponen T., Kolari S., Nevalainen A. (2002) Personal exposures and microenvironmental concentrations of particles and bioaerosols. *Journal of Environmental Monitoring*, 4: 166-174.
- Topp R., Wimmer K., Fahlbusch B., Bischof W., Richter K., Wichmann HE., Heinrich J. (2003) Repeated measurements of allergens and endotoxin in settled house dust over a time period of 6 years. *Clinical and Experimental Allergy*, 33: 1659-1666.
- Torvinen E., Meklin T., Torkko P., Suomalainen S., Reiman M., Katila ML., Paulin L., Nevalainen A. (2006) Mycobacteria and fungi in moisture-damaged building materials. *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 6822-6824.
- Tuomi T., Reijula K., Johnsson T., Hemminki K., Hintikka EL., Lindroos O., Kalso S., Koukila-Kahkola P., Mussalo-Rauhamaa H., Haahtela T. (2000) Mycotoxins in crude building materials from water-damaged buildings. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (5): 1899-1904.
- Työterveyslaitos. (2021) Endotoksiinien näytteenotto-ohje. Saatavilla osoitteesta: <https://www.ttl.fi/service-document/endotoksiinien-naytteenotto-ohje/>
- Täubel M., Valkonen M., Tuoresmäki P., Saarnio K., Leppänen H., Vepsäläinen A., Kirjavainen P., Hyvärinen A. Mikrobiyh-teisöjen määrittäminen rakennusmateriaalinäytteistä käyttäen NGS-sekvensointia. Sisäilmastoseminaari 2020 (SIY raportti 38).
- Täubel M., Rintala H., Pitkäranta M., Paulin L., Laitinen S., Pekkanen J., Hyvärinen A., Nevalainen A. (2009) The occupant as a source of house dust bacteria, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 124: 834-840.
- Valkonen M., Jalkanen K., Täubel M., Peltonen M., Vepsäläinen A., Niittynen M., Hyvärinen A. Menetelmien kehitystyö mikrobikasvun toteamiseksi. Sisäilmastoseminaari 2015 (SIY raportti 33).
- Valkonen M, Saarnio K, Hyytiäinen H, Täubel M, Hyvärinen A. 2019. Mikrobimääritykset rakennusmateriaalinäytteestä - menetelmien vertailu. Sisäilmastoseminaari 2019, 209-213 (SIY raportti 37).
- Valvira. Asumisterveysasetuksen soveltamisohje 8/2016. Saatavilla osoitteesta: <https://www.valvira.fi/documents/14444/261239/Asumisterveysasetuksen+soveltamisohje+osa+IV.pdf/cdfaaa39-d2e5-4bd6-b9e9-6d9c0f60bfff6>
- van Strien R.T., Engel R., Holst O., Bufe A., Eder W., Waser M., Braun-Fahrlander C., Riedler J., Nowak D., von Mutius E., Alex Study Team. (2004) Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health, *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113: 860-867.
- Verhoeff A., Vanreenenhoekstra E., Samson R., Brunekreef B., Vanwijnen J. (1994) Fungal propagules in house dust 1. Comparison of analytic methods and their value as estimators of potential exposure. *Allergy*, 49: 533-539.
- 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 homes in the U.S. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 49:829-833.
- Vishwanath V., Sulyok M., Weingart G., Kluger B., Täubel M., Mayer S., Schuhmacher R., Krška R. (2011) Evaluation of settled floor dust for the presence of microbial metabolites and volatile anthropogenic chemicals in indoor environments by LC-MS/MS and GC-MS. *Talanta*, 85 (4): 2027-2038.
- Wady L., Shehabi A., Szponar B., Pehrson C., Sheng Y., Larsson, L. (2004) Heterogeneity in microbial exposure in schools in Sweden, Poland and Jordan revealed by analysis of chemical markers, *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 14, 293-299.

- Waegemaekers M., van Wageningen N., Brunekreef B., Boleij JSM. (1989) Respiratory symptoms in damp homes. *Allergy* 44:192-198.
- Wouters IM., Douwes J., Doekes C., Thorn, PS., Brunekreef B., Heederik DJJ. (2000) Increased levels of markers of microbial exposure in homes with indoor storage of organic household waste, *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 627-631.
- Wurtz H., Sigsgaard T., Valbjorn O., Doekes G., Meyer HW. (2005) The dustfallcollector-a simple passive tool for long-term collection of airborne dust: a project under the Danish Mould in Buildings program (DAMIB), *Indoor Air*, 15 Suppl 9: 33-40.
- Yamamoto N., Hospodsky D., Dannemiller KC., Nazaroff WW., Peccia J. (2015) Indoor emissions as a primary source of airborne allergenic fungal particles in classrooms, *Environmental Science and Technology*, 49: 5098-5106.