

TESTAUSSELOSTE

SISÄILMASTA KERÄTYN HUURREVESINÄYTTEEN VAIKUTUS IHMISEN MAKROFAGISOLUIHIN

Osuuskunta Bionautit
Viikinkaari 9, Biokeskus1
00790 Helsinki



1 YLEISTIEDOT

2(4)

1.1 Testauksen tilaaja

Sisäilmatutkimuspalvelut Elisa Aattela OY (SEA OY)
Järvensivuntie 7 B 49, 33100 Tampere
358 40 7436659
elisa.aattela@sisailmatutkimuspalvelut.fi

1.2 Testauksen tekijä

Osuuskunta Bionautit
Viikinkaari 9, Biokeskus 1
00790 Helsinki

1.3 Testauksen ajankohta

23.1 – 27.1.2023

1.4 Näytteet

Näytteet otettu: 23.1.2023
Näytteenottaja: Elisa Aattela, SEA Oy
Näytteenottoaikka ja osoite: Hankoniemen koulu, Hanko

1.5 Testauksen tavoite

Testauksessa tutkitaan sisäilmasta kerättyjen huurrevesinäytteiden vaikutus ihmisen makrofagisoluihin.

2 TESTAUKSEN SUORITUS

2.1 Huurrevesinäytteiden otto

Näytteenotto perustuu sisäilmasta kerättävään veteen E-keräimellä. E-keräimen sisälle sijoitetaan hiilihappojäätä (-79°C). Sisäilmassa olevat vesimolekyylit härmistyvät keräimen kylmään pintaan huurteeksi. Hiilihappojää poistetaan ja huurtuminen loppuu. Huurre sulaa vedeksi ja valuu teräslaatikon alla olevalle tarjottimelle. Vesi siirretään välittömästi näytepulloon ja toimitetaan Osuuskunta Bionauttien laboratorioon testattavaksi. Laboratorio sijaitsee Helsingin yliopiston mikrobiologian osaston tiloissa Viikin kampusalueella (Viikinkaari 9, Biokeskus 1).

2.2 Huurrevesinäytteiden testauksessa noudatettava ohjeistus

Huurrevesinäytteiden testaus tapahtuu noudattaen Tampereen yliopiston FICAMin kehittämää ohjetta, joka perustuu julkaisuun: *Mannerström M, Toimela T, Ahoniemi J, Makiou A-S, Heinonen T: Cytotoxicity of Water Samples Condensed from Indoor Air: An Indicator of Poor Indoor Air Quality, Applied In Vitro Toxicology 2020 6:4, 120-130*

2.3 Huurrevesinäytteiden käsittely

Näytteiden saavuttua Bionauteille Viikkiin ne tarkastetaan visuaalisesti ja steriilisuodatetaan. Näytteiden säilytys tapahtuu 4°C:ssa.

2.4. Testauksessa käytettävät solut ja monikuoppalevy

Testauksessa käytetään ihmisen THP-1 –monosyyttisolusta (ATCC, #TIB-202) erilaistettuja THP-1 –makrofagisoluja. Testaus tapahtuu 96-kuoppalevyillä.

2.5 Huurrevesinäytteiden annostelu

Huurrevesinäytteet annostellaan soluille kahdessa eri pitoisuudessa (10% ja 25%). Käyttämällä kahta eri pitoisuutta, saadaan varmempi tulos. Kunkin näytteen molemmista pitoisuuksista testataan 6 rinnakkaista. Kontrollina/verrokkina käytetään steriiliä tislattua vettä. Positiivisena kontrollina käytetään nikkeli II sulfaattia. Altistus tapahtuu soluviljelyinkubaattorissa (37°C, 5.0% CO₂). Altistusaika on 24 h.

2.6 Toksisuus/viabiliteettimittaus

Toksisuuden (solukuoleman)/solujen elävyyden (viabiliteetin) mittaamisessa käytetään WST-1*-testiä. Testi perustuu siihen, että elävien, metabolisesti aktiivisten solujen mitokondrioiden dehydrogenaasientsyymit pelkistävät WST-1:n värilliseksi lopputuotteeksi, jonka absorbanssi voidaan mitata aallonpituudella 450nm. Tällöin mitattu absorbanssi on suoraan verrannollinen solujen metaboliseen aktiivisuuteen ja elävien solujen määrään. Mitä suurempi absorbanssi sitä suurempi metabolinen aktiivisuus ja elävien solujen määrä.

*2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfophenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt

2.7. Tulosten käsittely ja tulkinta

Huurrevesinäytteille altistettujen solujen elävyyttä verrataan kontrollisolujen (solut, joita ei ole käsitelty huurrevesinäytteillä) elävyyteen. Tulokset testataan tilastollisesti (t-testi tai Mann-Whitney Rank Sum -testi), jotta nähdään milloin muutokset solujen elävyydessä ovat tilastollisesti merkitseviä. Huurrevesinäyte tulkitaan toksiseksi, mikäli P-arvo on tilastoanalyysissä <0.05. Muutoksen on myös oltava vähintään 3.0%, jotta se tulkitaan toksiseksi.

Joissain tapauksissa huurrevesinäyte aiheuttaa kontrolliin verrattuna solumäärän lisääntymistä tai mitokondrioiden aktivoitumista, mikä havaitaan näytteen aiheuttamana solujen korkeampana absorbanssitasona verrattuna kontrolliin [OECD (2018), *Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP)*, OECD Series on Testing and Assessment, No. 286, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264304796-en>]. Tämä kuvaa tyypillisesti solujen stressitilaa (häiriötillaa soluissa) ja voi liittyä mm. solujen immunologiseen aktivoitumiseen. Huurrevesinäytteen tulkitaan aiheuttavan solustressiä, mikäli P-arvo on tilastoanalyysissä <0.05. Muutoksen on myös oltava vähintään 3.0%, jotta se tulkitaan solustressiksi. Solustressi on solukuolemaa lievempi haittavaikutus.

Tuloksille annetaan huurrevesinäytteen vaikutusta kuvaava luokka alla olevan taulukon mukaisesti.

LUOKKA	NÄYTTEEN MÄÄRÄ TESTISSÄ	VAIKUTUS SOLUIHIN	TULKINTA
1	10%	Ei vaikutusta soluihin	Ei toksinen
	25%	Ei vaikutusta soluihin	
2	10%	Ei vaikutusta soluihin	Solustressi
	25%	Solumäärän lisääntyminen (>3%)	
3	10%	Solumäärän lisääntyminen (>3%)	Solustressi
	25%	Ei vaikutusta soluihin	
4	10%	Solumäärän lisääntyminen (>3%)	Solustressi
	25%	Solumäärän lisääntyminen (>3%)	
5	10%	Ei vaikutusta soluihin	Toksinen
	25%	Solukuolema (>3%)	
6	10%	Solumäärän lisääntyminen (>3%)	Toksinen
	25%	Solukuolema (>3%)	
7	10%	Solukuolema (>3%)	Toksinen
	25%	Solukuolema (>3%)	

3 TULOKSET

NÄYTE	BN-koodi	TULOS (VAIKUTUS SOLUIHIN)	LUOKKA
H1: Kuvaamataito 183 RH 25,0 % 21,4°C	B15-2	10%: -0,59 ±1,16; 0,792 25%: %: 6,58 ±3,77; 0,231	1
H2: Tekstiililuokka 173 RH 24,6 % 21,3°C	B15-3	10%: 0,43 ±2,53; 0,893 25%: 3,02 ±3,10; 0,533	1

Kts. tulosten tulkinta Luku 2.7