

Enzym som indikator för mögelproblem i byggnader

Slutrapport Snabb och enkel mögelkontroll
Svenska Byggnadsindustrins Utvecklings Fond projekt 12080

Ragnar Rylander¹

Thomas Hulander²

Morten Reeslev³

1. BioFact Environmental Health Research Center
e-post envhealth@biofact.se www.biofact.se

2. Fuktskadeteknik AB, Frillesås, Sweden
e-post fuktskadeteknik@telia.com

3. Mycometer ApS, Köpenhamn, Danmark
e-post mreeslev@mycometer.dk



Enzym som indikator för mögelproblem i byggnader

Projektledare har varit Kyösti Tuutti, Skanska Project Support AB. Projekthandledare har varit Ragnar Rylander, professor emeritus vid Göteborgs Universitet, verksam vid BioFact Environmental Health Research Center, tillsammans med Morten Reeslev, Mycometer A/S i Köpenhamn som svarar för specialkunskap rörande analyserna av mögelcellsenzym och Thomas Hulander, Fuktskadeteknik AB, som svarat för den tekniska undersökningen av byggnader. Värdefulla synpunkter på projektet och rapporten har lämnats av Susanne Svegerud, NSS Construction, Sverige och Jonas Gräslund, Skanska.

Som bakgrundsmaterial redovisas de medicinska effekterna av mögelexponering i Appendix 1. I en första del av projektet har materiel och teknisk utrustning prövats för optimering av metoden. Denna del redovisas i Appendix 2. Den standardiserade metoden har använts vid mätningar i byggnader, som därefter genomgått en teknisk besiktning för att undersöka förekomst av mögelskada. Resultaten av besiktningarna redovisas i Appendix 3 som kan rekvireras separat.

Sammanfattning

Mögelskada – varför mäta enzym?

1. Vad är enzym i mögel?

Mögelceller innehåller flera olika enzym som reglerar tillväxt och ämnesomsättningen. Aktiviteten hos ett av dessa - N-beta-.acetylhexosaminidas (NAHA) - kan mätas med en enkel analysmetod. NAHA finns också i andra mikroorganismer och i pollen men mängderna är särskilt höga i mögelceller.

2. Vilken nytta har man av NAHA-mätningar?

Mögelceller finns normalt i vår miljö. Mätningar av NAHA kan visa om mängderna är högre än normalt på ytor eller i luftprover inomhus. Höga halter NAHA i ett rum tyder på förekomst av onormalt höga halter mögelceller, vilket kan orsakas av synliga eller dolda mögelskador samt förklara förekomst av medicinska symptom relaterade till byggnaden.

Mätning av mängden NAHA inomhus kan användas för att:

1. vid byggnadsrelaterade ohälsosymptom, undersöka om det finns en mögelskada
2. få ett underlag till bedömning om det finns en dold mögelskada eller inte
3. lokalisera var i byggnaden eller i vilken byggnadskonstruktion skadan är belägen
4. få information om utförda saneringsåtgärder varit effektiva

3. Var kan man mäta NAHA?

NAHA kan mätas på ytor, i luften och inne i byggnadskonstruktionen. För ytmätning stryker man över en definierad yta med en vaddpinne på den plats där man misstänker att det finns mögel och pinnen analyseras. För luftmätning sugs luft i det undersökta rummet genom ett filter och mängden NAHA på filtret analyseras. För prover i byggnadskonstruktioner sugs luft genom ett filter kopplat till ett rör som sticks in i byggnadskonstruktionen.

4. Hur skall man tolka resultaten?

I analysen mäter man aktiviteten av NAHA som uttrycks i enheter (E). Utgående från erfarenheter från tidigare undersökningar kan man avgöra om ett visst värde är normalt, om det innebär misstanke på onormal förekomst av mögel eller om det med stor sannolikhet indikerar mögelskada.

Om ett ytvärde understiger 25 E är detta ett normalvärde. Ligger det mellan 25 och 450 är det misstanke på mögelväxt och överstiger det 450 tyder detta på mögelväxt på den plats där provet tagits.

I luftprover tagna med och analyserade med en standardiserad metod finns normalt upp till 20 E/m³. Vid värden överstigande 30 E/m³ finns det med stor sannolikhet en mögelskada i byggnadskonstruktionen i närheten av den plats där mätningen gjordes eller en mögelhärd i rummet. Värden mellan 20 och 30 tyder på att det kan finnas en mögelskada, men en närmare bedömning måste göras utgående från en besiktning av byggnaden och annan information.

5. Begränsningar

Resultat från mätningar av NAHA måste, precis som från andra slags mätningar av mögel, tolkas med försiktighet.

Luftprovet ger information om mängden NAHA i det rum där provet tas och vid detta tillfälle – mätningar vid andra tidpunkter kan ge annorlunda resultat. Eftersom mögel normalt finns i luften och ansamlas i golvdamm kan kraftigt eftersatt städning ge förhöjda värden, särskilt om det finns luftrörelser i rummet förorsakade av personer som förflyttar sig. Mätningar i luften ger inte information om mögelskador i byggnadskonstruktionen om inte luftförbindelse finns med det rum där mätningen utförs. Normala värden är alltså ingen garanti för att det inte finns **dolda** mögelskador i byggnadskonstruktionen.

Beträffande ytprover bör de tas på ett ställe där mögelväxt misstänks (missfärgning av materialet, fuktskada etc). Ett negativt resultat utesluter inte att det kan finnas mögel på en angränsande yta.

I jämförelse med andra metoder för att bestämma förekomst av mögel är enzymmetoden säker med liten variation mellan upprepade provtagningar, tekniskt lätt att genomföra och ger snabbt tillgängliga resultat.

7. Vem kan göra mätningar?

Luftprover kan tas av skadeutredare med hjälp av en luftpump och de filter som anges i metodbeskrivningen. Analyserna av NAHA måste göras på laboratorier eller av personer, som fått särskild utbildning i analystekniken. För närmare information kan författarna till rapporten kontaktas.

Projektrapport

Innehåll

	sid
Bakgrund	6
Metodbeskrivning	8
Fältmätningar	11
Resultat	12
Kommentar	15
Sammanfattning	15
Referenser	16
Appendix 1. Hälsorisker till följd av mögel	
Appendix 2. Metodutveckling	
Appendix 3. Besiktningsbilaga	

1. Bakgrund

Mögelväxt är ett allvarligt problem i byggnader [1] och det finns en omfattande vetenskaplig dokumentation som visar att mögelväxt ger upphov till olika typer av hälsoproblem [2-5]. Metoder för att bestämma exponering för mögel är därför viktiga för såväl fastighetsägare, byggtreprenörer som brukare av byggnader.

Forskningsprojektet har omfattat mätningar i olika byggnader för att undersöka sambandet mellan NAHA-aktivitet och förekomst av mögelskada. I andra undersökningar har sambandet mellan NAHA och risk för lungsjukdomen sarkoidos studerats [6]. I pågående forskningsprojekt belyses sambandet mellan astma relaterad till vistelse inomhus och mögelexponering. I det följande redovisas en översikt av de vanligaste metoderna som kan användas för bestämning av mögelväxt.

Prov kan tas från ytor genom att stryka med en fuktig pinne eller genom att applicera en klistertape. Från luften tas prover genom att suga luft genom filter, vätskeimpinger eller speciella apparater (sporfällor).

I de olika proven kan antalet sporer räknas i mikroskåp och uttryckas som antal per ytenhet eller m^3 luft. Det är en stor variation i resultaten mellan olika laboratorier beroende på skillnader i metoderna för insamling samt räkningsprecision. Cellfragment, som också innehåller de biologiskt aktiva ämnena från mögelcellerna, kan inte bestämmas med denna metod.

Om provet förs över till ett substrat eller provet tas direkt på substratet kan man bestämma antalet levande mögelceller och olika mögelarter. Metoden är endast delvis kvantitativ eftersom ett aggregat av flera levande mögelceller ger upphov till en enda koloni. Utväxten är beroende av temperatur, inkubationstid och typ av substrat – alla faktorer som påverkar antalsberäkningen. Döda mögelsporer och fragment av celler påvisas inte. Med odlingsprover påvisas cirka 10% av den totala mögelcellsmassan.

Mängden mögelcellsmassa kan bestämmas med metoder som analyserar olika ämnen på eller i cellväggen. Ett mått på mängden mögelcellsmassa innebär den bästa beskrivningen av riskerna för medicinska effekter eftersom biologiskt aktiva ämnen i cellväggen behåller sin effekt även om cellen är död. Mätningar av mängden mögelmassa innefattar också fragment av mögelceller och sporer som inte beaktas med sporräkning men som kan utgöra upp till hälften av den totala mögelcellsmassan.

Ergosterol finns i mögelsvamparnas cellmembran och β -glukan finns i cellväggen och kan analyseras med kemiska, biologiska och immunologiska metoder. Mängden DNA kan bestämmas genom en kemisk reaktion (polymerase chain reaction, PCR). Metoden påvisar DNA från såväl döda som levande celler och genom karakteristik av DNA kan artbestämning göras. Med hjälp av specifika antikroppar kan cellbeståndsdelar t ex allergiframkallande ämnen bestämmas. En annan metod bestämmer mängden ATP i levande och nyligen döda celler, men direkt relation till mängden mögelcellsmassa saknas och även andra källor till ATP påverkar resultatet.

Växande mögelceller avger olika organiska ämnen (microbial volatile organic compounds – MVOC). Mängden MVOC har tidigare använts som indikator på mögelförekomst, men bl.a. eftersom den huvudsakligen indikerar en metabolisk aktivitet hos mögelceller har dessa bestämningar visat sig ha ett begränsat värde.

De ovan beskrivna metoderna för bestämning av mögel är, förutom bestämning av ATP, komplicerade och kräver speciallaboratorier. Det tar flera dagar upp till veckor att få resultaten och mätmetoderna är inte standardiserade, varför resultaten från samma prov kan variera mellan olika laboratorier. En tekniskt enklare och snabbare metod att bestämma mögelcellsmassa är att analysera mängden N-beta-acetylhexosaminidas (NAHA). I ett tidigare forskningsprogram har en metod för att bestämma mängden luftburet NAHA inomhus utarbetats [7]. Metoden visade sig vara snabb och enkel och det gick att med hög specificitet identifiera mögelskadade byggnader. Den i projektet använda apparaturen för insamling av luftprover var dock komplicerad och dyr och därför kunde metoden inte förväntas få allmän användning.

I det här redovisade projektet har metoden för bestämning av luftburet enzym utvecklats för filterprovtagning, optimerats avseende insamlingsteknik, filtermaterial och analysförfarande samt standardiserats.

2. Metodbeskrivning

I det följande ges en slutlig metodbeskrivning för enzymanalysen baserad på det utvecklingsarbete som redovisas i Appendix 2.

2.1 Luftprovtagning

För att få för inomhusluften representativa värden skall fönster och dörrar till de rum där mätningar görs vara stängda sedan föregående kväll. Fläktsystem med tillförsel av luft utifrån skall vara avstängda.

Luftprover tas med en kommersiellt tillgänglig filterenhet som är förladdad med ett cellulosacetatfilter (Mixed Cellulose Esters, 25 mm PCM Cassettes, 0,8µm pore size,

Zefon International, Inc., Ocala, FL, USA). Filtret placeras ca 60 cm ovanför golvytan riktat nedåt för att undvika sedimentering av större partiklar på filtret och hela locket avlägsnas. För provtagningen används en luftpump och man samlar in ca 300 liter luft, I detta projekt har använts en pump med kapaciteten 20 L/min. Om filtret inte kan analyseras inom någon dag från provtagningen, måste det förvaras i kyla.

Mängden luftburet mögel i ett rum är enligt tidigare undersökning beroende på avståndet till mögelhärden. Därför bör mätningar göras i flera rum i de byggnader som undersöks.

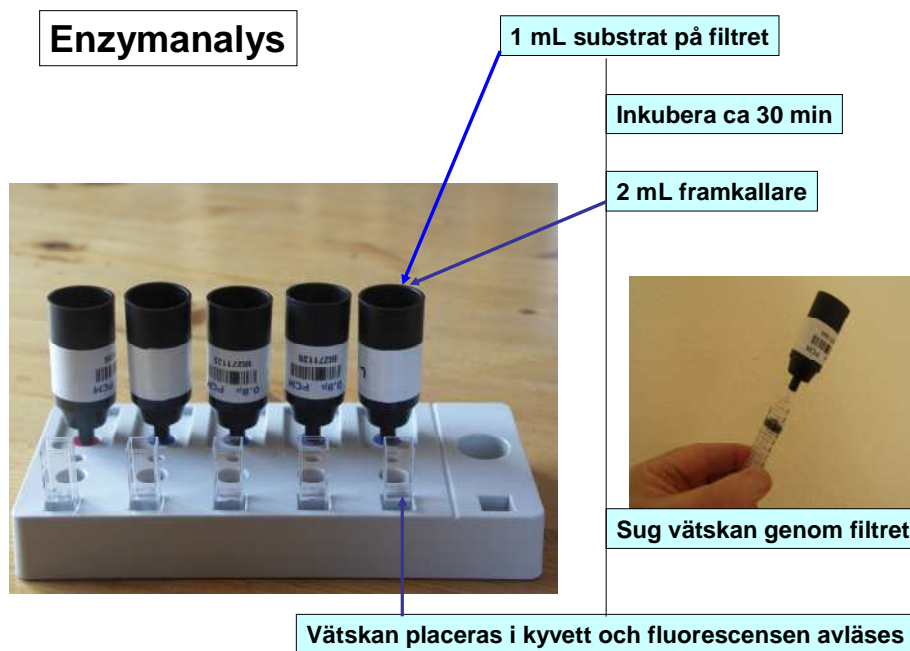
Eftersom golvdamm normalt innehåller mögelpartiklar skall man vid provtagningen se till att luften inte virvlas upp till följd av kraftiga rörelser i rummet eller skakning av textilier eller gardiner. Finns det tecken på mycket eftersatt städning t ex dammtussar, bör en grundlig städning göras några dagar före provtagningen för att få relevanta resultat vad avser eventuell mögelskada i byggnadskonstruktionen.

2.2 Enzymanalys

Filterhållaren placeras med filtret uppåt på ett lämpligt underlag och det stora locket avlägsnas. Substratet (Mycometer test substrat, Mycometer A/S, Köpenhamn, Danmark) färdigställs genom att tillsätta vätska till substratpulver och skaka tills pulvret lösts fullständigt. Denna vattenlösning är hållbar några dagar i kylskåpstemperatur. Om överblivet substrat skall förvaras längre tid måste det frysas.

Med en spruta förs 1 mL substrat till filtret och man kontrollerar att vätskan sprids över hela filterytan. Efter en inkubationstid som exakt bestäms av rumstemperaturen – runt 30 minuter – tillsätts framkallaren, varefter vätskan i filterhållaren sugas ut underifrån med en spruta och överförs till en kyvett. Fluorescensen hos denna vätska avläses i en fluorimeter (Picofluor, Turner Designs, Sunnyvale, CA, USA) och det avlästa talet anger aktiviteten hos mögelenzym i vätskan. Talet justeras för mängden luft som gått genom filtret, divideras med 10 och avrundas till närmaste heltal för att utesluta icke informativa siffror och det slutliga resultatet uttrycks som E/m³.

Analysförfarandet illustreras i Figur 2.



Figur 2. Analys av mögelenzym på filter

Resultaten är avhängiga av temperaturen som bestämmer inkubationstidens längd, varför denna måste hållas med stor noggrannhet. Föreskrivna utgångsdatum på analysvätskorna måste beaktas.

2.3. Metod för ytprover

Prov tas på den yta där mögelväxt misstänks eller på en sanerad yta. En vaddpinne fuktas med sterilt vatten och förs 2-3 gånger över ytan (3x3 cm, bestämt av en pappersram). Vaddpinnen förs över i ett rör som bör förvaras i kylskåp. Vid analysen sätts vaddpinnen till ett rör med substrat och efter en inkubationstid på ca 30 minuter, beroende på rumstemperaturen, förs 100 μ L av substratet över till en kyvett med 2 mL framkallare. Fluorescensen avläses på samma sätt som vid luftprov men av tradition rapporteras resultaten som fluorescensenheter utan korrigering för yta.

3. Fältmätningar

3.1 Objekt

För att få ett underlag till fältmätningar annonserades i lokaltidningar efter hus med misstänkta mögelproblem. De som svarade på annonsen ville undersöka mögelförekomst eftersom de känt källar- och mögellukt någonstans i byggnaden, hade observerat fuktskador i vägg eller golv, eller ville säkerställa att resultaten av en saneringsåtgärd gett tillfredsställande resultat. I några fall fanns inga misstankar på mögelskada men man ville utnyttja möjligheten att få en mätning utförd. Dessutom kontaktades byggare för att få tillgång till leveransfärdiga, inflyttningsklara och slutstädade hus. Vidare gjordes mätningar i samband med sedvanlig skadeutredning. Mätningarna utfördes enligt ett standardiserat mätprotokoll.

Tabell 1 visar de olika kategorier av byggnader som undersökts samt antalet rum där mätning av NAHA gjorts.

Tabell 1. Olika kategorier av byggnader och antal rum där bestämning av luftburet NAHA utförts

<i>Kategori</i>	<i>antal</i>	<i>rum</i>
Leveransfärdiga småhus	6	11
Enfamiljshus/radhus	51	143
Lägenheter	10	28
Övriga	2	7

Sammanlagt gjordes mätningar i 189 rum i 69 byggnader och lägenheter. I projektet har mer än 800 analyser av NAHA företagits i samband med mätningarna och utprovning av metoden.

3.2 Mögelskadebedömning

En byggnad klassificerades som mögelskadad om synlig mögelväxt och/eller tydlig mögellukt förekom eller om det fanns annan källa till höga mögelhalter. I de byggnader där synlig mögelväxt eller tydlig mögellukt inte förekom, gjordes en teknisk skadebesiktning. Förekommande riskkonstruktioner identifierades och en erfarenhetsmässig bedömning gjordes huruvida dessa riskkonstruktioner, välkända som mögelobjekt i andra byggnader, skulle kunna påverka inomhusmiljön i det aktuella fallet och om huset skulle bedömas som med eller utan mögelskada.

4. Resultat

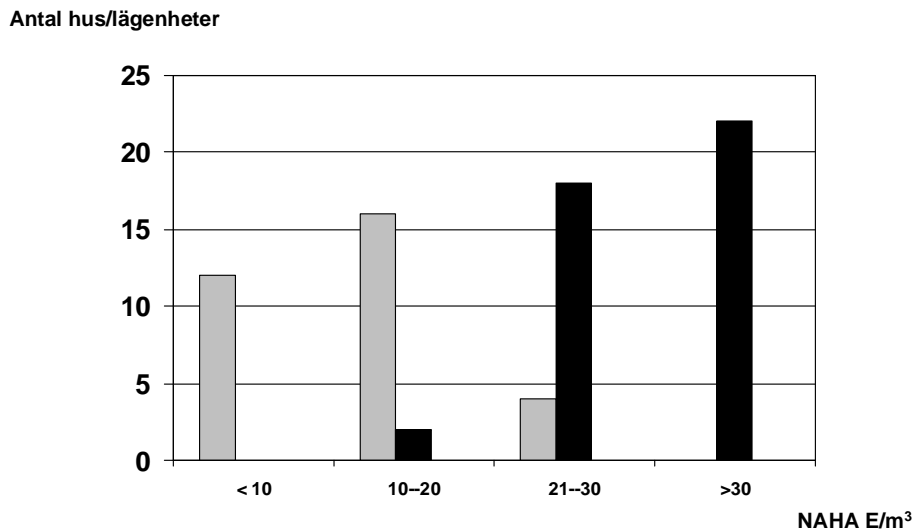
4.1 Mätningar i byggnader

I Appendix 3 ges en beskrivning av de olika byggnaderna och besiktningensresultaten.

Mängden NAHA varierade mellan 0 och 164 E/m³. I byggnader utan mögelskada var medelvärdet 15,6 E/m³ och standardavvikelsen 6,5. I byggnader med mögelskada var medelvärdet 41,8 och standardavvikelsen 28,0. Skillnaden mellan byggnader utan och med mögelskada var statistiskt signifikant (Mann-Whitney, $p < 0,001$).

I den föregående undersökningen [6] visades att mängden luftburet NAHA i olika rum var beroende av avståndet till mögelhärden. Därför valdes det högst uppmätta värdet i byggnaden som underlag till klassificering av mögelskada.

Figur 3 visar fördelningen av det högst uppmätta NAHA-värdet i byggnader med och utan påvisad mögelskada.



Figur 3. Fördelningen av det högst uppmätta enzymvärdet i byggnader utan mögelförekomst (ljusa staplar) och med mögelförekomst (mörka staplar).

I byggnader med mögelskador uppmättes, med två undantag, enzymvärden överstigande 20 E/m³. I byggnader där mögelskador inte kunde påvisas, hade 4 byggnader värden överstigande 20 men de övriga hade lägre värden. Bland nyproducerade byggnader hade 10 rum ett värde mindre än 10 och ett rum värdet 14 NAHA E/m³.

Tabell 2 redovisar sensitivitet och specificitet vid gränsvärdena 20 resp 30 NAHA E/m³.

Tabell 2. Specificitet och sensitivitet för gränsvärdena 20 och 30 NAHA E/m³.

Gränsvärde	sensitivitet%	specificitet%
20	95	88
30	52	100

Förutom ovan redovisade resultat är det av intresse att redovisa tre enskilda fall.

Mätningar gjordes i två byggnader med en enstegstätad putsad fasad på cellplast, som saknade bakomliggande luftspalt mot mineralullsisolerad träregelstomme. Fasaden uppvisade rikligt med fuktfläckar, vattenutflöde från utrymmet bakom fasaden och det fanns synliga fuktskador i flera lägenheter. Mätningar gjordes i 23 rum. I samtliga rum var värdet högre än 20 NAHA E/m³ och i 7 rum över 30 NAHA E/m³.

I en byggnad hade man noterat bostadsrelaterade besvär med irritation i luftvägarna etc. Eftersom det fanns en gammal vattenskada i taken anmälde man sig till undersökningen. Värdena på luftburet enzym var normala och det fanns inga tecken på mögelskada i taket. Senare framkom att man i ett av rummen hade en soffa som stått i ett ouppvärt lager under flera år. När soffans kuddar skakades uppmättes 198 E/m³.

I en villa med åtgärdad fuktskada i taket uppmättes höga enzymvärden men några tecken på mögelskada i byggnadskonstruktionen kunde inte påvisas. Det framkom att gardinerna i huset inte tvättats sedan mögelskadan inträffat (ca 10 år). Gardinerna skakades och luftprovet visade 175 E/m³. "Gardinprovet" upprepades i en annan byggnad i ett rum med eftersatt städning och gav till resultat 1'452 E/m³. Dessa fall visar att höga mängder damm kan ge upphov till höga värden luftburet NAHA.

4.2 Mätningar i utomhusluft

I tidigare undersökning [6] visade att det inte fanns något samband mellan enzymvärden uppmätta inomhus och utomhus. Eftersom NAHA finns i pollen gjordes 12 mätningar av utomhusluften under pollensäsongen i april-juni. Värdena varierade mellan 0 och 23 E/m³ och hade ett medeltal på 9 E/m³. Vidare gjordes ytprov på en veranda med synligt lager av pollen men NAHA värdet visade endast misstanke på förhöjt värde. Det är alltså inte troligt att de höga värden NAHA som uppmätts i vissa byggnader i undersökningen beror på förekomst av pollen.

5. Kommentarer

Resultaten från undersökningen bekräftar dem som redovisats i den tidigare undersökningen [7]. I jämförelse med denna tillämpades en mer exakt och standardiserad metod såväl vid insamling av luftprover som vid analyserna. Upprepade mätningar vid

samma tillfälle eller i samma lokal vid olika tillfällen visade stor överensstämmelse mellan uppmätta värden (se Appendix 2). Med en här redovisade metoden kan alltså förekomst av mögelskada och mögelansamlingar i en byggnad bestämmas med hög specificitet och hög sensitivitet.

Resultaten från mätningar i leveransfärdiga hus visade genomgående låga värden. Mätningar av NAHA kan således användas för en kvalitetskontroll avseende mögelförekomst vid leverans.

Vid mätningar i en byggnad återfanns de högsta NAHA-värdena i närheten av mögelskadan. Detta bekräftar erfarenheterna från tidigare forskningsprojekt och visar att mätningar av NAHA kan vara till hjälp vid lokalisering av en mögelskada i en byggnad.

I detta projekt gjordes ingen systematisk kartläggning av byggnadsrelaterade symptom. Erfarenheterna från det tidigare projektet visade dock på ett nära samband mellan förekomst av symptom och höga NAHA värden. Mätningar av NAHA är således av värde för att kartlägga om byggnadsrelaterade symptom beror på en förekomst av mögelskada eller onormalt höga halter mögel till följd av eftersatt rengöring.

I projektet gjordes endast enstaka mätningar med ytprover. Från metodologisk synvinkel är metodprovningar av ytmetoden inte nödvändiga – den används regelmässigt i Danmark och det finns en stor erfarenhetsbas för bedömning av förekomst av mögel på ytor.

6. Sammanfattning och rekommendationer

Sammanfattningsvis visar resultaten att halten NAHA inomhus, med den metodik som användes, normalt är upp till 20 E/m³. Låga värden kan inte alltid utesluta mögelförekomst eftersom en mögelhärd kan vara avgränsad i byggnadskonstruktionen varifrån mögelceller inte kommer in till det rum där mätningen gjordes.

Enzymvärden mellan 20 och 30 E/m³ innebär en viss sannolikhet för mögelskada. Värden överstigande 30 E/m³ innebär stor sannolikhet för mögelskada i byggnadskonstruktionen eller onormal ansamling av mögelceller i rumsdamm.

Mätning av NAHA är en säkrare bestämning av mögelexponering än tidigare metoder t ex sporräkning och kan innebära ett värdefullt komplement vid skadeutredning eller utredning av symptom relaterade till vistelse i viss byggnad.

7. Referenser

1. Singh J (ed). Building mycology. E&FN Spon, London, UK 1994 pp 1-324.
2. Strauss DC (ed). Sick building syndrome. *Advances in applied microbiology* 2004; 55:1-474.
3. Park J-H, Cox-Ganser J, Rao C, Kreiss K. Fungal and endotoxin measurements in dust associated with respiratory symptoms in a water-damaged office building. *Indoor Air* 2006; 16:192-203.
4. Hyvärinen A, Sebastian A, Pekkanen J, Larsson L, Korppi M, Putus T, et al. Characterizing microbial exposure with ergosterol, 3-hydroxy fatty acids, and viable microbes in house dust: determinants and association with childhood asthma. *J Env Occup Health* 2006; 61:149-157.
5. Lignell U, Meklin T, Putus T, Vepsäläinen A, Roponen M, Torvinen E, et al 2005. Microbial exposure, symptoms and inflammatory mediators in nasal lavage fluid of kitchen and clerical personnel in schools. *Int J Occ Med Env Health* 18:139-150.
6. Terčelj M, Salobir B, Rylander R. Airborne enzyme in homes of patients with sarcoidosis. *Lung* 2009 (submitted).
7. Rylander R, Reeslev M, Hulander T. Detektering av mögelskada genom mätning av mögelenzym. Slutrapport från SBUF forskningsprojekt 11875 13 februari 2008 (tillgänglig på www.biofact.se/rappporter).

Appendix 1

Mögel inomhus och hälsorisker

Vad är mögel?

Mögel är en blandning av olika sorters svampar (fungi) som ofta förekommer tillsammans med olika slags bakterier. Det finns överallt i vår miljö och växer på fuktiga ytor. Mögel består av celler i olika former omgivna av en polysackaridkapsel men utan klorofyll. De kan växa på de flesta ytor under förutsättning att fuktigheten i luften eller i materialet är tillräckligt hög. Under tillväxten bryts det underliggande materialet ned och används som näringsmedel av mögelcellen. Mögel kan också växa på levande organismer och är då i praktiken parasiter.

Det finns mer än 250'000 olika arter av svampar. Vanliga mögelsvampar som finns i den yttre miljön är Cladosporium och Alternaria medan Penicillium och Aspergillus är vanligare inomhus. Under tillväxten bildar de flesta mögelarterna sporer som är motsvarigheten till växternas frön. I naturen sprids sporerna långa distanser och i alla lager av lufthavet samt börjar växa när de faller ned på en lämplig yta.

Antalet mögelceller i utomhusluften varierar med årstiden med lägre halter under vinter och vår och högre halter under sommar och höst. Höga värden kan förekomma när det blåser starkt.

Mögelcellernas cellvägg innehåller flera olika ämnen med biologisk effekt. Det finns många olika enzymer samt en speciell polyglukosförening – 1-3- β -glukan – som tillsammans med kitin utgör ett slags "skelett" för mögelcellen. De olika ämnena i cellväggen behåller sin struktur också när mögelcellen dör, varför mätningar av levande mögelceller inte ger ett säkert mått på risken för medicinska effekter. Vissa mögelsorter producerar giftiga ämnen under tillväxten. Vidare produceras flyktiga ämnen av olika slag som ger upphov till mögellukten. Luktämnen fastnar även i textilier och kläder som hänger i garderober nära mögelväxten.

Mögel inomhus

Kunskap om riskerna med mögelväxt inomhus har funnits länge och instruktioner hur man skall åtgärda mögelskador i byggnader finns redan i Bibeln (3e Mosebok kap 33-45). Mögelceller och sporer kommer in i byggnader via luften eller via kläder och skor. De sjunker ned till golvytan och ingår som en naturlig beståndsdel i vanligt golv- eller hylldamm. Mängden mögelceller är vanligen lägre inomhus än utomhus beroende på filtrationseffekten när luften tränger in i byggnaden. Höga värden kan finnas om det finns en inomhuskompost eller om städningen är eftersatt.

I byggnadskonstruktioner finns ett stort antal platser där mögel kan växa till om fuktighetshalten är för hög. Mögel tillväxer om relativa fuktigheten överstiger 70-80% i luft eller 17 % fuktkvot i trämaterial. Det finns en mångfald källor till hög fuktnivå inomhus – läckande vattenrör, otäta tak, skador i fasad och husets grundläggning, översvämning av avloppssystemet samt otillräcklig ventilation som medför kondens, särskilt i våtutrymmen.

Under tillväxten ökar mögelmassan dramatiskt. Under en vecka kan cellmassan öka 20 miljoner gånger. Förorenade material kan innehålla miljontals sporer per kvadratcentimeter. Mikroklimatet inomhus försvårar sporbildningen vilket leder till att den luftburna mängden mögelceller är låg eftersom mögelcellerna klibbar till ytan. När skadan torkas t ex med torkaggregat ökar risken för att mögel virvlas upp i luften och sprider sig inne i byggnadskonstruktionen genom sprickor och otäta fogar och ventilationskanaler.

Även när orsaken till fuktskadan är åtgärdad, finns mögelceller kvar, varför åtgärder också måste omfatta utbyte av det påvuxna samt luktsmittade byggnadsmaterialet kring de platser där mögelskada funnits.

Normalt damm inne i byggnader innehåller alltid mögelceller. Tillräcklig ventilation och städning motverkar hälsobesvär från denna exponering. Vid aktiviteter i rummet som virvlar upp damm eller skakning av textilier, avlägsnande av heltäckningsmatta etc. kan dock tillfälligt höga halter av luftburna mögelceller uppträda och förorsaka besvär.

Medicinska effekter av mögel

Inandning av mögelceller eller sporer kan ge upphov till flera olika medicinska effekter.

Infektioner med mögel är ovanliga och uppträder oftast hos personer med nedsatt immunförsvar eller som behandlas med cancerbekämpande medicin. Lokal växt av mögelceller kan förkomma hos normala personer på huden, särskilt på fötter eller i underlivet.

Mögelceller som inandas påverkar immunförsvaret i lungorna och i kroppen. Detta kan leda till uppkomst av antikroppar mot mögel, vilket hos vissa personer kan utvecklas till en allergi. Detta är dock relativt ovanligt. Vanligare är att man utvecklar en ospecifik inflammation i luftvägarna. Både allergi och den ospecifika inflammationen yttrar sig genom irritation i luftvägarna, hosta och ibland klåda. Många personer anger också trötthet och koncentrationssvårigheter vilket beror på att inflammationsframkallande ämnen från lungan sprids till andra delar av kroppen. Även om mögelskadan åtgärdas eller om man flyttar till en annan byggnad kan besvären från andningsvägarna kvarstå under många år tillsammans med en överkänslighet för lukter, parfym och tobaksrök.

Om man utsätts för mycket höga mängder mögelceller, vilket kan förekomma i yrkeslivet, kan en allvarlig inflammation med granulom i lungan utvecklas. Den var redan tidigt känd som lantbrukarlunga men har också rapporterats i vanliga inomhusmiljöer. Det finns också data som tyder på att en annan allvarlig lungsjukdom – sarkoidos – kan förorsakas av mögelexponering inomhus.

Vissa mögelsorter kan bilda giftiga ämnen – toxiner - som kan påverka lever och centrala nervsystemet. Det finns inga säkerställda samband mellan luftburna mögelgifter och hälsoproblem inomhus.

Vanligtvis förekommer mögelceller tillsammans med olika slags bakterier särskilt s k Gramnegativa bakterier, som på sin yta har ett kraftigt inflammationsframkallande ämne – endotoxin. Detta betyder att vissa av de effekter man satt i samband med exponering för mögelceller kan ha förorsakats av endotoxin eller av en kombination av de båda exponeringarna.

Referenser

Singh J (ed) Building mycology E&FN Spon, London, UK 1994 pp 1-324.

Strauss DC (ed) Sick building syndrome in *Advances in applied microbiology* 2004; 55:1-474.

Gravesen S, Frisvad JC, Samson RA *Microfungi*, Munksgaard 1994, pp 1-168.

Park J-H, Cox-Ganser J, Rao C, Kreiss K. Fungal and endotoxin measurements in dust associated with respiratory symptoms in a water-damaged office building. *Indoor Air* 2006; 16:192-203.

Hyvärinen A, Sebastian A, Pekkanen J, Larsson L, Korppi M, Putus T, et al. Characterizing microbial exposure with ergosterol, 3-hydroxy fatty acids, and viable microbes in house dust: determinants and association with childhood asthma. *J Env Occup Health* 2006; 61:149-157.

Lignell U, Meklin T, Putus T, Vepsäläinen A, Roponen M, Torvinen E, et al 2005. Microbial exposure, symptoms and inflammatory mediators in nasal lavage fluid of kitchen and clerical personnel in schools. *Int J Occ Med Env Health* 18:139-150.

Terčelj M, Salobir B, Rylander R. Airborne enzyme in homes of patients with sarcoidosis. *Lung* 2009 (submitted).

Rylander R Doktorn, min bostad gör mig sjuk! BioFact rapport 5/06,
www.biofact.se/rapporter

Rylander R Moulds in buildings and health risks. BioFact rapport 1/09
www.biofact.se/rapporter

Appendix 2

Utprovning av material och metoder för mätning av luftburet enzym inomhus

1. Prövning av olika filter

Partiklar i luften kan insamlas med filter, vätskeimpinger (OMNI-apparat i den tidigare undersökningen) samt jonisator. För praktiskt bruk är uppsamling med filter den enklaste metoden och är välkänd bland skadestredare och skyddsingenjörer. Utrustningen är enkel och relativt billig samt lätt transportabel. Mot den bakgrunden beslöts att inrikta forskningsprogrammet på att utveckla en filtermetod för bestämning av luftburet enzym som indikator på mögelcellsmassa.

Det finns många olika filter för insamling av luftburna partiklar. Tidigare har man för att bestämma mängden luftburet damm i huvudsak använt sig av celluloacetatfilter. För biologiska agens såsom endotoxin och glukos har glasfiberfilter rekommenderats eftersom de ger en större retention på filtret. Mot denna bakgrund prövades celluloacetatfilter som lades i hållare med stödmembran (Millipore HAWP 03700), ett celluloacetatfilter färdigladdat i kassett (Mixed Cellulose Esters, 25 mm PCM Cassettes, 0,8µm pore size, Zefon International, Inc., Ocala, FL, USA) och glasfiberfilter (Millipore Glass fiber APFA 35 mm).

Inledningsvis bestämdes blankvärdet dvs det värde för fluorescens som erhöles med enzymsubstrat och framkallare samt substrat och framkallare med filter utan att någon luft passerat filtret. Tabell 1 visar blankvärden för celluloacetatfilter och glasfiberfilter direkt, efter uppvärming till 150° C och efter tvättning med sterilt vatten och natriumhydroxid (10 min kontaktid, sköljning med sterilt vatten och torkning).

Tabell 1. Blankvärden för cellulosacetatfilter och glasfiberfilter direkt och efter tvättning med sterilt vatten och natriumhydroxid. 10 – 20 prover för varje filtertyp.

Filtertyp	medelvärde	spridning
Enzymsubstrat+framkallare	104	-
Cellulosaacetat	103	57 – 134
Cellulosacetat – kassett	136	108 - 161
Glasfiber	317	209 – 615
Glasfiber – värme	343	221 - 465
Glasfiber/vatten	131	53 – 307
Glasfiber/NaOH	100	68 – 125

Blankvärdet för de båda cellulosacetatfiltren översteg endast obetydligt blankvärdet för enzymsubstrat och framkallare. Värdet för glasfiberfilter var ca 3 ggr högre än för cellulosacetatfilter och i enstaka fall mycket högt. Värmebehandling av glasfiberfilter påverkade inte blankvärdet. Tvättning med vatten minskade blankvärdet och efter tvättning med NaOH var värdet liknande det för cellulosacetatfilter.

2. OMNI och cellulosacetatfilter

Prov togs från luften i olika byggnader med de tre metoderna parallellt. (filterprovtagning med cellulosacetat, cellulosacetat med kassett och glasfiber på samma pump under 15 min, 20 L/min samt OMNI 5-10 minuter efter filterstart, 300 L/min, 5 min). Sammanlagt gjordes 25 provtagningar. En jämförelse mellan resultaten visade att det fanns ett signifikant samband mellan mängden NAHA uppmätt med OMNI och cellulosacetat med kassett ($p = 0.010$) och glasfiberfilter ($p = 0,001$ Wilcoxon signed rank test). Korrelationen var måttlig vilket är förväntat eftersom de från luften insamlade partiklarna behandlas olika (i impinger kraftig bearbetning med vätska och på filter uttorkning).

3. Val av filter

Från praktisk synpunkt är ett förfarande där de filter som används först måste tvättas med NaOH för att få acceptabla blankvärden inte tillfredsställande. Med tvättningsprocessen

införs också ett potentiellt fel med höga blankvärden i enstaka filter om tvättningen inte utförts korrekt.

Filter i kassett är lätt att hantera vid mätningar och arbetsmomentet att ladda en hållare med filter medför risk för kontaminering. Mot denna bakgrund beslutades att i de fortsatta undersökningarna använda cellulosaacetatfilter färdigladdade i kassett. För detta filter gjordes ytterligare en metodjämförelse med parallell provtagning med den mindre luftkanalen i locket öppen och locket helt avtaget. Resultaten från 5 mätningar visar genomgående högre värde då hela locket var avtaget med i medeltal 1,6 gånger högre enzymvärde. Alla efterföljande mätningar gjordes med locket avtaget.

4. Analys av enzym

I det tidigare projektet togs 1 mL vätska ut från den då använda OMNI-behållare i vilket luftprovet uppsamlats och filtrerades genom ett Milliporefilter. Till detta sattes 2 mL enzymsubstrat och efter inkubationstidens slut 2 mL framkallare varefter vätskan trycktes ned i en kyvett och fluorescensen avlästes. Detta förfarande innebar många moment och krävde extra materiel i form av sprutor och filter.

I försöken med luftprovtagning med filter gjordes försök att sätta substratet direkt till filtret. De värden som erhöles överensstämde i stort med dem som erhöles vid provtagning med OMNI-kapsel varför olika volymkombinationer av substrat och framkallare prövades. Den slutliga metoden blev att man till filtret sätter 1 mL substrat, inkuberar under ca 30 minuter (exakt tid bestäms av temperaturen) och sedan tillsätter 2 mL framkallare, omedelbart suger vätskan nedifrån genom filtret och överför den till kyvetten för fluorescensmätning. Försöken visade också att vätskan måste sugas genom filtret – om den togs direkt från filterytan blev enzymvärdena lägre.

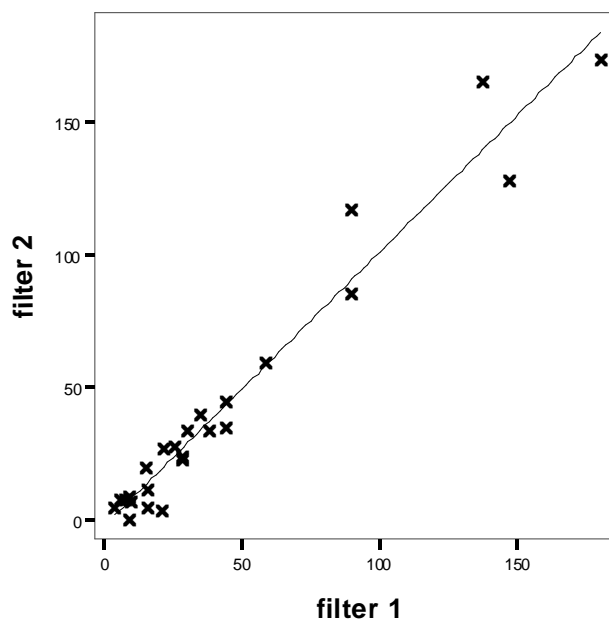
Värdena vid avläsning av fluorescensen varierade mellan 0 och 1'500 sedan blankvärdet fråndragits. Från analysynpunkt är det ingen skillnad mellan värden som varierar i tiotal t ex mellan 567 och 578 eller 98 och 106. Det avlästa värdet innehåller därför onödig sifferinformation. Bedömningen under arbetet med projektet var att det avlästa värdet dividerat med 10 samt avrundat till jämnt heltal ger ett robust och lätthanterligt värde.

5. Lagring av filter

För att undersöka hållbarheten av NAHA under lagring efter provtagningen togs flera prover samtidigt i olika rum och filtren analyserades med olika mellanrum. Resultaten visade att enzymvärdet inte påverkades under lagring. Med tanke på att prov ibland tas under fuktiga förhållanden rekommenderas dock att filtren förvaras i kyla om analysen inte kan göras de närmaste dagarna efter provtagningen.

6. Parallella provtagningar.

I några byggnader gjordes provtagning med två filter samtidigt. Resultaten redovisas i figur 1.

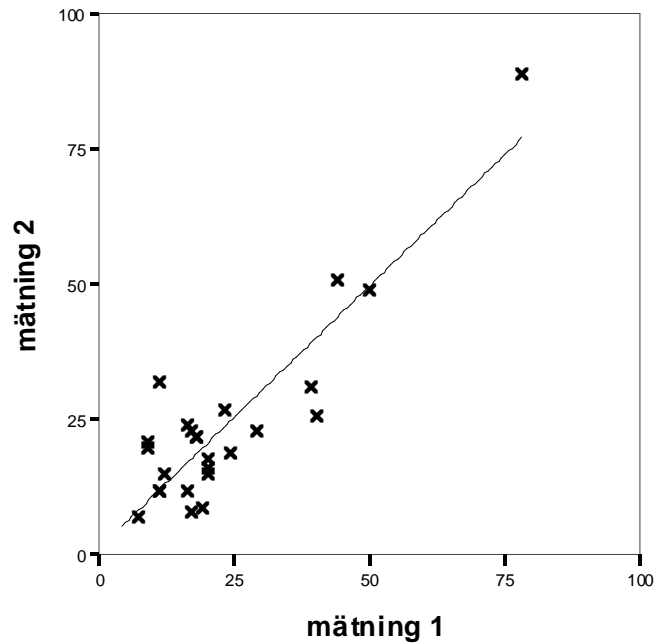


Figur 1. NAHA E/m³ från två filter med parallell provtagning.

Det fanns ett mycket nära samband mellan aktiviteten av NAHA på de två filtren ($r^2 = 0,927$, $p < =0,0001$)

7. Upprepade provtagningar

I vissa byggnader gjordes förnyade provtagningar i samma rum 1 – 6 veckor efter den första provtagningen. Resultaten visas i figur 2.



Figur 2. NAHA E/m³ i prover i samma rum tagna med 1- 6 månaders mellanrum.

Det fanns ett starkt samband mellan värden uppmätta vid två tillfällen ($r^2 = 0,630$, $p < 0,001$, Spearmans). Av de mätningar som uppvisade värden överstigande 30 NAHA i den första mätningen, understeg två värdet 30 i den andra mätningen.