
Mykotoksiner og biologisk aktive stoffer

Af Kristian Fog Nielsen, Statens Byggeforskningsinstitut og Danmarks Tekniske Universitet

Baggrund

I de seneste år har der været stigende opmærksomhed på de sundhedsmæssige problemer, som kan opstå ved ophold i skimmelsvampe-inficerede bygninger.

Der er i dag ingen eksakt viden om problemets omfang i Danmark. I lande som Belgien, Holland, Finland og England er der problemer i 5-10 % af bygningerne, og der er intet som tyder på, at problemet er mindre i Danmark.

Den dokumenterede viden om skimmelsvampes virkningsmekanismer er overvejende knyttet til de specifikke luftvejsallergier over for svampe. Nonimmunologiske mekanismer, herunder toksiske påvirkninger, er endnu kun sparsomt belyst, hvilket vanskeliggør en præcis diagnosticering af nonatopiske patienter. Ligeledes mangler det videnskabelige grundlag for objektive vurderingskriterier for, hvor sundhedsskadelig en bygning er. Endelig mangler der videnskabelige data for vurdering af omfang og type af dekontaminering i inficerede bygninger.

Følgende stoffer spiller sandsynligvis en rolle som ætiologiske agentia i de skimmelsvampe-inficerede bygninger:

Tabel 1. Potentielt biologisk aktive stoffer i mugne bygninger.

-
- Proteiner (allergener)
 - β -(1-3)-d-glucaner.
 - Mykotoksiner.
 - Flygtige organiske forbindelser
 - (MVOC'er).
 - Andre mikroorganismer associeret til vandskadesvampene.
-

Skimmelsvampenes produktion af potentielt biologisk aktive stoffer, afhænger meget af slægt og art. Normalt vil variationen af glucaner og størstedelen af proteinerne inden for en slægt være lille. Derimod er variationen i produktion af sekundære metabolitter og dermed mykotoksiner langt større, idet disse er artsspecifikke. Derfor er et kendskab til artsniveau af de svampe, der forekommer i vandskadede bygninger, nødvendigt.

Allergener

De fleste af de skimmelsvampe, der hyppigst isoleres fra fugtige byggematerialer, kan mediere en specifik allergisk reaktion. Kun hos et fåtal af svampene er de allergene proteiner imidlertid karakteriseret f. eks. Alt a 1 fra *Alternaria alternata*.

Flere af de hyppigst forekommende vandskadesvampe synes imidlertid at kunne inducere non-IgE medieret histaminfrigørelse fra humane basofile granulocytter *in vitro*.

Påvisning af specifik IgG over for vandskadesvampe har betydning som eksponeringsmål, men har ikke vist dokumenteret sammenhæng med patientens symptomer.

Glucaner

En anden gruppe stoffer, som tidligere har været i fokus, ikke mindst i Sverige, er de irritative, endotoksinlignende β -(1-3)-d-glucaner, som er nogle af de strukturelle elementer i skimmelsvampes cellevægge. Der synes dog at være en tendens til at opfatte β -(1-3)-d-glucanerne mere som indikatorstoffer end som farmakologisk aktive stoffer.

i vandskadede bygninger

Mykotoksiner

I indeklimasammenhæng har der de sidste fire til fem år været fokus på mykotoksiner, de toksiske metabolitter fra svampene. Dette skyldes, at de dominerende vandskadesvampe tilhørende slægterne: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Chaetomium*, *Stachybotrys* og *Trichoderma* er kendte producenter af toksiner som aflatoxiner, ochratoxiner, trichothecener og andre mykotoksiner (figur 1). Et større kendskab til hvilke arter vandskadesvampene reelt tilhører har dog udelukket de aflatoxinproducerende arter: *A. flavus* og *A. parasiticus* samt de ochratoxinproducerende arter: *A. ochraceus* og *P. verrucosum*, idet disse ikke vokser på vandskadede byggematerialer. Da Mykologigruppen på DTU <http://www.ibt.dtu.dk/mycology/myindx.htm> har en førende position inden for forskning i skimmelsvampes mykotoksinproduktion har den med afgørende vægt kunnet pege på, hvilke toksiner der var sandsynlige at finde i vandskadede bygninger. Da mykotoksinproduktion imidlertid afhænger meget af substratet, er det nødvendigt at analysere inficerede byggematerialer for at kortlægge, hvilke toksiner vandskadesvampene specifikt producerer her.

Specielt har den sorte skimmelsvamp *Stachybotrys chartarum* påkaldt sig mykologers og toksikologers interesse. Denne svamp producerer macrocycliske trichothecener, satratoxiner, der er meget stærke inhibitorer af proteinsyntesen. *S. chartarum* vokser på fugtige medier med cellulose og lidt nitrogen, f.eks. hø og halm, og har derfor været årsag til mere end 100.000 hestes og fårs død i Øst-Europa i 1940'erne.

I 1986 blev det første gang dokumentet, at *S. chartarum* også producerede macrocycliske trichothecener, specielt satratoxiner (figur 1),

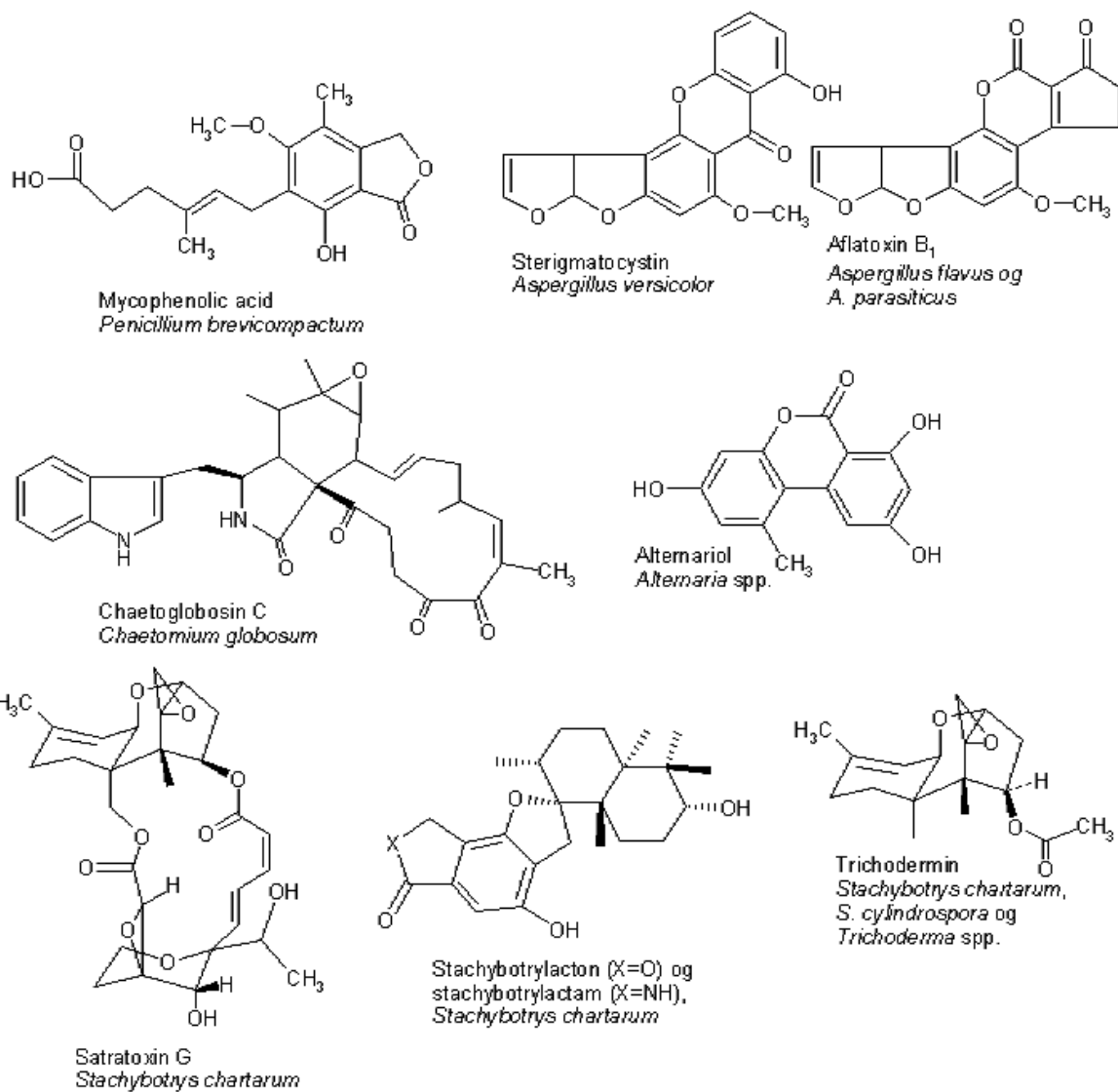
under vækst på byggematerialer. Dette er senere blevet vist også i danske bygninger. I 1994 viste *Centers for Disease Control* (USA) et abnormt stort antal tilfælde af akut lungeblødning hos spædbørn (0-1år) i Cleveland-området som følge af længere tids oversvømmelse i området. Ca. 50 tilfælde er fundet, hvoraf 14 med dødelig udgang. En del af dødsfaldene var først diagnosticeret som pludselig spædbarnsdød. En mistanke blev imidlertid vakt, da alle hjem var stærkt inficerede med skimmelsvampe, specielt *S. chartarum*.

Det er på mus vist, at kun trichothecenproducerende *S. chartarum* isolater kan inducere akut lungeblødning. Trichothecenerne gør kapillærvæggene tyndere, så de nemmere sprænges, hvilket stemmer overens med, at der er en association til passiv rygning. Mange *S. chartarum* isolater producerer også stachybotrylacton og stachybotrylactam (figur 1), som ligeledes er immunosuppressive (antikomplement stoffer).

Den næsthøypigst fundne art i danske bygninger, *Aspergillus versicolor*, producerer under vækst på vandskadede byggematerialer meget store mængder sterigmatocystin (1-24 µg cm², eller op til 1% af biomassen) samt flere analoger hertil. Sterigmatocystinerne er stærkt toksiske og carcinogene aflatoxinforprodukter (ca. 10% så carcinogene som aflatoxin B₁).

Den næst mest hyppige slægtfælle, *A. ustus*, producerer under vækst på vandskadede byggematerialer mere end 40 ukendte stoffer. *A. niger* producerer en lang række naphtho-γ-pyroner og tetracykliske forbindelser, bl.a. orlandin og nigragillin, som anses for toksiske, samt mere end 20 andre ukendte forbindelser.

Chaetomium globosum, som ligeledes er meget hyppig, producerer under vækst på opfugtede



Figur 1. Strukturformler for nogle af de omtalte mykotoksiner. Satratoxin G og trichodermin er henholdsvis macrocycliske og ikke macrocycliske trichothecener.

bygge materialer store mængder toksisk chaetoglobosin A og C (20-50 og 2-7 $\mu\text{g cm}^{-2}$).

Alternaria spp. producerer, ligeledes under vækst på våde byggematerialer, stofferne alternariol og alternariol-monomethyl-ether, som er mutagene og toksiske.

Fra den hyppigst forekommende vandskade-svamp, *Penicillium chrysogenum* (*P. notatum*), har der under vækst på vandskadede byggematerialer ikke kunnet dokumenteres nogen kendte biologisk aktive stoffer. Derimod producerer slægtsfællerne *P. brevicompactum* mycophenolsyre og *P. polonicum* neurotoksinet verrucosidin samt en lang række ukendte stoffer.

Ingen toksiner blev fundet fra *Trichoderma* spp., som ellers er en meget stor kilde til produktion af biologisk aktive stoffer.

I bygningsammenhæng er der stort set kun arbejdet med kendte mykotoksiner, som ikke er proteiner og peptider. Da specielt cykliske peptider har vist sig at være biologisk særdeles aktive, er der her grundlag for et vigtigt forskningsarbejde, ligesom opklaringen af struktur og biologisk aktivitet hos de mange ukendte metabolitter, som skimmelsvampe producerer under vækst på byggematerialer, endnu er i sin vorden.

MVOC'er

En stofgruppe, som er meget vigtig, er de flygtige metabolitter, svampenes lugtstoffer, eller de såkaldte MVOC'er.

MVOC'er kan i modsætning til sporer diffundere gennem faste barrierer og kan derved påvirke personer, selv om skimmelvæksten sidder bag tapet eller længere inde i en konstruktion.

En dansk undersøgelse har vist, at der i klasse-lokaler kan måles symptomer, når arealet af skimmelsvampevækst overstiger $\frac{1}{4} \text{ m}^2$. En amerikansk undersøgelse viste et effekt areal på $\frac{1}{2} \text{ m}^2$ i et helt enfamiliehus. Begge undersø-

gelser viste, at der var effekt uanset hvor i konstruktionerne væksten var placeret, hvilket tyder på MVOC'er som aktivstofferne.

Kemiske analyser af luften kan ikke afsløre de biologisk aktive stoffer, og man kan kun i enkelte tilfælde måle forskel på inficerede og ikke inficerede bygninger. De MVOC'er, man har identificeret fra skimmelsvampe, kan ikke forklare de observerede symptomer, oftest er koncentrationerne 100-1000 gange under irritationstærsklerne. Konklusionen er derfor, at der ikke må lugte muggent i et hus!

Forsøg har vist, at MVOC'er fra *Trichoderma viride* kan inducere non-IgE medieret histamin frigørelse fra humane basofile granulocytter *in vitro*, uden at man har kunnet vise en mekanisme.

MVOC'erne, hvoraf mange er terpenener, indeholder ofte mange dobbeltbindinger og kan reagere med ozon og nitrogenoxider under dannelse af *ustabile reaktive* forbindelser, som ikke kan detekteres.

Andre mikroorganismer

Et finsk arbejde har detekteret en række meget aktive cykliske peptider fra *Mycobacterium* arter (ikke infektiøse), som voksende på byggematerialer. Peptiderne virker som kompleks-ion dannere, der giver fri adgang for Na^+ og K^+ over mitochondriernes cellemembran og stopper dermed effektivt cellens mulighed for producere ATP.

Actinomyceter (gram-positive bakterier) findes også i vandskadede bygninger. De er ligesom skimmelsvampe i stand til at producere en mængde forskellige sekundære metabolitter foruden store mængder MVOC'er. Bakterierne lever i en kompleks biofilm med skimmelsvampe, bl.a. *Stachybotrys*, og andre bakterier.

Fremtidsperspektiver

Der arbejdes mange steder i verden med sundhedsmæssige problemer i forbindelse med ophold i vandskadede bygninger. I de fleste af

de forskningsaktive lande er der tale om enkeltstående projekter. I Finland og i Danmark er der imidlertid udarbejdet hele tværfaglige programmer. En række lande synes generelt at være noget længere tilbage i erkendelsen af de sundhedsmæssige problemer, og der fokuseres derfor udelukkende på *S. chartarum*, selv om den kun er en meget lille del af problemet.

Forskningsprogrammet om Skimmelsvampe i bygninger 1998-2001 (se www.sbi.dk), er primært udarbejdet for at kunne give videnskabeligt funderet information til byggeriets parter, men er samtidigt et godt oplæg til yderligere projekter, som vil blive nødvendige for at udbygge forståelsen af de medicinske og biologiske problemer, der knytter sig til fugt og mug.

WWW-Links

<http://www.sbi.dk>

<http://www.ibt.dtu.dk/mycology/myindx.htm>

Referencer:

Anderson MA, Nikulin M, Kõljalg U, Anderson MC, Rainey F, Reijula K, Hintikka E-L, Salkinoja-Salonen M. Bacteria, moulds, and toxins in water-damaged building materials. *Applied and Environmental Microbiology* 1997;63:387-393.

Croft WA, Jarvis BB, Yatawara CS. Airborne outbreak of Trichothecene Mycotoxicosis. *Atmospheric Environment* 1986;20:549-552.

Etzel RA, Montana E, Sorenson WG, Kullman GJ, Allan TM, Dearborn DG. Acute Pulmonary hemorrhage in infants associated with exposure to *Stachybotrys atra* and other fungi. *Archives of Pediatr Adolesc Med* 1998;152:757-762.

Gravesen S, Nielsen PA, Nielsen KF. Skimmelsvampe i vandskadede bygninger. SBI rapport 282. Statens Byggeforskningsinstitut, Hørsholm, 1997.

Johanning E, Biagini RE, Hull D, Morey PR, Jarvis BB, Landsbergis P. Health and immunology study following exposure to toxigenic fungi (*Stachybotrys chartarum*) in a water-damaged office environment. *International Archives of Occupational Health* 1996; 68:207-218.

Larsen FO, Christensen G, Clementsen P, Gravesen S, Skov P, Norn S. Microfungi in indoor air are able to trigger histamine release by non-IgE-mediated mechanisms. *Inflammation Research* 1996;45:S23-S24.

Larsen FO, Clementsen P, Hansen M, Maltbæk N, Larsen TO, Nielsen KF, Gravesen S, Skov P, Norn S. Volatile organic compounds from the indoor mould *Trichoderma viride* cause histamine release from human bronchoalveolar cells. *Inflammation Research* 1998;47: S5-S6 .

Nielsen KF, Hansen MØ, Larsen TO, Thrane U. Production of trichothecene mycotoxins on water damaged gypsum boards in Danish buildings. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1998;42:1-7.

Nielsen KF, Thrane U, Larsen TO, Nielsen PA, Gravesen S. 1998. Production of mycotoxins on artificially inoculated building materials. *International Biodeterioration & Biodegradation* 1998; 42:8-17.

Nielsen KF, Gravesen K, Nielsen PA, Andersen B, Thrane U, Frisvad JC. 1999. Production of mycotoxins on artificially and naturally infested building materials. *Mycopathologia* (submitted).

Nikulin M, Reijula K, Jarvis BB, Hintikka E-L. Experimental lung mycotoxicosis induced by *Stachybotrys atra*. *International Journal of Experimental Pathology* 1997;77:213-218.

Ström G, West J, Wessen B, Palmgren U. Quantitative analysis of microbial volatiles in damp Swedish houses. In: RA Samson, B Flannigan, ME Flannigan, AP Verhoeff (eds.). Health implications of fungi in indoor air environment, pp. 291-305. Elsevier, Amsterdam, 1994.

Wilkins CK, Nielsen EM, Wolkoff P. Patterns in volatiles organic compounds in dust from mouldy buildings. *Indoor Air* 1997;7:128-134.

Wolkoff P, Clausen PA, Jensen B, Nielsen GD, Wilkins CK. Are we measuring the relevant indoor pollutants. *Indoor Air* 1997;7:92-106.

Wolkoff P, Clausen PA, Wilkins CK, Hougaard KS, Nielsen GD. Formation of strong airways irritants in a model mixture of (+) α -pinene/ozone. *Atmospheric Environment* 1999;33:693-698.