

Astmaa sairastavien ja kontrollihenkilöiden **altistuminen mikrobeille** **Euroopassa**

→ **Maria Valkonen**

FM

Terveiden ja

hyvinvoinnin laitos,

Terveysturvallisuusosasto,

Ympäristöterveysyksikkö

maria.valkonen@thl.fi

TIIVISTELMÄ

Ympäristön mikrobit vaikuttavat monella tavalla ihmisten terveyteen. Runsaan mikrobialtistumisen on havaittu olevan yhteydessä vähäisempään astmaan ja allergisiin sairauksiin. Tämä on havaittu erityisesti varhaislapsuudessa, jolloin muun muassa maataloilla tapahtuvan runsaan mikrobialtistumisen on havaittu suojaavan allergisilta sairauksilta. Aikuisten altistumista ympäristömikrobeille ja sen yhteyttä allergisiin sairauksiin on tutkittu vähemmän.

Tämä työ on osa ECRHS II (European Community Respiratory Health Survey) tutkimuskokonaisuutta, jossa tutkittiin astman, allergisten sairauksien ja keuhkojen alentuneen toiminnan yleisyyttä Euroopassa. Tämä tutkimus on tapaus-verrokki-tutkimus, jonka aineistosta puolet on astmaatikkoja ja puolet kontrolleja. Mikrobialtistumista tutkittiin kotoa kerättyjen sänkyöpölynäytteiden avulla analysoiden mikrobistoa ja niiden määrää useilla eri menetelmillä; qPCR (kvantitatiivinen polymeerasiketjureaktio), kaasukromatogrammassaspetrometria (GC-MS/MS; muramiinihappo, 3-hydroksirasvahapot, ergosteroli) ja DGGE (denaturoiva gradienttegeelelektroforeesi).

Mikrobialtistumisessa havaittiin eroja eri puolilla Eurooppaa: altistuminen oli suurempaa Euroopan etelä- ja keskiosissa ja pienempää pohjoisessa. Grampositiivisia bakteereja kuvaava muramiinihappo oli tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä vähäisempään astman esiintyvyyteen. Tämä yhteys oli erityisen voimakas Pohjois-Euroopassa, missä kuitenkin muramiinihappopitoisuudet olivat yleisesti pienempiä kuin Etelä-Euroopassa. Myös Clostridium klusteri XI -ryhmällä havaittiin suojavaikutus eli kyseistä bakteeriryhmää esiintyi enemmän kontrollien kuin astmaatikkojen kodeissa.

Urbaanin aikuisväestön ympäristömikrobeille altistumisessa on eroja eri puolilla Eurooppaa. Tässä tutkimuksessa havaittiin erityisesti erilaisten grampositiivisiin bakteereihin kuuluvien bakteeriryhmien suojaavan astmalta. Mikrobialtistumista ja sen yhteyttä astmaan ja allergisiin sairauksiin on tutkittu erityisesti lapsilla, mutta tämän tutkimuksen perusteella myös aikuisiällä tapahtuvalla altistumisella voi olla yhteys näihin sairauksiin.

Avainsanat: Astma, atopia, bakteerit, sienet, mikrobialtistuminen

JOHDANTO

Ympäristön mikrobeille altistumisella on varsin monenlaisia vaikutuksia ihmiselle. Vaikutukset voivat olla terveyden kannalta haitallisia, mutta toisaalta myös hyödyllisiä. Esimerkiksi altistuminen rakennusten kosteusvauriolla on havaittu olevan yhteydessä lisääntyneisiin astmaoireisiin, jopa uuden astman kehittymiseen, ja tämän uskotaan liittyvän erityisesti kosteusvauriomikrobeille altistumiseen (Mendell ym. 2011). Toisaalta määrällisesti runsaan sekä monimuotoisen mikrobialtistumisen on havaittu suojaavan astmalta ja allergisilta sairauksilta. Useat tutkimukset ovat havainneet, että lapsilla, jotka elävät maataloilla tai ovat päivittäin tekemisissä lemmikkieläinten kanssa, on muita lapsia pienempi riski sairastua astmaan ja allergisiin sairauksiin (Mutius & Vercelli 2010, Ege ym. 2011).

Astma on lisääntynyt runsaasti viimeisinä vuosikymmeninä erityisesti länsimaissa. Samaan aikaan tapahtunut urbanisoituminen ja teollistuminen ovat muokanneet ympäristömme mikrobistoa dramaattisesti. Nykyään Suomessa astmaa sairastaa noin 10 prosenttia väestöstä ja maailmanlaajuisesti astmasta kärsii jopa 300 miljoonaa ihmistä (Masoli ym 2004, Asher & Pearce 2014). Astma on monimuotoinen sairaus, eikä kaikkia astmaan tai sen puhkeamiseen liittyviä tekijöitä vielä tunneta täysin. Ympäristön ärsykkeillä on vaikutus astmaan, lisääntyvän astman uskotaan liittyvän mm. vähentyneeseen mikrobialtistumiseen (Dannemiller ym 2014, Wood ym 2014, Stein ym 2016).

Hygieniahypoteesin mukaan vähentynyt altistuminen ympäristön altisteille vähentää immuunipuolustuksen harjaantumista taudinaiheuttajia vastaan ja täten altistaa sairauksien synnylle. Hypoteesi on esitetty jo 1970-luvulla (Gerrard ym. 1976), jolloin tehdyssä tutkimuksessa vertailtiin IgE-tasoja kahdessa ryhmässä; alkeellisimmissä oloissa elävien Metis-intiaanien ja puhtaammissa oloissa elävän valkoisen väestön välillä. Tällöin tulos oli, että atooppiset sairaudet ovat hinta, jonka puhtaammin elävä ryhmä maksaa siitä, etteivät he kohtaa runsasta määrää mikrobeja. Sitten hygieniahypoteesia on testattu useissa tutkimuksissa ja sen viestiä on myös hieman muokattu. Maatilympäristössä kasvaneilla lapsilla on havaittu astman ja allergisten sairauksien olevan muuta väestöä vähäisempää. Samalla maatilympäristöissä on mitattu korkeampia mikrobipitoisuuksia. Aluksi gramnegatiivisten bakteerien endotoksiinin uskottiin suojaavan astmalta ja atooppisilta sairauksilta (Braun-Fahrländer ym. 2002), joskin nykyään

runsaan altistumisen tiedetään olevan myös työturvallisuusriski. Myöhemmin myös muiden ympäristömikrobien ja erityisesti runsas altistuminen maatalojen mikrobeille on havaittu olevan suojaavassa yhteydessä näihin sairauksiin (Ege ym 2011, Valkonen ym 2015). Lisäksi myös mikrobiston monimuotoisuudella eli diversiteetillä on havaittu olevan merkitystä, eli diversiteetiltään rikkaampi mikrobisto vaikuttaa terveyteemme positiivisesti (Ege ym. 2011). Suurimassa osassa julkaistuja tutkimuksia on tarkasteltu erityisesti lasten mikrobialtistumisen yhteyttä astmaan ja allergisiin sairauksiin, sillä immuunijärjestelmä kehittyy erityisesti varhaislapsuudessa (Riedler ym 2001, Braun-Fahrländer ym 2002). Aikuisten ympäristömikrobeille altistumista ja yhteyttä näihin sairauksiin on tutkittu vähemmän.

ECRHS (European Community Respiratory Health Survey) on laaja eurooppalainen tutkimuskokonaisuus, jossa on selvitetty aikuisten altistumista ympäristömikrobeille ja sen yhteyttä astmaan ja atopiaan. Tutkimus on Euroopan komission rahoittama. Tässä julkaisussa esitetyn tutkimuksen aineisto koostuu noin 400 aikuisesta, joiden altistumista oli mitattu kotoa kerättyjen pölynäytteiden avulla. Tutkimus on poikkileikkaustutkimus, jossa on tapaus-verrokki-asetelma. Puolet henkilöistä oli astmaatikkoja ja puolet kontroleja. Tutkittavilta henkilöiltä oli kerätty lisäksi runsaasti tietoa kyselyiden avulla sekä altistumisesta että terveydestä ja mm. mitattu veren seerumista IgE-vasta-ainepitoisuuksia erilaisille ympäristöaltisteille.

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää aikuisten altistumista ympäristömikrobeille eri puolilla Eurooppaa sekä altistumisen mahdollista yhteyttä astmaan, atopiaan ja keuhkojen toimintaan. Tulokset on julkaistu kahdessa tieteellisessä vertaisarvioidussa lehdessä (Pekkanen ym. 2018, Valkonen ym. 2018), joissa on kuvattu laajemmin ja yksityiskohtaisemmin aineisto, sen käsittely sekä tulokset.

AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksissa käytettiin aineistona ECRHS II (European Community Respiratory Health Survey) tutkimuksessa kerättyä dataa. ECRHS on eurooppalainen monikeskustutkimus, jonka tavoitteita on ollut selvittää muun muassa astman, allergisten sairauksien ja matalien keuhkofunktioiden yleisyyttä sekä näihin liittyviä ympäristötekijöitä eri puolilla Eurooppaa. Koko tutkimuskokonaisuuden verkkosivut löytyvät osoitteesta <http://www.ecrhs.org/>. Tässä julkaisussa kuvattu työ on tapaus-verrokki-asetelmassa tehty

tutkimus, missä noin 200 astmaatikon ja 200 kontrollihenkilön mikrobialtistumista on tutkittu kotona kerättyjen sänky-pölynäytteiden avulla. Tutkittavat henkilöt olivat 29–55-vuotiaita aikuisia 14 tutkimuskeskuksesta, jotka sijaitsivat seitsemässä maassa eri puolilla Eurooppaa (**Kuva 1**). Tutkittaville henkilöille oli tehty kyselytutkimuksia, joissa selvitettiin mm. heidän terveydentilaansa, altistumistaan mm. eri ympäristömikrobeille sekä elintapojaan. Lisäksi henkilöiltä oli mitattu heidän keuhkojensa toimintaa. Atopia määritettiin veren seerumista tehtyjen IgE-vasta-aineiden perusteella. Kokonais-IgE-pitoisuuden lisäksi määritettiin spesifiset IgE:t pölypunkille, timoteille, kissalle ja *Cladosporium*-homeelle.

Kodeista kerätyistä pölynäytteistä analysoitiin mikrobistoa laajasti erilaisilla menetelmillä. qPCR-menetelmällä (kvantitatiivinen polymeerasiketjureaktio) mitattiin sisäympäristössä yleisesti tavattavia tai aiemmissa tutkimuksissa astmaan yhteydessä

olleita mikrobeja, joita olivat *Alternaria alternata*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Trichoderma viride/atroviride/konigii*, *Mycobacterium* spp., *Streptomyces* spp., ja *Penicillium/Aspergillus/Paecilomyces variotii*-ryhmä. Kaasukromatografi-massaspektrometri (GC-MS/MS) tekniikan avulla analysoitiin mikrobien kemiallisia markkereita; grampositiivisten bakteerien kokonaispitoisuutta (muramiinihappo), gramnegatiivisten bakteerien kokonaispitoisuutta (3-hydrokisirasvahapot) sekä sienipitoisuutta (ergosteroli). Lisäksi astmaan ja atopiaan yhteydessä olevia mikrobiryhmiä etsittiin DGGE-menetelmän (denaturoiva gradienttegelelektroforeesi) avulla. Edellä mainittuihin terveysmuuttujiin yhteydessä olleille mikrobeille kehitettiin vielä qPCR-sovellukset, jolloin altistumista näille mikrobiryhmille voitiin mitata kvantitatiivisesti.



Kuva 1. Tutkittavia henkilöitä ja heihin liittyvää aineistoa kerättiin 14:sta ECRHS II tutkimuksen keskuksesta.

TULOKSET

Astmaatikoilla havaittiin kontroleja enemmän mm. atopiaa ja keuhkojen hyperaktiivisuutta, mutta esimerkiksi tupakointi oli molemmissa ryhmissä lähes yhtä yleistä.

Mikrobipitoisuuksissa havaittiin jonkin verran maantieteellistä vaihtelua. Erityisesti grampositiivisten bakteerien määrää kuvaavan muramiinihapon pitoisuudet olivat pienempiä Pohjois-Euroopassa kuin Keski-Euroopassa tai Etelä-Euroopassa. Samalla havaittiin myös tilastollisesti merkitsevä yhteys muramiinihapon ja vähäisemmän astman välillä erityisesti Pohjois-Euroopassa, eli siellä missä mikrobien pitoisuudet olivat pienempiä. Muramiinihapolla havaittiin myös viitteellinen yhteys vähäisempään atopiaan. Joillain sieniryhmillä taas, esimerkiksi *Trichoderma viride* homeella, havaittiin tilastollisesti merkitsevä yhteys lisääntyneeseen atopiaan.

DGGE-menetelmän avulla kartoitettiin, löydetäänkö uusia mikrobeja, jotka ovat yhteydessä astmaan tai atopiaan. DGGE-geelin vyöhykkeet analysoitiin terveystuottajia vastaan ja ne vyöhykkeet, joilla havaittiin yhteys astmaan tai atopiaan tunnistettiin sekvensoimalla. Tämän perusteella kehitettiin qPCR-sovellukset neljälle uudelle bakteeriryhmälle: *Corynebacterineae/Pseudonocardianeae* -ryhmä, *Corynebacterium amycolatum* -klusteri, *Clostridium* klusteri XI sekä *Staphylococcus* suvun bakteerit.

Kun näiden ryhmien kvantitatiivisten analyysien tuloksia analysoitiin, havaittiin, että erityisesti *Clostridium* klusteri XI oli yhteydessä vähäisempään astmaan koko aineistossa. Klostridien yhteys astmaan oli samanlainen kaikkialla Euroopassa, eli maantieteellistä vaihtelua ei havaittu samalla tavalla kuin monilla muilla tutkituilla mikrobeilla. Lisäksi *Corynebacterineae/Pseudonocardianeae* -ryhmällä havaittiin yhteys vähäisempään atopiaan.

POHDINTA

Sisäympäristössä tapahtuva mikrobialtistuminen oli erilaista eri puolilla Eurooppaa, eli myös maantieteellinen sijainti vaikuttaa, mille mikrobeille ja miten paljon altistumme. Tämä havainto on tehty aiemmin myös muissa tutkimuksissa (Tischer ym. 2015). Tämän tutkimuksen mukaan runsaampi altistuminen erityisesti grampositiivisille bakteereille on yhteydessä vähäisempään astmaan ja atopiaan. Erityisen voimakas suojaava vaikutus havaittiin Pohjois-Euroopassa, missä bakteeritasot olivat kuitenkin alempia suhteessa muuhun Eurooppaan. Matalamat bakteeritasot voivat selittyä mm. vuodenajoilla,

siellä pohjoisessa lumipeite talvella vähentää maaperän mikrobien kulkeutumista ulkoa sisätiloihin. Lisäksi sisäympäristön mikrobipitoisuuksiin vaikuttavat useat muut tekijät, kuten ilmanvaihto, lasten ja lemmikkien määrä.

Muramiinihappo kuvaa yleisellä tasolla grampositiivisten bakteereiden määrää, jolloin saadaan kuvaa kokonaisaltistumisesta. Grampositiivisten bakteerien lähde sisäympäristössä on usein ihminen itse. Ihmisen iholta on löydetty runsaasti eri grampositiivisiin bakteereihin kuuluvia bakteereita, kuten *Actinobacteria* tai *Firmicutes* pääjaksojen bakteereja. Aiemmissä tutkimuksissa grampositiivisten bakteerien määrää kuvaavan muramiinihapon pitoisuuksien on havaittu olevan mautilojen lapsilla korkeampia verrattuna muihin lapsiin (van Strien ym. 2004). Tässä tutkimuksessa grampositiivisia bakteereja kuvaavan muramiinihapon pitoisuudet olivat matalampia pohjoisessa kuin etelässä. Samanlaista havaintoa ei tehty esimerkiksi klostrideilla. Molemmilla näillä bakteeriryhmillä havaittiin kuitenkin yhteys vähäisempään astmaan.

Tutkimukseen osallistuneen keskuksen olivat eri puolilla Eurooppaa. Tutkimus kattaa siis erilaisia maantieteellisiä alueita ja ilmasto-olosuhteita. Kaikki tutkimuskohteet olivat pääasiassa urbaanista ympäristöstä, joten tulokset kuvaavat pääasiassa eurooppalaisissa kaupunkiympäristöissä tapahtuvaa mikrobialtistumista. Täten tuloksia ei voida suoraan verrata esim. mautiloilla tai maaseudulla tapahtuvaan altistumiseen.

JOHTOPÄÄTÖKSET

Löydöksemme osoittavat, että erilaisille ympäristömicrobeille, tämän tutkimuksen perusteella erityisesti bakteereille, altistumisella voi olla yhteys astmaan ja allergisiin sairauksiin myös aikuisiässä. Tämä tutkimus on laaja poikkileikkaustutkimus, jossa on analysoitu näytteitä eri puolilta Eurooppaa. Havaitsimme, että eri maantieteellisillä alueilla on havaittavissa eroja mikrobialtistumisessa. Vaikutukset olivat voimakkaampia alueilla, missä altistumisen tasot olivat yleisesti matalampia. Tutkimus on poikkileikkaustutkimus, joten mikrobien ja sairauksien syyseuraus-suhdetta ja sen suuntaa on haastavaa arvioida. Jatkossa tarvitsemme edelleen lisää tietoa sekä lasten että aikuisten ympäristömicrobeille altistumisesta. Mikrobialtistumisen ja allergisten sairauksien yhteyden selvittäminen on askel kohti näiden syy-yhteyksien ymmärtämistä ja sairauksien ehkäisyä. Tulevaisuudessa tämä voi johtaa jopa elinympäristön muokkaamiseen terveyttä edistävään suuntaan.

SUMMARY

Microbial exposure in asthmatic and non-asthmatic adults across Europe

→ **Maria Valkonen**

MSc

National Institute for Health and Welfare,
Department of Health Security
maria.valkonen@thl.fi

Exposure to environmental microbes may impact on human health in different ways, harmfully or beneficially. Recent studies have observed a relationship between indoor dampness and mold and asthma exacerbation. However, in some studies exposure to environmental microbes has been shown to protect people from developing asthma and atopy. The characteristics of environmental microbiota that determine if exposure results in adverse or protective health effects are still largely unknown.

In this study we were investigating indoor microbial exposure in homes of asthmatic and non-asthmatic adults in different European countries. We saw that effects of exposure to microbes on asthma and atopy may be different in different geographic regions. Beneficial effects of higher bacterial levels in house dust samples were observed. This was not seen with fungal levels. Specifically muramic acid, cell wall component of Gram-positive bacteria, levels were associated with lower risk of asthma. Also level of Clostridium cluster XI was independently associated with a lower risk of prevalent asthma.

Results suggest the importance of environmental bacteria also in adult asthma, but need to be confirmed in future studies

Keywords: Asthma, atopy, bacteria, fungi, microbial exposure

Sidonnaisuudet: Ei sidonnaisuuksia

Kiitokset: Haluan kiittää kaikkia ECRHS tutkimuskokonaisuuden partnereita ja tutkimukseen osallistuneita henkilöitä. Kiitän THL:n ympäristöterveysyksikön laboratorion henkilökuntaa mikrobiologisten analyysien teosta.

KIRJALLISUUS

Asher I & Pearce N. Global burden of asthma among children: *Int J Tuberc Lung Dis* 18: 1269-1278, 2014

Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U ym.: Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. *N Engl J Med* 347: 869-877, 2002

Dannemiller K., Mendell M, Macher J ym.: Next-generation DNA sequencing reveals that low fungal diversity in house dust is associated with childhood asthma development. *Indoor air* 24, 236-247, 2014

Ege MJ, Mayer M, Normand AC ym.: Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 364: 701-709, 2011

Gerrard JW, Geddes CA, Reggin PL, Gerrard CD, Horne S: Serum IgE levels in white and metis communities in Saskatchewan. *Ann Allergy* 37: 91-100, 1976

Lynch SV, Wood RA, Boushey H ym.: Effects of early-life exposure to allergens and bacteria on recurrent wheeze and atopy in urban children. *J Allergy Clin Immunol* 134: 593-601, 2014

Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R: The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report. *Allergy* 59: 469-478, 2004

Mendell MJ, Mirer AG, Cheung K, Tong M, Douwes J: Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: a review of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 119: 748-756, 2011

von Mutius E, Vercelli D: Farm living: effects on childhood asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 10: 861-868, 2010

Pekkanen J, Valkonen M, Täubel M ym.: Indoor bacteria and asthma in adults: a multicentre case-control study within ECRHS II. *Eur Respir J* 51: 1701241, 2018

Riedler J, Braun-Fahrländer C, Eder W ym.: Exposure to farming in early life and development of asthma and allergy: a cross-sectional survey. *Lancet* 358: 9288, 2001

Stein MM, Hrusch CL, Gozdz J ym.: Innate Immunity and Asthma Risk in Amish and Hutterite Farm Children. *N Engl J Med* 375: 411-421, 2016

van Strien RT, Engel R, Holst O ym.: Microbial exposure of rural school children, as assessed by levels of N-acetyl-muramic acid in mattress dust, and its association with respiratory health. *J Allergy Clin Immunol* 113: 860-867, 2004

Tischer C, Zock JP, Valkonen M ym.: Predictors of microbial agents in dust and respiratory health in the ECRHS. *BMC Pulm Med* 15: 48, 2015

Valkonen M, Täubel M, Pekkanen J ym.: Microbial characteristics in homes of asthmatic and non-asthmatic adults in the ECRHS cohort. *Indoor Air* 28: 16-27, 2018

