

3. RISCHIO MICROBIOLOGICO

3.1 Introduzione

La polvere di legno oltre ad essere riconosciuta come agente chimico responsabile di gravi patologie, quali ad esempio l'adenocarcinoma delle cavità nasali (Abdel Hameed *et al.*, 2000, National Toxicology Program, 2002), dal punto di vista allergologico, è una delle principali cause di asma professionale (Talini *et al.*, 1998; Milanowski *et al.*, 2002; Schlunssen *et al.*, 2002; Ameille *et al.*, 2003; Karjalainen *et al.*, 2003; Ricciardi *et al.*, 2003; Schlunssen *et al.*, 2004a; Quirce *et al.*, 2004).

Oltre all'asma, il contatto con polveri di legno può causare dermatiti (Saary *et al.*, 2001; Athavale *et al.*, 2003; Guaniche & Prawer, 2003), irritazioni agli occhi e alle vie nasali (Douwes *et al.*, 2003; Schlunssen *et al.*, 2004b). Una elevata presenza di dermatiti allergiche è stata evidenziata, dall'Istituto di Igiene del Lavoro finlandese in uno studio condotto dal 1976 al 1999 (Estlander *et al.*, 2001), tra falegnami esposti a polvere di legni esotici duri, cedro rosso, pino finlandese, abete rosso e pioppo. Tali dermatiti spesso si presentavano unitamente ad altri sintomi allergici, quali rinite, asma e congiuntivite. Un aumento della frequenza delle riniti nei lavoratori del settore legno è stato osservato anche in un altro studio effettuato dal Dipartimento di Igiene del Lavoro svedese (Ahman & Holmstrom, 2000).

Queste patologie potrebbero essere collegate all'esposizione ad agenti chimici (Correale & Marks, 2002) o ad agenti biologici allergizzanti (Rippon, 1988; Mandryk *et al.*, 2000).

Nelle falegnamerie, l'azione allergizzante di origine biologica può essere sostenuta da numerosi generi di funghi microscopici, in particolare *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*, funghi attivi produttori di spore e tossine allergizzanti o cancerogene. Alcune specie di *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. sydowii*, *A. ochraceus*) e di altri miceti (ad es. *Stachbotrys atra*, *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*) possono produrre composti tossici conosciuti come micotossine (Haury, 1998). Tali tossine, anche in modeste concentrazioni, possono causare lesioni gastrointestinali, depressione dell'emopoiesi e delle funzioni riproduttive o possono svolgere un'azione tossica sul sistema nervoso centrale causando anoressia, astenia e nausea (Maroni, 1998). L'aflatossina prodotta dall'*Aspergillus flavus* può infine causare tumori epatici.

I funghi microscopici proliferano soprattutto in presenza di un microclima caldo-umido, utilizzando principalmente substrati nutritivi organici (legno, cellulosa, strutture vegetali etc). Nelle falegnamerie, gli agenti biologici (batteri, spore fungine, lieviti) possono diffondersi nell'ambiente di lavoro me-

scolati alla polvere di legno tramite bioaerosol, (Abdel Hameed *et al.*, 2000, Wilkins *et al.*, 2003) e dopo essere stati inalati possono esercitare un'azione tossica, irritante e/o allergizzante su cute e mucose degli operatori.

In Umbria, tra il 1995 e il 2000, il 19% delle denunce di malattie professionali con sintomatologia allergica (asma, riniti, dermatiti), sono state presentate all'INAIL da lavoratori operanti nel Settore delle falegnamerie o della produzione di parquet (Guerrera *et al.*, 2004). La rilevanza delle patologie allergiche in questo settore operativo e la potenziale pericolosità di molti agenti biologici, hanno indotto questa Consulenza ad effettuare una approfondita campagna di campionamenti, con lo scopo di acquisire dati relativi alla contaminazione microbica, ed in particolare fungina, delle falegnamerie umbre.

In mancanza di una metodologia standardizzata, di linee guida per il controllo di tali ambienti lavorativi e di valori soglia di contaminazione microbica dell'aria, si è voluto inoltre valutare due metodologie di monitoraggio microbico ambientale (metodologia attiva e passiva), effettuando campionamenti in doppio in ogni sito. Questa carenza metodologica ha comportato fino ad oggi l'uso di procedure di campionamento microbiologico molto diverse tra loro. Alcuni ricercatori utilizzano metodi attivi, basati sul convogliamento, su piastre di terreno nutritivo, dei microrganismi presenti nell'aria, tramite flusso di aria forzato (Reponen *et al.*, 1999; Montacutelli *et al.*, 2000; Brunetti *et al.*, 2002; Wust *et al.*, 2003), altri invece preferiscono adottare tecniche basate sulla sedimentazione passiva dei microrganismi. Sempre in questo ottica, si è voluto inoltre sperimentare l'applicazione di indici microbiologici, proposti per la valutazione di ambienti indoor (Dacarro *et al.*, 2000), ai valori di carica batterica e fungina, ottenuti con la metodologia attiva.

3.2 Materiali e metodi

Sono stati eseguiti monitoraggi della carica microbica in 7 opifici distribuiti nella Provincia di Perugia. Nelle 7 falegnamerie (identificate con le sigle F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7) sono state eseguite campionamenti nel: A) reparto macchine, B) reparto carteggiatura, C) reparto assemblaggio e D) nell'ambiente esterno (Figura 3.1, a, b, c, d). In una falegnameria, (scelta in base all'elevate cariche microbiche riscontrate), il campionamento è stato ripetuto in due diverse stagioni (primavera e inverno). I campionamenti effettuati nella falegnameria F3 sono stati denominati F3 (campionamento primaverile) e F3.1 (campionamento invernale).



Figura 3.1: Siti di campionamento: a) reparto macchine, b) reparto carteggiatura, c) reparto assemblaggio e d) ambiente esterno

L'umidità e la temperatura in ciascun sito sono state rilevate mediante centralina microclimatica Quest.

3.2.1 Monitoraggio microbiologico attivo.

I prelievi di aria sono stati realizzati con campionatore attivo ad impatto ortogonale SAS 180 (PBI International) (Figura 3.2a) posizionando lo strumento su di uno stativo ad 1,5 m di altezza. Sono state determinate la carica batterica per i batteri mesofili, la carica batterica per i batteri psicrofili e la carica fungina. I batteri psicrofili hanno come temperatura ottimale di sviluppo, 20°C e sono costituiti da specie che possono moltiplicarsi nell'ambiente utilizzando sostanze organiche in decomposizione. I batteri mesofili invece si sviluppano a 37°C e appartengono soprattutto alla flora batterica umana. Le due popolazioni individuate in funzione della temperatura di incubazione, possono essere comunque parzialmente sovrapponibili (Dacarro *et*

al., 2000). I campionamenti batterici sono stati eseguiti usando terreno Trypticase Soya Agar (Biomerieux). Per la determinazione dei batteri psicrofili, le piastre (90 mm d.i.) sono state incubate a 20°C per 5 giorni. Per la determinazione dei batteri mesofili, le piastre (60 mm d.i.) sono state incubate a 37° per 48 ore. I campionamenti fungini sono stati eseguiti con terreno Sabouraud Agar con Gentamicina e Cloram-fenicolo (Biomerieux); le piastre (90 mm d.i.) sono state incubate a 25 °C per 5 giorni. I valori di carica microbica sono stati espressi come unità formanti colonie/m³ (UFC/m³). Le specie fungine sono state identificate secondo metodica tradizionale (Malloch, 1981). I dati sono stati analizzati statisticamente mediante t di Student (Swinscow, 1997).



*Figura 3.2: a) campionatore ad impatto ortogonale SAS;
b) piastre per il campionamento passivo IMA.*

3.2.1.1 Indici di contaminazione microbiologica.

I valori di carica mesofila, psicrofila e fungina ottenuti con campionamenti attivi nei reparti prima e dopo l'inizio delle lavorazioni del legno, sono stati confrontati anche mediante il calcolo degli indici microbiologici proposti da Dacarro e i suoi collaboratori (Dacarro et al., 2000) per gli ambienti indoor. Tali indici:

- *Indice Globale di Contaminazione Microbica/m³* (IGCM/m³= UFC/m³ mesofili + UFC/m³ psicrofili + UFC/m³ funghi);
- *Indice di Contaminazione dei Batteri Mesofili/m³* (ICM= UFC/m³ mesofili: UFC/m³ psicrofili);
- *Indice di Amplificazione Microbica/m³* (IA/m³= IGCM/m³ interno edificio: IGCM/m³ esterno edificio);

sono stati proposti per la valutazione della contaminazione dell'aria per ambienti di lavoro destinati ad attività di ufficio, è pertanto problematico utilizzarli per la valutazione di ambienti produttivi, come le falegnamerie. In particolare, i valori di UFC/m³ che individuano le classi di contaminazione degli ambienti indoor (Tabella 3.1) potrebbero non essere estrapolabili ad altri ambienti di lavoro. Al di là di queste considerazioni, nel nostro studio si è voluto applicare tali indici per confrontarli con la valutazione della qualità dell'aria ottenibile con i metodi attivo e passivo.

Tabella 3.1 - Proposta di categorie e classi di contaminazione microbiologica dell'aria per ambienti di lavoro confinati destinati all'attività di ufficio.

Categoria	IGCM/m ³	Classe
Molto bassa	< 500	
Bassa	<1000	
Intermedia	>1000	A: ICM<3, IA<3 B: ICM>3 o IA>3 C: ICM>3, IA>3
Alta	>5000	A: ICM<3, IA<3 B: ICM>3 o IA>3 C: ICM>3, IA>3
Molto alta	>10.000	A: ICM<3, IA<3 B: ICM>3 o IA>3 C: ICM>3, IA>3

3.2.2 Monitoraggio microbiologico passivo (metodo IMA).

I prelievi dell'aria sono stati eseguiti in collaborazione con il Dipartimento di Microbiologia dell'Università di Perugia, utilizzando una procedura per sedimentazione denominata metodo IMA (Pasquarella *et al*, 2000). In ogni sito di campionamento piastre Petri di 90 mm di diametro contenenti 20 ml di terreno Nutrient Agar (per la conta microbica totale) o di Rosa Bengala (per la conta fungina selettiva) sono state lasciate aperte per 1 ora, ad 1 metro da terra e a 1 metro da ogni ostacolo (Fig. 2B).

Dopo 3 e 5 giorni di incubazione a 30°C, sono state contate le colonie microbiche sviluppatesi. I valori di unità formanti colonie (UFC) risultanti

sono stati interpretati facendo riferimento alle 4 classi di rischio definiti dallo standard dell'indice microbiologico dell'aria, IMA (Tabella 3.2).

Secondo tale standard l'operatore deve individuare, in base al presunto rischio di infezione dell'ambiente da monitorare, il limite massimo da adottare come riferimento per valutare la contaminazione microbica dell'aria.

Le falegnamerie sono state considerate ad medio rischio di contaminazione e, di conseguenza, il limite IMA non superabile è stato individuato in 50 UFC.

Tabella 3.2 - *Classi di rischio e valori dell'indice microbiologico aria (IMA)*

Valore IMA (UFC)	Giudizio qualità dell'aria	Valore limite per ambienti a rischio
0-5	Ottimo	Altissimo
6-25	Buono	Alto
26-50	Mediocre	Medio
>50	Cattivo	Basso

3.3 Risultati

3.3.1. Campionamento attivo.

Nella Tabella 3.3 sono riportati i valori medi delle cariche batteriche e fungine determinate mediante campionamento attivo nelle falegnamerie analizzate.

Tabella 3.3 - Valori medi delle cariche batteriche e fungine determinate mediante campionamento attivo nelle falegnamerie F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7. Il campionamento primaverile nella falegnameria F3 è indicato con la sigla F3, il campionamento invernale con la sigla F3.1.

O P I F I C I	zona macchine senza persone			zona macchine con persone			carteggiatura senza persone			carteggiatura con persone		
	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica
	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³
F1	300 ± 91	523 ± 130	33 ± 13	174 ± 70	397 ± 120	20 ± 7	43 ± 11	140 ± 65	16 ± 6	151 ± 40	347 ± 51	27 ± 6
F2	1 ± 1	9 ± 3	1 ± 1	37 ± 23	53 ± 26	9 ± 3	5 ± 2	7 ± 3	0	3 ± 2	85 ± 46	21 ± 10
F3	188 ± 55	80 ± 55	71 ± 25	375 ± 36	423 ± 101	113 ± 16	160 ± 31	73 ± 5	17 ± 5	1040 ± 201	120 ± 51	119 ± 37
F3.1	60 ± 22	63 ± 13	49 ± 2	313 ± 73	277 ± 70	113 ± 40	48 ± 12	90 ± 4	64 ± 26	95 ± 15	220 ± 74	16 ± 4
F4	27 ± 13	169 ± 37	15 ± 2	44 ± 10	129 ± 55	172 ± 28	30 ± 10	191 ± 38	63 ± 12	11 ± 3	84 ± 30	31 ± 8
F5	126 ± 13	42 ± 14	35 ± 16	127 ± 36	39 ± 15	95 ± 14	49 ± 16	7 ± 1	52 ± 22	376 ± 85	84 ± 23	42 ± 12
F6	267 ± 88	158 ± 60	12 ± 4	498 ± 97	234 ± 11	132 ± 45	269 ± 80	164 ± 34	41 ± 18	231 ± 90	209 ± 63	57 ± 20
F7	26 ± 14	70 ± 26	16 ± 6	65 ± 21	84 ± 7	20 ± 6	16 ± 5	70 ± 2	21 ± 6	65 ± 24	58 ± 17	38 ± 11

O P I F I C I	assemblaggio senza persone			assemblaggio con persone			esterno		
	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica	carica
	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³	psicrofila UFC/m ³	mesofila UFC/m ³	fungina UFC/m ³
F1	16 ± 5	93 ± 35	9 ± 3	125 ± 22	230 ± 92	16 ± 10	51 ± 21	200 ± 21	19 ± 8
F2	10 ± 4	26 ± 11	0	4 ± 0	14 ± 8	4 ± 3	11 ± 4	31 ± 8	7 ± 4
F3	421 ± 42	260 ± 45	37 ± 18	423 ± 106	387 ± 130	381 ± 52	147 ± 31	63 ± 5	89 ± 20
F3.1	60 ± 23	86 ± 12	23 ± 9	251 ± 56	283 ± 28	224 ± 57	10 ± 2	67 ± 15	26 ± 19
F4	20 ± 7	213 ± 6	111 ± 21	42 ± 15	253 ± 93	54 ± 18	49 ± 10	89 ± 33	44 ± 3
F5	109 ± 23	18 ± 5	24 ± 4	274 ± 85	40 ± 17	76 ± 12	84 ± 15	7 ± 2	72 ± 20
F6	118 ± 27	91 ± 26	37 ± 14	347 ± 24	229 ± 69	79 ± 22	198 ± 34	69 ± 20	17 ± 4
F7	18 ± 6	81 ± 22	9 ± 2	32 ± 14	126 ± 21	51 ± 15	12 ± 3	32 ± 10	7 ± 2

3.3.1.1 Carica mesofila

I valori di carica mesofila rilevata nei siti di campionamento sono riportati nella Figura 3.3. L'analisi con il t di Student relativa alle cariche batteriche sviluppatesi a 37 °C, evidenzia come nel 63% dei casi l'inquinamento batterico all'interno dei reparti delle falegnamerie, nel corso delle lavorazioni del legno, sia significativamente superiore a quello esterno ($p \leq 0,05$) (Figura 3.3). In presenza di lavorazioni, nel 56% dei casi, la concentrazione batterica interna è inoltre significativamente maggiore ($p \leq 0,05$) rispetto alla concentrazione rilevabile negli stessi reparti in assenza di lavorazioni (Figure. 3.4 e 3.5). In particolare, nel reparto carteggiatura, durante il normale turno lavorativo, si riscontra nel 75% dei casi, un aumento significativo della carica batterica mesofila.

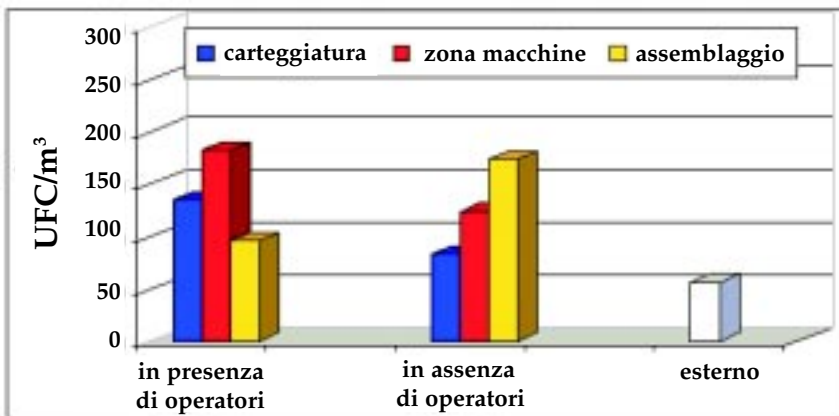


Figura 3.3: Carica batterica mesofila: valori medi registrati nelle 7 falegnamerie.

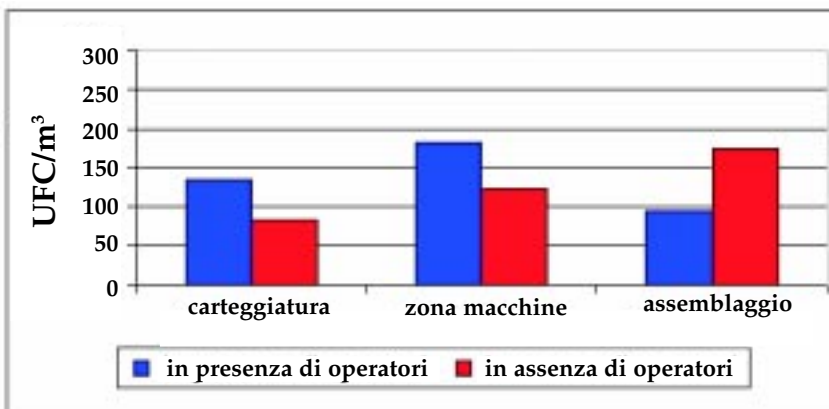


Figura 3.4: Confronto tra i valori medi di carica batterica mesofila riscontrati prima e dopo l'inizio delle lavorazioni del legno.

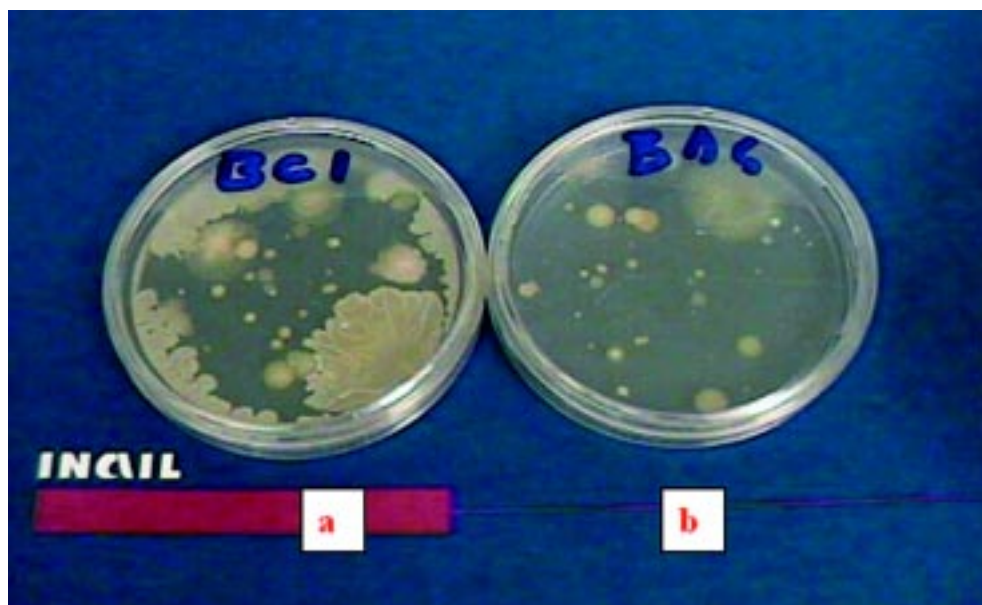


Figura 3.5: Differenze di crescita microbica di batteri mesofili in presenza (a) e in assenza (b) di operatori e lavorazione del legno.

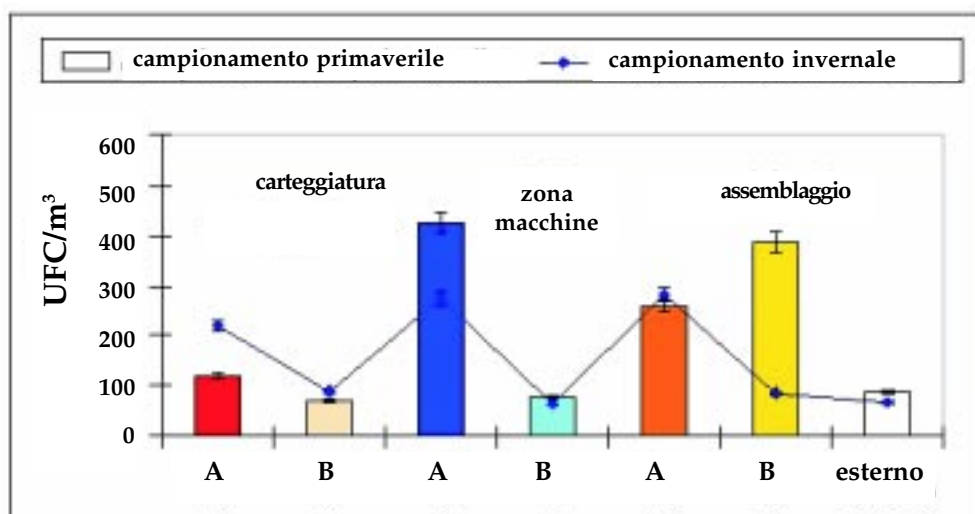


Figura 3.6: Carica batterica mesofila: confronto tra i valori medi ottenuti in due campionamenti nella falegnameria F3, (a) con operatori, (b) senza operatori.

Nella falegnameria F3 i valori di carica mesofila ottenuti nel campionamento invernale sono generalmente più bassi, rispetto a quelli del campionamento primaverile (Figura 3.6), in particolare nella zona macchine e nel reparto assemblaggio. Nel campionamento invernale, in tutti i reparti analizzati, con l'inizio delle lavorazioni del legno, la carica mesofila è raddoppiata o triplicata.

3.3.1.2 Carica psicrofila

I valori di carica batterica psicrofila sono riportate in Figura 3.7.

L'analisi con il t di Student evidenzia come nel 59% dei casi la carica batterica psicrofila esterna sia significativamente inferiore a quella rilevata durante le lavorazioni all'interno degli opifici.

In assenza di lavorazioni, le concentrazioni interne di psicrofili sono significativamente maggiori rispetto alle concentrazioni riscontrate all'esterno solo nel 37% dei casi. Nel 70% dei confronti la carica batterica psicrofila durante le lavorazioni del legno è significativamente maggiore alla carica batterica riscontrata all'interno degli opifici in assenza di lavorazioni (Figure 3.8, 3.9, 3.10).

Questa differenza è particolarmente evidente nella zona macchine, in cui nel 75% dei casi esiste una differenza significativa tra carica batterica in assenza di lavorazioni e carica batterica in presenza di lavorazioni.

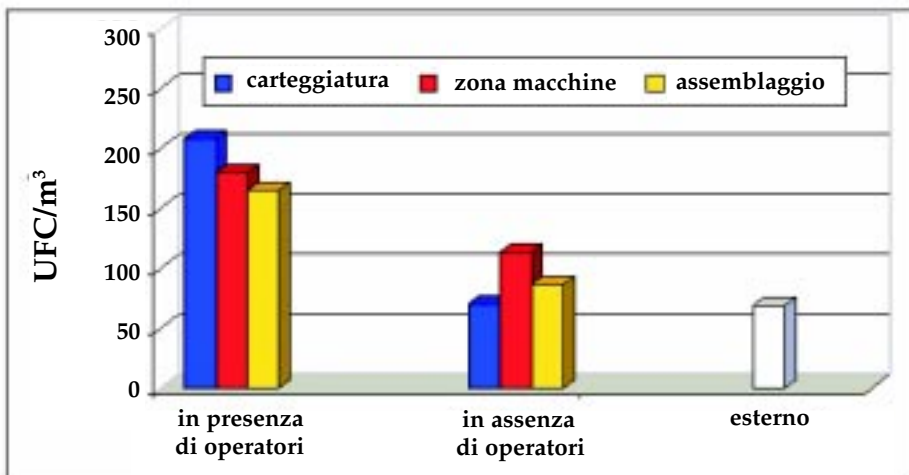


Figura 3.7: Carica batterica psicrofila: valori medi registrati nelle 7 falegnamerie.

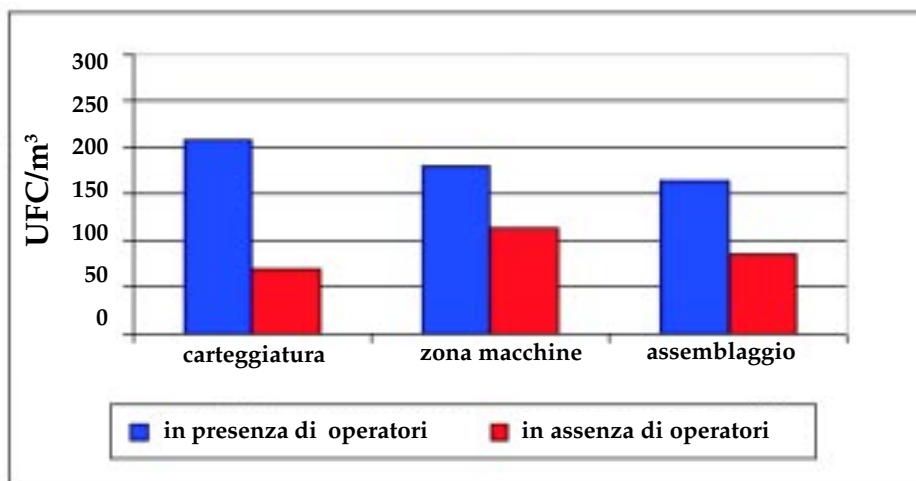


Figura 3.8: Confronto tra i valori medi di carica batterica psicofila riscontrate prima e dopo l'inizio delle lavorazioni del legno.

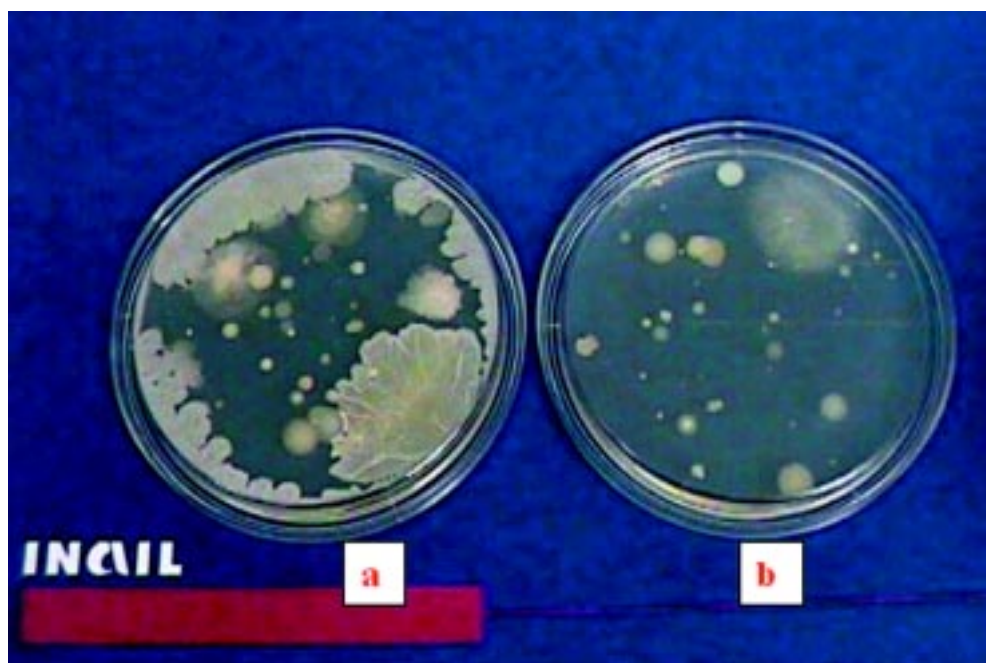


Figura 3.9: Differenze di crescita microbica di batteri psicofili in presenza (a) e in assenza (b) di operatori e lavorazione del legno.

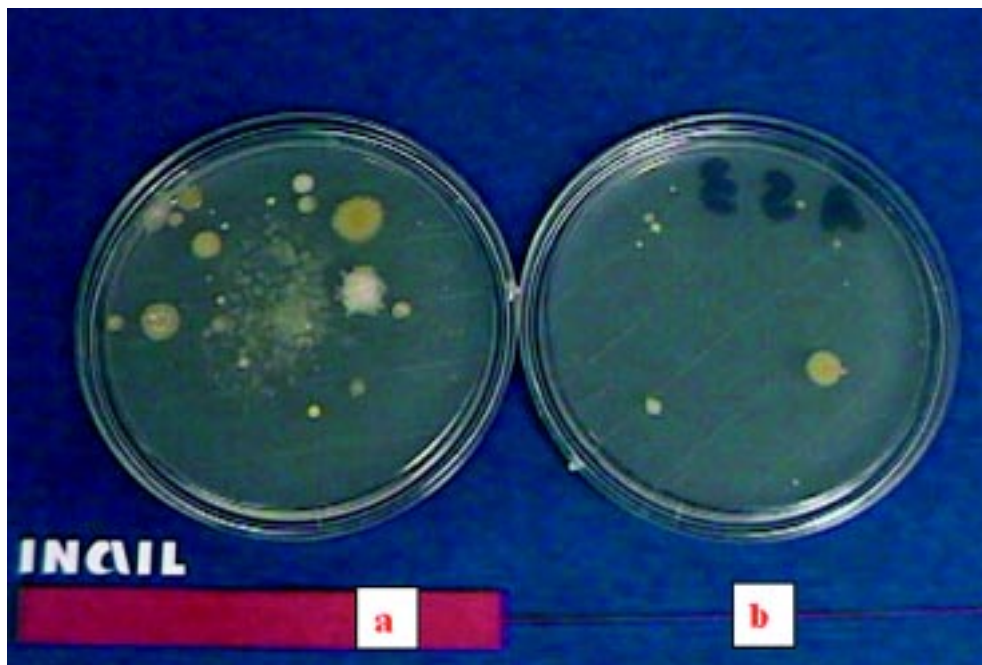


Figura 3.10: Differenze di crescita microbica di batteri psicrofili in presenza (a) e in assenza (b) di operatori e lavorazione del legno.

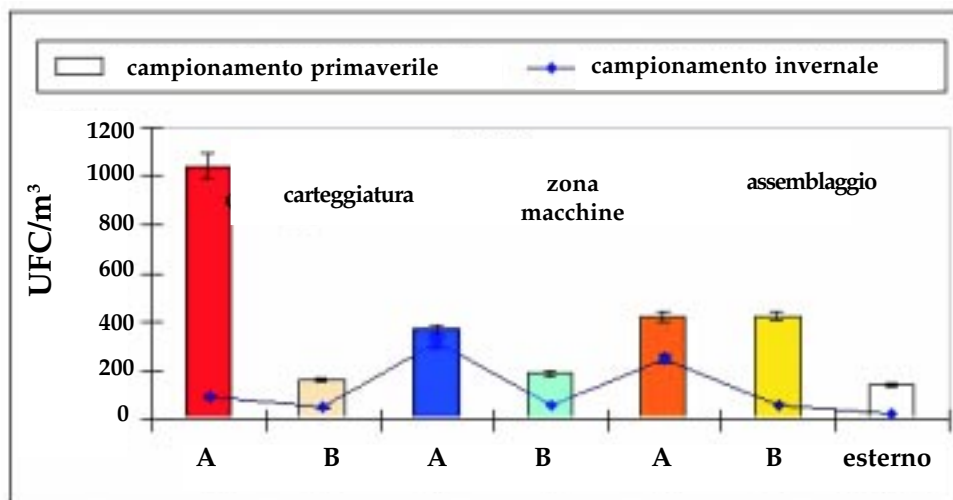


Figura 3.11: Carica batterica psicrofila: confronto tra i valori medi ottenuti nei due campionamenti nella falegnameria F3, (a) con operatori, (b) senza operatori.

Nella falegnameria F3, i valori di carica psicrofila registrati in inverno sono nettamente inferiori a quelli rilevati in primavera, in particolar modo nel reparto carteggiatura, (campionamento primaverile = 1040 UFC/m³, campionamento invernale = 95 UFC/m³) (Figura 3.11).

3.3.1.3 Carica fungina

I valori di cariche fungine sono riportati in Figura 3.12. Il t di Student ($p \leq 0,05$) evidenzia nel 37% dei confronti, una concentrazione fungina esterna significativamente inferiore alla concentrazione all'interno dei reparti durante le lavorazioni. I confronti tra l'esterno e i reparti prima dell'inizio del normale turno lavorativo mostrano differenze significative solo nel 7% dei casi. Nel 41% dei casi la concentrazione fungina interna è significativamente maggiore durante la lavorazione del legno rispetto alla situazione analizzata prima dell'inizio del lavoro ($p \leq 0,05$) (Figure 3.13, 3.14, 3.15).

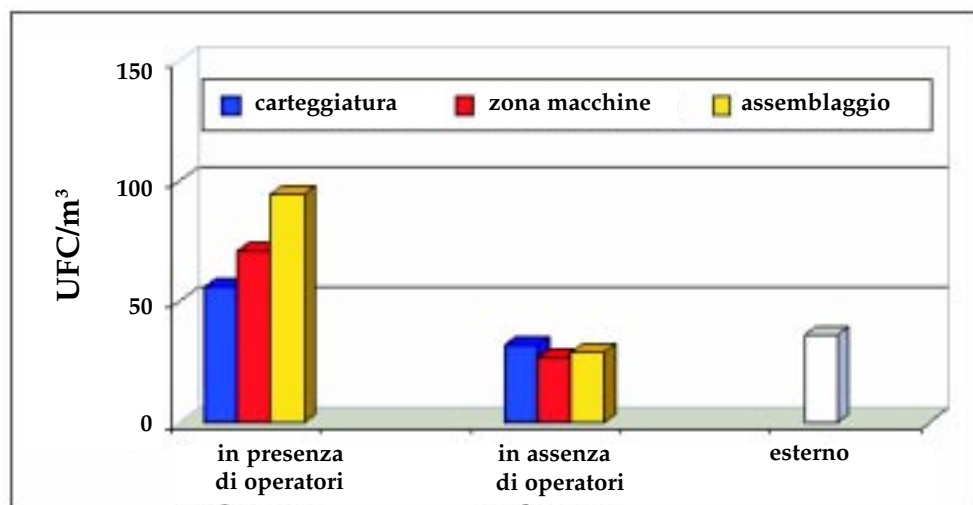


Figura 3.12: Carica fungina: valori medi registrati nelle 7 falegnamerie.

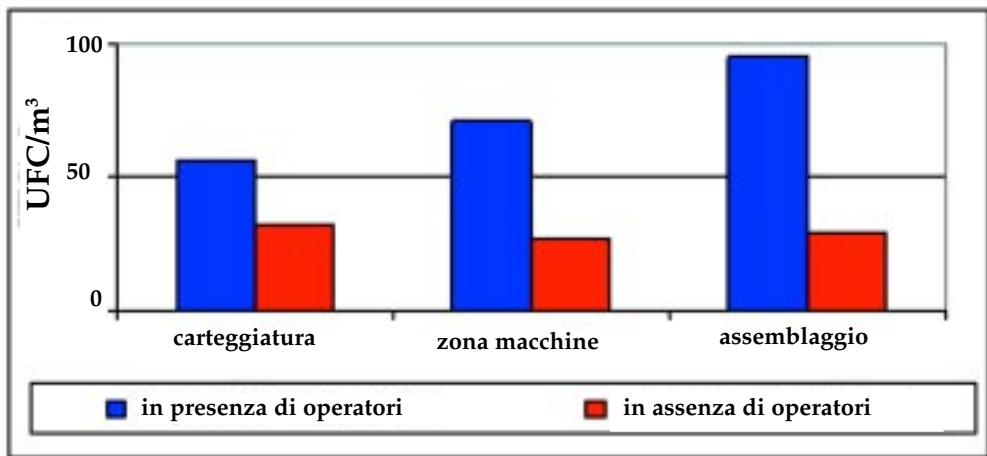


Figura 3.13: Confronto tra i valori medi di carica micetica riscontrate prima e dopo l'inizio delle lavorazioni del legno.



Figura 3.14: Differenze di crescita fungina in presenza (a) e in assenza (b) di operatori e lavorazione del legno.

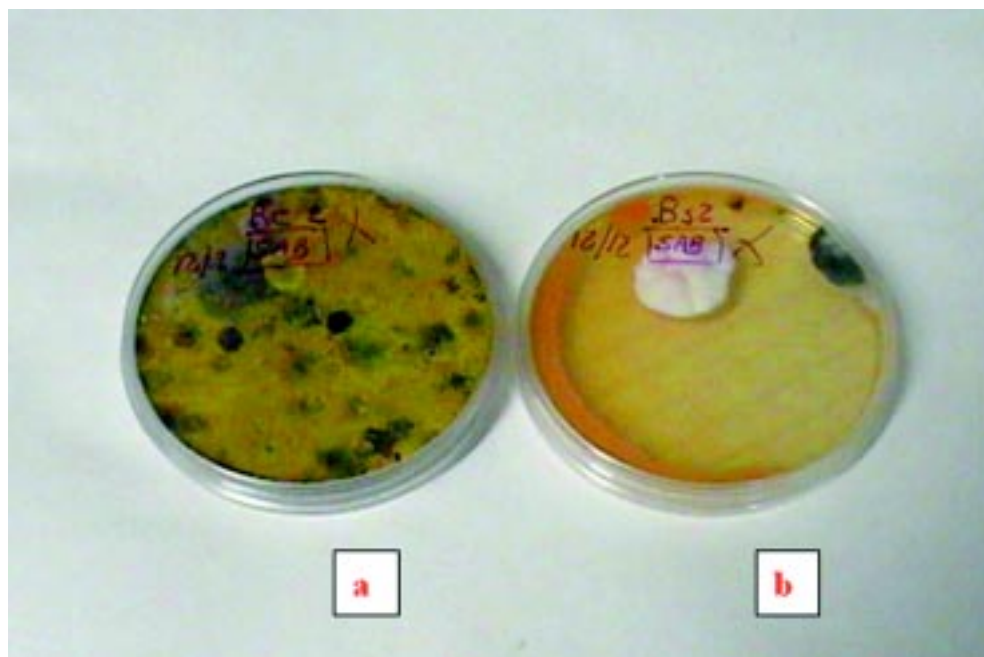


Figura 3.15: Differenze di crescita fungina in presenza (a) e in assenza (b) di operatori e lavorazione del legno.

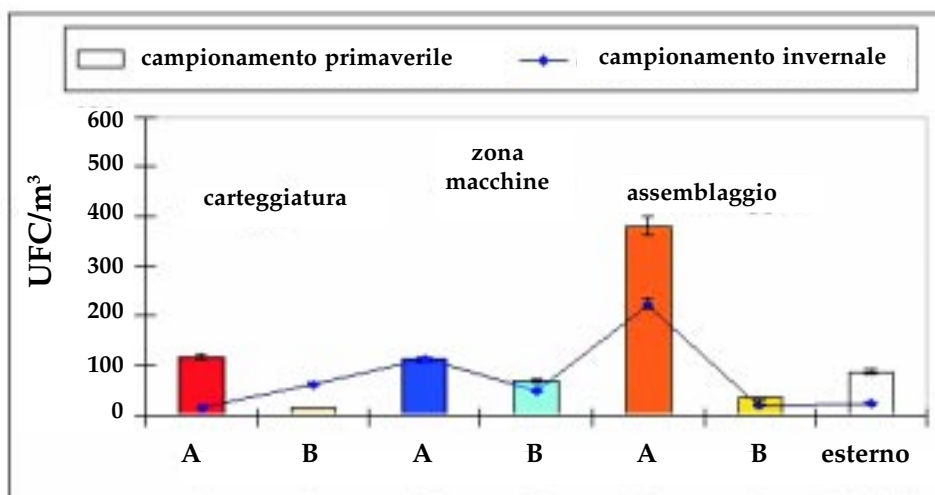


Figura 3.16: Valori medi di cariche fungine relative alla falegnameria F3: confronto tra campionamento primaverile e invernale, (a) con operatori (b) senza operatori.

Nella falegnameria F3, i valori di carica fungina, in presenza di lavorazioni del legno, monitorati in inverno sono più bassi di quelli primaverili solo nei reparti assemblaggio e carteggiatura (Figura 3.16).

3.3.1.4 Indici di valutazione microbiologica (IGCM/m³, ICM/m³, IA/m³)

Anche l'applicazione del calcolo dell'IGCM/m³ (Figura 3.17) ai valori di carica microbica riscontrata nel 3 reparti analizzati (zona macchine, carteggiatura, assemblaggio), conferma l'incremento della contaminazione microbiologica durante la lavorazione del legno.

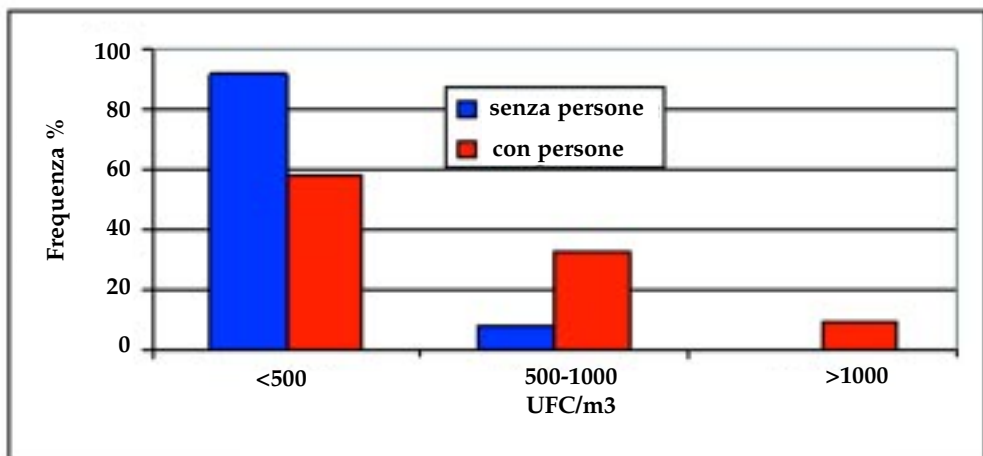


Figura 3.17: Frequenza percentuale dei valori di IGCM/m³, calcolati in base ai risultati ottenuti in assenza e in presenza di lavoratori e di lavorazione del legno.

Il 92% dei reparti monitorati in assenza di persone e di lavorazioni, presenta infatti valori di IGCM/m³ inferiori a 500 UFC/m³, mentre, durante le normali lavorazioni del legno, quasi la metà (43%) dei reparti analizzati mostra valori di IGCM/m³ superiori a 500 UFC/m³, e il 9% presenta valori di contaminazione superiore a 1000 UFC/m³.

Secondo quanto proposto da Dacarro e collaboratori, il superamento del valore soglia di 1000 UFC/m³ per l'IGCM/m³, non comporterebbe automaticamente una situazione di pericolo per la salute dei lavoratori, ma renderebbe necessario un esame maggiormente approfondito tramite il calcolo degli indici ICM e IA.

L'indice di Contaminazione da batteri mesofili (ICM/m³), rappresenta un indice della contaminazione antropica e mette in evidenza nelle due popolazioni batteriche la quota di batteri mesofili obbligati.

L'indice di amplificazione (IA/m^3) calcolato sulla base di IGCM determinati all'interno e all'esterno dell'edificio, permette di rilevare eventuali proliferazioni microbiche all'interno degli opifici. Il valore soglia per gli indici ICM e IA è pari a 3.

In assenza di persone e di lavorazioni del legno i valori di $IA/m^3 < 3$ sono calcolabili nel 96% dei casi, mentre con l'inizio delle lavorazioni del legno solo nel 56% dei casi l'indice IA è inferiore a 3 (Figura 3.18).

Nel 44% dei casi quindi, all'interno delle falegnamerie, durante le lavorazioni del legno è presente un inquinamento microbico superiore di almeno 3 volte rispetto all'inquinamento presente all'esterno delle falegnamerie.

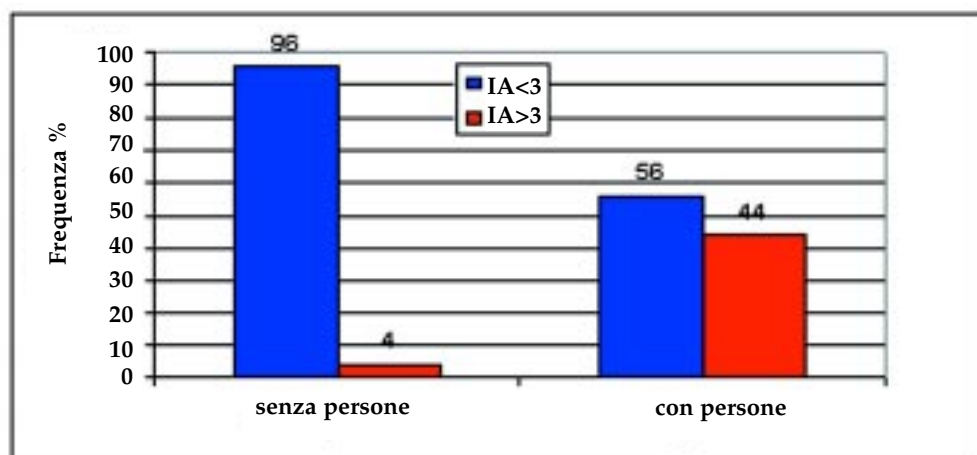


Figura 3.18: Frequenza percentuale dei valori di IA/m^3 , calcolati in base ai risultati ottenuti in assenza e in presenza di lavoratori e di lavorazione del legno.

3.3.2 Campionamenti passivi.

Prima dell'inizio delle lavorazioni, nella maggior parte dei siti monitorati, l'indice IMA relativo alla carica microbica totale interna, assume valori inferiori o di poco superiori al limite considerato (Indice IMA=50). Durante le lavorazioni in tutte le falegnamerie controllate sono stati registrati valori dell'indice IMA nettamente superiori a 50 (Figura 3.19). In assenza di operatori l'indice IMA riferito alla contaminazione fungina totale risulta essere inferiore al limite di 50, mentre in presenza delle lavorazioni del legno tale indice è sempre prossimo o superiore al valore massimo (Figura 3.20).

In particolare nei reparti carteggiatura e assemblaggio il valore dell'indice IMA quasi raddoppia durante il normale ciclo lavorativo.

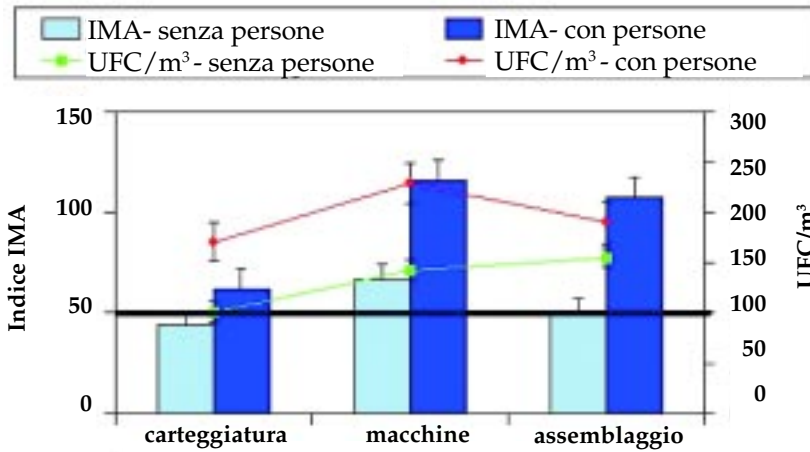


Figura 3.19: Confronto tra dati cariche microbiche totali ottenute con campionamenti attivi e passivi, (Guerrera & Pitzurra, 2005).

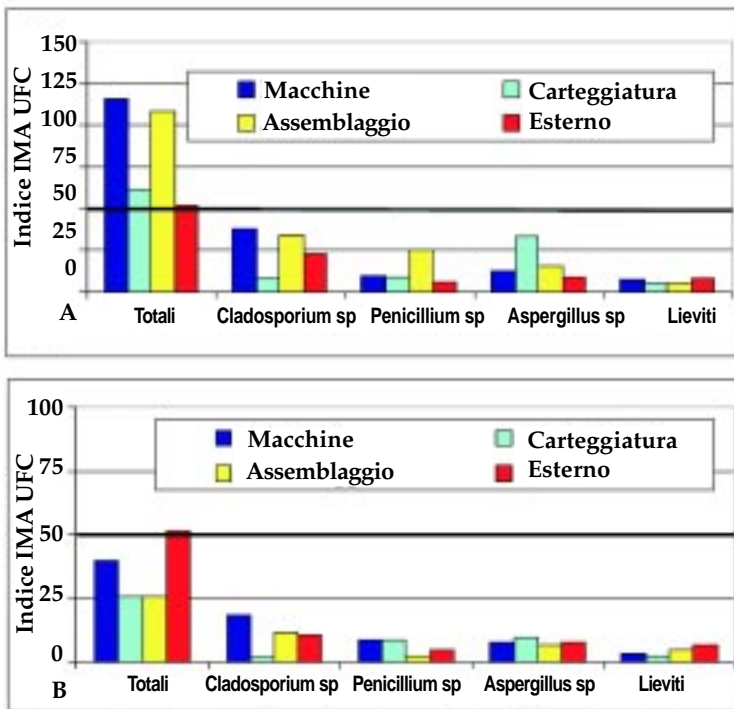


Figura 3.20: Valori dell'indice IMA nei diversi siti campionati in presenza (a) e in assenza di operatori (b), (Guerrera & Pitzurra, 2005).

3.3.3 Identificazione specie fungine

Le specie fungine identificate dai campioni ottenuti con campionamenti attivi e passivi sono riportate nella Tabella 3.4.

Tabella 3.4 - Specie fungine identificate nei campioni d'aria ottenuti con campionamenti attivi e passivi.

Specie fungine identificate con	
Campionamenti attivi	Campionamenti passivi
<i>Alternaria sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>
<i>Chrisonia sp.</i>	<i>Cladosporium sp.</i>
<i>Chrisosporium sp.</i>	<i>Exophala sp.</i>
<i>Cladosporium sp.</i>	<i>Geothricum sp.</i>
<i>Epicoccum sp.</i>	<i>Gliocladium sp.</i>
<i>Micromucor sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
<i>Mucor sp.</i>	<i>Rhizopus sp.</i>
<i>Oedocephalum sp.</i>	
<i>Penicillium sp.</i>	
<i>Ulocladium sp.</i>	

La contaminazione fungina è principalmente determinata da specie appartenenti ai generi *Cladosporium*, *Penicillium* (Figura 3.21), *Aspergillus* (Figure 3.22, 3.23, 3.24), e *Alternaria* (Figura 3.25).

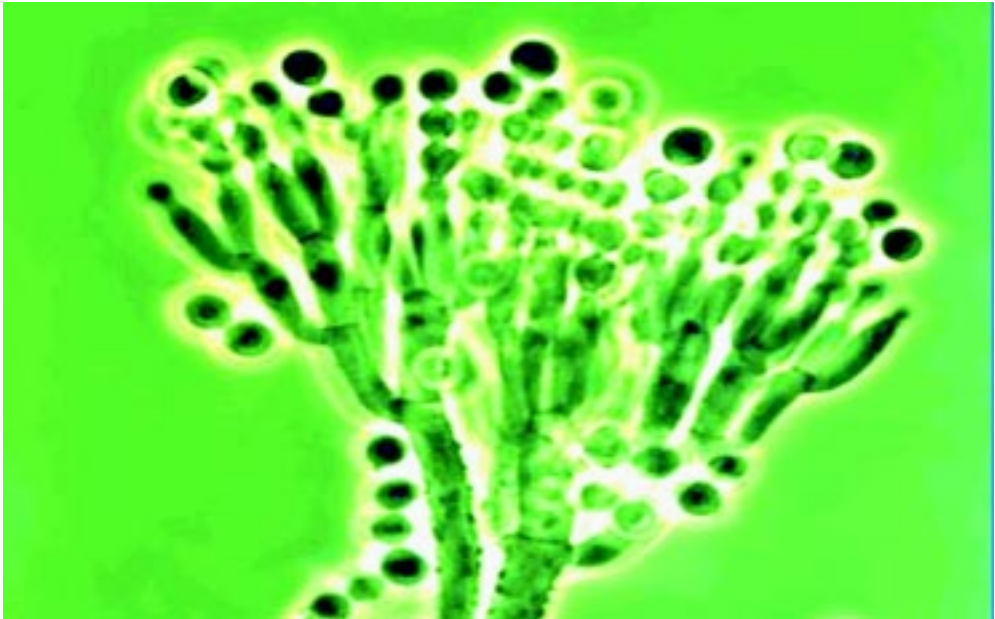


Figura 3.21: Penicillium sp.

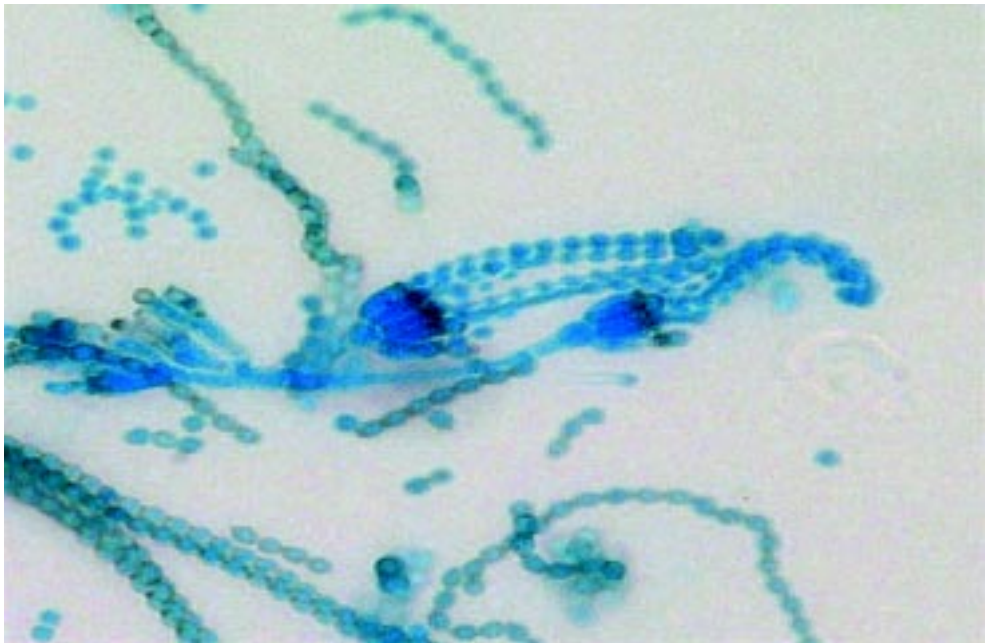


Figura 3.22: Aspergillus sp.

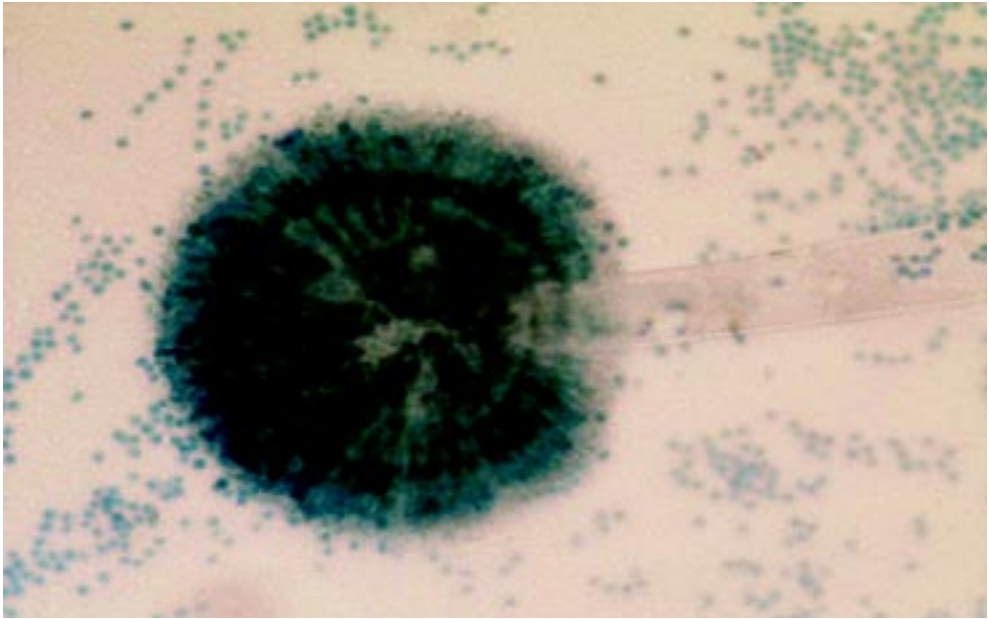


Figura 3.23: Aspergillus niger

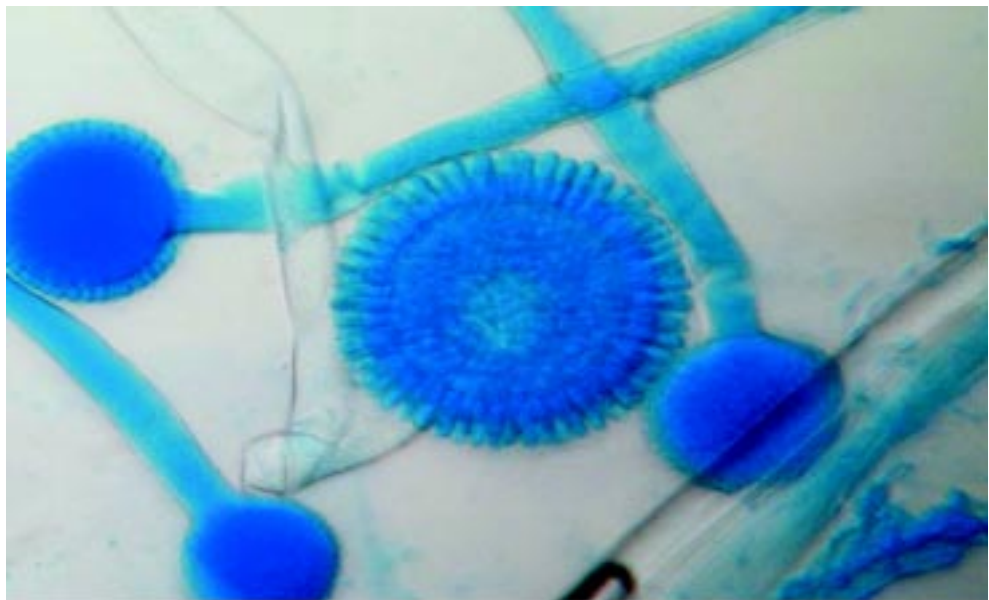


Figura 3.24: Aspergillus niger



Figura 3.25: Alternaria alternata

3.4. Discussione e conclusioni

Le "polveri di legno" e la presenza di spore fungine associate rappresentano un elevato fattore di rischio per i lavoratori del settore legno. In particolare, numerose indagini epidemiologiche documentano alte percentuali di insorgenza di patologie respiratorie in lavoratori del settore, soprattutto in ambienti scarsamente controllati. Le specie microbiche maggiormente implicate nello sviluppo di sintomatologie e/o patologie allergiche sono state individuate in specie fungine appartenenti ai generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*.

La normativa in proposito non ha ancora proposto linee guida per il controllo di tali ambienti lavorativi ne tanto meno ha definito valori soglia di contaminazione microbica dell'aria.

Per gli agenti biologici non esistono, come è ben noto, limiti di esposizione accettati dalla Comunità Scientifica Internazionale, utilizzabili come valori soglia. La mancanza di valori limite non è dovuta all'impossibilità di applicare agli agenti biologici gli stessi criteri introdotti per la valutazione del rischio chimico, ma alla scarsità delle informazioni disponibili sulla infettività dell'elevato numero di microrganismi con cui si può venire in contatto negli ambienti di lavoro e di vita.

Per molti microrganismi la dose infettante minima è stimabile intorno all'unità; è sufficiente pertanto entrare a contatto con un solo microrganismo per contrarre infezione e malattia. Non tutti i microrganismi, tuttavia sono dotati di infettività (capacità di aggredire l'ospite), patogenicità (capacità di produrre malattie), trasmissibilità (capacità di diffondersi) e neutralizzabilità (possibilità di essere combattuti con vaccini esistenti) tali da costituire una fonte di pericolo elevato. In virtù di queste considerazioni, e vista le difficoltà inerenti ai monitoraggi biologici, la misura della contaminazione ambientale è un elemento importante per la valutazione dell'esistenza del rischio e per l'identificazione delle sorgenti di diffusione.

A livello europeo all'inizio degli anni 90, la Commissione delle Comunità Europee (European Collaborative Action, 1993) ha proposto fasce orientative che collegano valori di carica batterica e fungina alla gravità dell'inquinamento ambientale. Tuttavia tali valori sono stati ottenuti tramite monitoraggi effettuati in case e in ambienti lavorativi non industriali, di conseguenza non possono essere estrapolati ad un settore produttivo quale quello delle falegnamerie. Il rapporto elaborato dalla Commissione delle Comunità Europee, fornisce tuttavia un importante elemento di valutazione della qualità dell'aria, consigliando di confrontare la situazione microbiologica esterna con quella interna, al fine di individuare situazioni di potenziale pericolo. La necessità di confrontare la situazione esterna con quella interna viene anche ribadita dagli indici di valutazione microbiologica proposti da Dacarro e i suoi collaboratori per gli ambienti indoor. In questi indici è presente infatti l'indice di amplificazione che consente di valutare in modo più approfondito la situazione microbiologica interna confrontandola con l'inquinamento microbiologico esterno.

Oltre alla mancanza di valori soglia, nel campo del monitoraggio microbiologico ambientale, manca una metodologia standardizzata, utile sia alla valutazione dei livelli di contaminazione microbica che alla definizione dell'efficacia di interventi di sanificazione applicati. Proprio per questo motivo abbiamo voluto confrontare i dati microbiologici ottenuti con campionamenti attivi e passivi. Entrambe le metodologie evidenziano come, all'interno delle falegnamerie, la lavorazione del legno produca un significativo aumento dell'inquinamento fungino e batterico.

In un elevato numero di casi, infatti le cariche batteriche e fungine ottenute con campionamento attivo all'interno degli opifici durante le normali operazioni di lavoro, sono significativamente maggiori rispetto a quelle riscontrabili all'esterno. Questa situazione è stata osservata anche con i campionamenti passivi: il valore soglia IMA (50) non viene mai superato all'esterno, mentre viene superato in tutti i reparti monitorati nel corso delle normali lavorazioni del legno.

Le cariche batteriche e fungine, ottenute con campionamenti attivi durante le lavorazioni del legno, nella maggior parte dei casi, sono inoltre significativamente maggiori alle cariche riscontrabili in assenza delle lavorazioni all'interno dei vari reparti. Il valore soglia dell'indice IMA relativo alla carica microbica totale, in assenza di lavorazioni, viene superato solo nel reparto macchine, mentre in presenza di lavorazioni viene superato nell'80% dei casi.

L'inizio delle lavorazioni produce pertanto un evidente aumento dell'inquinamento microbiologico. Le metodologie applicate, anche se con grandezze diverse dei valori assoluti, hanno fornito risultati comparabili; si tratta quindi di due metodi in grado di fornire un'attendibile descrizione dell'inquinamento microbiologico dell'aria, evidenziando situazioni di rischio.

La diversa entità della carica microbica monitorata, in primavera e in inverno nella stessa falegnameria, suggerisce inoltre la necessità di effettuare controlli periodici dell'inquinamento microbico, al fine di aver un quadro maggiormente chiaro della situazione e di evidenziare eventuali valori superiori alla norma.

Entrambi i metodi hanno permesso l'identificazione di specie fungine appartenenti a generi potenzialmente patogeni e allergenici *Alternaria* (Sanchez & Bush, 2002; Krouse *et al.*, 2004; Wincks *et al.*, 2004, Lugauskas *et al.*, 2004) quali *Aspergillus*, *Penicillium* e *Cladosporium*. La metodologia attiva ha consentito di identificare un numero maggiore di specie fungine. *Aspergillus*, è il secondo genere maggiormente rappresentato nei campioni. Alcune specie di *Aspergillus* (ad es. *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. nidulans*, *A. rugulosus*, *A. unguis*, *A. ochraceus*), oltre ad avere effetto allergenico, possono produrre micosi opportunistiche (Rimek & Kappe, 2002; Pfaller & Dickema, 2004), infezioni sistemiche e micotossicosi (Reijula & Tuomi, 2003). L'esposizione alle micotossine può avvenire per via enterica, inalazione, o contatto diretto con la pelle e le mucose. In particolare, l'aflatossina prodotta dal genere *Aspergillus* può provocare, in conseguenza delle interazioni tra ospite, fungo e ambiente, tumori polmonari (Xie, 1990, Pepeljnjak *et al.*, 2004) ed epatici (Yang & Johanning, 1996; Lopez *et al.*, 2002; Wogan *et al.*, 2004). L'aflatossina B1 (AFB1), principale micotossina prodotta da questo genere, è infatti un potente epatocancerogeno.

Un'altra micotossina, la sterigmatocistina prodotta da *A.versicolor*, oltre a produrre tumori polmonari, può interagire con l'azione di *Helicobacter pylori*, un batterio responsabile di vari tipi di disturbi gastrici, inducendo carcinomi gastrici (Ma *et al.*, 2002; Misumi, 2004).

I risultati del nostro studio di settore, evidenziano pertanto un aumento significativo dell'inquinamento microbico legato alla lavorazione del legno. La potenziale pericolosità dei miceti identificati consiglia di effettuare, negli opifi-

ci maggiormente a rischio, monitoraggi periodici, sia dell'inquinamento ambientale che delle sintomatologie allergiche degli operatori. Visto che la maggior parte degli agenti microbiologici possono essere veicolati dalle polveri di legno, è importante inoltre provvedere all'abbattimento di quest'ultime.

3.5. Ringraziamenti

Si ringrazia la Dr. Lucia Pitzurra del Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, sezione di Microbiologia dell'Università degli Studi di Perugia per la collaborazione e i dati relativi ai campionamenti passivi.

3.6 Bibliografia

- ABDEL HAMEED A.A., KHODER M.I., FARAG S.A.: *Organic dust and gaseous contaminants at wood working shops*. J.ENVIRON.MONIT, 2000, (2):173-176.
- AHMAN A., HOLMSTROM M.: *Nasal histamine reactivity in woodwork teachers*. RHINOLOGY, 2000; (38/3):114-119.
- AMEILLE J., PAULI G., CALASTRENG-CRINQUAND A., VERVLOET D., IWATSUBO Y., POPIN E., BAYEUX-DUNGLAS M.C., KOPFERSCHMITT-KLUBER A.: *Reported incidence of occupational asthma in France, 1996-99: the ONAP programme*. OCCUP.ENVIRON MED, 2003, 60:136-141.
- ATHAVALE P.N., SHUM KW, GASSON P., GAWKRODGER D.J.: *Occupational hand dermatitis in a wood turner due to rosewood (Dalbergia latifolia)*. CONTACT DERMATITIS, 2003, 48(6):345-346.
- BRUNETTI M., FENOGLIETTO M., CASTROGIOVANNI G., CAROLI D., FONTANA M.: *Indagini microbiologiche indoor: valutazione sulle metodologie di prelievo e di analisi dei dati*, 2002, ATTI DEL 8° CONVEGNO AIDII, Corvara: 119-123.
- CORREALE C.E., MARKS J.G. JR.: *Contact dermatitis in a woodworker*. AM. J. CONTACT DERMAT. 2002, 13 (1): 42-44.
- DACARRO C., GRIGNANI E., LODOLA L., GRISOLI P., COTTICA B.: *Proposta di indici microbiologici per la valutazione della qualità dell'aria degli edifici*. G.ITAL. MED.LAV.ERG, 2000, 22 (3): 229-235.
- DOUWES J., THORNE P., PEARCE N., HEEDERIK D.: *Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects*. ANN. OCCUP. HYG, 2003, 47(3): 187-200.
- ESTLANDER T., JOLANKI R., ALANKO K., KANERVA L.: *Occupational allergic contact dermatitis caused by wood dust*. CONTACT DERMATITIS 2001, 44(4): 213-217.

- EUROPEAN COLLABORATIVE ACTION: *Indoor air quality and its impact on man: Biological particles in indoor environments*. REPORT N°12, 1993.
- GUANCHE A.D., PRAYER S.: *Generalized eczematous contact dermatitis from cocobolo wood*. AM.J.CONTACT DERMAT. 2003, 14 (2): 90-92.
- GUERRERA E., FRUSTERI L., GIOVINAZZO R., MARIANI M., PIZURRA L.: *Il rischio biologico nel settore delle falegnamerie in Umbria: risultati preliminari*. ATTI DEL 4° SEMINARIO CONTARP, 2004: 355-362.
- GUERRERA E. PIZURRA L.: *Le falegnamerie in Umbria: confronto tra metodologie di campionamento microbico dell'aria*. ATTI DEL 4° SEMINARIO CONTARP, 2005, (in stampa).
- HAURY C. *Indoor Environmental Quality Exposure Limits*. American Society for microbiology meeting. ABSTRACT BOOK. 1998, Atlanta.
- KARJALAINEN A., MARTIKAINEN R., KLAUKKA T., SAARINEN K., UITTI J.: *Risk of asthma among finnish patients with occupational rhinitis*. CHEST, 2003, 123: 283-288.
- KROUSE J.H., SHAH AG., KERSWILL K.: *Skin testing in predicting response to nasal provocation with Alternaria*. LARYNGOSCOPE. 2004, 114(8): 1389-1393.
- LOPEZ C., RAMOS L., BULACIO L., RAMADAN S., RODRIGUEZ F.: *Aflatoxin B1 content in patients with hepatic diseases*. MEDICINA (B.Aires). 2002, 62 (4): 313-316.
- LUGAUSKAS A., KRISTAPONIS A., SVEISTYTE L.: *Airborne fungi in industrial environment-potential agents of respiratory diseases*. ANN.AGRIC.ENVIRON.MED. 2004, 11(1): 19-25.
- MA F., ZHAO W., KUDO M., AOKI K., MISURI J.: *Inhibition of vaculation toxin activity of Helicobacter pylori by iodine, nitrite and potentiation by sodium chloride, sterigmatocystin and fluoride*. TOXICOL IN VITRO. 2002, 16 (5): 531-7.
- MALLOCH D.W.: *Moulds, their isolation, cultivation and identification*. Toronto, University of Toronto Press. 1981.
- MANDRYK J., ALWIS K.U., HOCKING A.D.: *Effects of personal exposures on pulmonary function and wood related symptoms among sawmill workers*. ANN.OCCUP. HYG. 2000, 44(4): 281-289.
- MARONI M.: *Salute e qualità dell'aria negli edifici*. Masson. 1998, Milano.
- MILANOWSKI J., GORA A., SKORSKA C., KRYSINSKA-TRACZYK E., MACKIEWICZ B., SITKOWSKA J., CHOLEWA G., DUTKIEWICZ J.: *Work-related symptoms among furniture factory workers in Lublin region (Eastern Poland)*, ANN.AGRIC. ENVIRON.MED 2002, 9: 99-103.
- MISUMI J.: *The mechanism of gastric cancer development produced by combination of Helicobacter pylori with sterigmatocystin, a mycotoxin*. NIPPON RINSHO. 2004, 62(7): 1377-1386.

- MONTACUTELLI R., MAGGI O., TARSITANI G., GABRIELLI N.: *Aerobiological monitoring of the "Sistine Chapel": airborne bacteria and microfungi trends*. AGROBIOLOGIA, 2000, 16(3-4): 441-448.
- NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM: *Wood dust*. REP. CARGINOG. 2002; 10: 260-263.
- PASQUARELLA C., PIZZURRA O., SAVINO A.: *The index of microbial air contamination*. J. HOSP. INF. 2000, 46: 241-256.
- PEPELJNJK S., SLOBODNJAK Z., SEGVIC M., PERAICA M., PAVLOVIC M.: *The ability of fungal isolate from human lung aspergilloma of produce mycotoxins*. HUM. EXP. TOXICOL. 2004, 23 (1): 15-19.
- PFALLER MA., DICKEMA DJ.: *Rare and emerging opportunistic fungal pathogens: concern resistance beyond Candida albicans and Aspergillus fumigatus*. J. CLIN. MICROBIOL. 2004; 42 (10): 4419-4431.
- QUIRCE S., PARRA A., ANTON E., FERNANDEZ-NIETO M., JEREZ J., SARSTRE J.: *Occupational asthma caused by tali and jojoba wood dusts*. J. ALLERGY CLIN. IMMUNOL. 2004, 113 (2): 361-363.
- REIJULA K., TUOMI T.: *Mycotoxins of Aspergilli: exposure and health effects*. FRONT. BIOSCI, 2003; 8: s 232-235.
- REPONEN T., LIN X WILLEKE K.: *New method for long-term sampling of airborne bacteria and fungi, Indoor Air*, PROCEEDINGS OF THE 8TH INTERNATIONAL CONFERENCE ON INDOOR AIR QUALITY AND CLIMATE, 1999, Edimburgh, Scotland , (4): 880-885.
- RICCIARDI L., FEDELE R., SAITTA S., TIGANO V., MAZZEO L., FOGLIANI O., ISOLA S.: *Occupational asthma due to exposure to iroko wood dust*. ANN. ALLERGY ASTHMA IMMUNOL. 2003, 91 (4): 393-397.
- RIMEK D., KAPPE R.: *Invasive aspergillosis: results of an 8-year study*. MYCOSES. 2002, 45 (3): 18-21.
- RIPPON J.W.: *Medical mycobiology: the pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes*, Philadelphia, Saunders ed., 1988.
- YANG C., JOHANNING E.: *Airborne fungi and mycotoxins*. In: MANUAL OF ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY. Washington D.C., Hurst C. ed., 1996.
- SAARY MJ., HOUSE RA., HOLNESS DL. *Dermatitis in a particleboard manufacturing facility*. CONTACT DERMATITIS. 2001, 44 (6): 325-330.
- SANCHEZ H., BUSH R.K.: *A review of Alternaria alternata sensitivity*. REV. IBEROAM.MICOL. 2002, 18 (2): 56-59.
- SCHLUNSEN V., SCHAUMBURG I., TAUDORF E., MIKKELSEN A.B. SIGSGAARD T.:

- Respiratory symptoms and lung function among Danish woodworkers.* J.OCCUP.ENVIRON.MED. 2002, 44(1): 82-98.
- SCHLUNSEN V., SCHAUMBURG I., HEEDERIK D., TAUDORF E., SIGSGAARD T.: *Indices of asthma among atopic and non-atopic woodworkers.* ENVIRON.MED. 2004a, 61 (6): 504-511.
- SCHLUNSEN V., SKOVSTED TA., SCHAUMBURG I., SKOV P.S., SIGSGAARD T.: *Wood dust sensitization among Danish woodworkers.* AM. J. IND. MED.2004b, 46 (4): 408.
- SWINSCOW M.J.: *Statistics at Square One.* Southhampton, BMJ Publishing Group Ltd., 1997.
- TALINI D., MONTEVERDI A., BENVENUTI A., PETROZZINO M., DI PEDE F., LEMNI M., CARLETTI A., MACCHIONI P., SERRETTI N., VIEGI G., PAGGIARO P.: *Asthma-like symptoms, atopy and bronchial responsiveness in furniture workers.* OCCUP. ENVIRON.MED. 1998, 55(11): 786-91.
- WILKINS K., LARSEN K., SIMKUS M.: *Volatile metabolites from indoor molds grown on media content wood constituents.* ENVIRON.SCI.POLLUT.RES.INT. 2003, 10 (4): 2006-2008.
- WINCK J.C., DELGADO L., MURTA R., VANZALLER M., MARQUES J.A.: *Corkworkers' occupational asthma: lack of association with allergic sensitization to fungi of the work environment.*INT.ARCH.OCCUP.ENVIRON.HEALTH. 2004, 77 (4): 296-300.
- WOGAN G.N., HECHT S.S., FELTON J.S., CONNERY A.H., LOEB L.A. *Environmental and carcinogenesis.* SEMIN. CANCER BIOL. 2004, 14(6): 473-86.
- WURST G., FRIEDL H., HAAS D., KOCK M., PINCHLER-SEMMELOCK F., REINT A., SCHLANCHER R., MARTH E.: *A comparison between Andersen (ACFM) and Reuter Centrifugal Sampler (RCS plus) for indoor sampling of airborne molds.* AEROBIOLOGIA. 2003, 19(2): 125-128.
- XIE T.X., *Sterigmatocystin induced adenocarcinoma of the lung and atypical hyperplasia of glandular stomach in mice.* ZHONGHUA ZHONG LIU ZA ZHI . 1990 12(1): 21-23.