

FLUIDI LUBROREFRIGERANTI E RISCHIO MICROBIOLOGICO NEL SETTORE METALMECCANICO: RISULTATI PRELIMINARI

E. GUERRERA¹, O. GUARRERA², L. PITZURRA²

¹INAIL – Direzione Regionale Umbra - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione

²Università degli Studi di Perugia - Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Sezione di Microbiologia.

RIASSUNTO

I fluidi lubrorefrigeranti (FLR), detti anche oli da taglio o metalworking fluids, vengono usati nella lavorazione dei metalli per ridurre l'attrito tra le superfici e disperdere il calore prodotto. I FLR possono essere contaminati da microrganismi, i quali diffondendosi nell'ambiente sotto forma di bioaerosol possono provocare patologie respiratorie e dermatologiche. Al fine di unire ad una attività di assistenza alle aziende, la possibilità di svolgere una ricerca sulla presenza del rischio biologico nel settore metalmeccanico, sono stati effettuati campionamenti microbiologici in 7 ditte del territorio umbro, in vari reparti produttivi e negli uffici. Nel 67% dei dati analizzati, in presenza di macchine che utilizzano olio da taglio, la carica microbica totale è significativamente superiore a quanto rilevato negli uffici. Sono inoltre presenti negli ambienti di lavoro specie fungine potenzialmente patogene o allergeniche.

SUMMARY

The present study is a part of a larger project on assessment of exposure to biological agents and respiratory health effects among metal workers. The aim of this study was to evaluate the level of airborne microbial contamination of metalworking coolants as a potential source of harmful biological agents. Microbiological air quality of workplace was detected by a biological air sampler with orthogonal impact of flow in seven metal industry plants in Umbria. We tested air for total mesophilic and psychrophilic bacteria with Plate Count Agar plates, moulds with Sabouraud plates and some specific agents with selective plates. The analysis showed the total bacterial and mold counts ranging from 52 CFU/m³ to 128 CFU/m³. The predominant genera of molds were *Alternaria*, *Aspergillus* and *Cladosporium*.

1. INTRODUZIONE

Nella lavorazione dei metalli l'asportazione del truciolo richiede l'uso dei fluidi lubrorefrigeranti (FLR) detti anche oli da taglio o metalworking fluids, i quali riducono l'attrito tra le superfici e consentono la dispersione del calore prodotto durante le fasi operative in cui la temperatura dell'utensile può superare i 1000°C.

I FLR sono costituiti da una complessa miscela di idrocarburi, additivi e acqua. Vengono generalmente utilizzati 3 classi di fluidi: oli che non contengono acqua; oli solubili caratterizzati da un'emulsione di olio e acqua; oli sintetici. Questi 3 tipi possono anche essere miscelati tra loro. La specifica formulazione può variare a causa dell'uso specifico dell'olio, dell'aggiunta di additivi, della contaminazione degli sfridi metallici derivati dalla lavorazione o della degradazione termica. I FLR, inoltre vengono cambiati poco frequentemente e questo comporta spesso una contaminazione microbiologica dell'acqua presente nella miscela oleosa.

I FLR, specialmente quelli a base acquosa, possono essere contaminati da batteri, lieviti e funghi (VIRJI *et al.*, 2000; SIMPSON *et al.*, 2003; CYPROWSKI *et al.*, 2007). Tali microrganismi possono diffondersi nell'ambiente di lavoro sotto forma di bioaerosol e provocare vari tipi di patologie: sintomi respiratori e alterazioni della funzione polmonare (HODGSON *et al.*, 2001; FALKINHAM, 2002; GUPTA & ROSENMAN, 2006); allergie; sinusiti (PARK *et al.*, 2005); neoplasie. Il contatto diretto con i fluidi inquinati microbiologicamente può inoltre causare infezioni

a livello epidermico (UENO *et al* 2002; AWOSIKA-OLUMO *et al.*, 2003) soprattutto in tessuti già danneggiati da microferite. In particolare la presenza di batteri Gram negativi può costituire una fonte di rischio biologico per i lavoratori, non solo per la loro potenziale patogenicità (KARADZIC *et al.*, 2006), ma anche per la loro capacità di produrre endotossine, costituenti glicolipidici della membrana batterica esterna, caratterizzati da un elevato potere infiammatorio. Studi epidemiologici hanno evidenziato una relazione esposizione-risposta tra endotossine batteriche Gram negative e funzionalità polmonare (DOUWES *et al.*, 2002; LIU, 2002; LIEBERS *et al.* 2006).

I batteri gram-negativi inoltre favoriscono la crescita di altri batteri, fornendo nutrienti e neutralizzando eventuali biocidi presenti negli oli.

Il presente studio è parte di un più ampio progetto di monitoraggio dell'esposizione agli agenti biologici dei lavoratori del settore metalmeccanico. Lo scopo della nostra ricerca è stato valutare il livello di inquinamento microbiologico ambientale causato dall'uso di fluidi lubrorefrigeranti come potenziale sorgente di pericolosi agenti biologici.

2. MATERIALI E METODI

Durante il turno di lavorazione, sono state eseguite campionature dell'aria in 7 ditte del settore metalmeccanico distribuiti sul territorio umbro. I campionamenti sono stati eseguiti nelle zone: macchine con utilizzo di olio da taglio, macchine senza l'utilizzo di FLR, uffici amministrativi ed ambiente esterno, in contemporanea con metodo attivo (GUERRERA *et al.* 2004; INAIL, 2005) e passivo (metodo IMA- PASQUARELLA *et al.*, 2000).

Tramite metodologia attiva sono stati rilevati i valori di :

carica batterica mesofila (batteri di probabile origine antropica);

carica batterica psicrofila (batteri di origine ambientale);

carica micetica.

I valori di carica batterica e micetica ottenuti con metodologia attiva sono stati espressi come UFC/m³ (Unità formanti colonie/m³) e sono stati calcolati come media di tre determinazioni.

I valori di carica batterica psicrofila e di carica micetica sono stati interpretati facendo riferimento a fasce orientative di contaminazione dell'aria (intervalli di concentrazioni, espresse in UFC/m³), proposte dalla Commissione delle Comunità Europee (EUROPEAN COLLABORATIVE ACTION, 1993). E' necessario sottolineare che l'individuazione di tali fasce deriva da valori ottenuti sperimentalmente, e quindi il loro superamento non implica automaticamente l'instaurarsi di condizioni di pericolo o insalubrità. I valori ottenuti con campionamento attivo sono stati inoltre utilizzati per elaborare alcuni indici biologici specifici (DACARRO *et al.*, 2000) quali :

IGCM= indice globale di contaminazione microbica;

ICM= indice di contaminazione da batteri mesofili che consente, di valutare il contributo all'inquinamento da parte dei batteri di origine umana e animale, tra i quali possono essere presenti specie potenzialmente patogene;

IA= indice di amplificazione che permette di analizzare le differenze tra i livelli di contaminazione esterni ed interni, conseguenti alla attività lavorativa svolta (personale, macchine, materiali).

Valori di IGCM/m³ inferiori a 500 vengono associati alla categoria di contaminazione microbica "molto bassa", mentre valori di IGCM/m³ superiori a 1000 sono collegati ad una significativa contaminazione microbica ambientale.

I valori microbiologici ottenuti con campionamento passivo sono stati espresse come UFC (Unità Formanti Colonie). Per quanto riguarda i campionamenti passivi, i valori di UFC risultanti sono stati interpretati facendo riferimento alle 4 classi di rischio definiti dallo standard IMA (molto alto, alto,

medio, nullo). Le aziende del settore metalmeccanico state considerate ad alto rischio di contaminazione e il limite IMA non superabile è stato individuato in 50 UFC (unità formanti colonie). Le specie maggiormente comuni dei batteri psicrofilo, sono stati identificati mediante strumentazione e reagenti VITEK (Biomerieux). Le specie micetiche sono state identificate secondo metodica tradizionale (MALLOCH, 1981) utilizzando come reagente di contrasto il lattofenolo cotton blue (Mycoperm- Scientific Device Laboratory inc).

3. RISULTATI

3.1. Risultati campionamento attivo

Nella zona macchine con oli la carica batterica mesofila media (69 UFC/m³) ottenuta tramite campionamento attivo (Figura 1) è significativamente maggiore rispetto alle cariche mesofile medie registrate nella zona macchine senza oli (38 UFC/m³) e all'esterno (27 UFC/m³) (p≤0,05).

La carica mesofila media è tuttavia massima all'interno degli uffici, dove la presenza antropica è maggiormente concentrata. Nel 67% delle aziende monitorate la carica psicrofila è significativamente maggiore nella zona macchine con olio rispetto agli uffici (p≤0,05).

La carica fungina media nella zona macchine con oli risulta essere significativamente maggiore nella zona macchine con oli rispetto agli altri siti all'interno degli opifici.

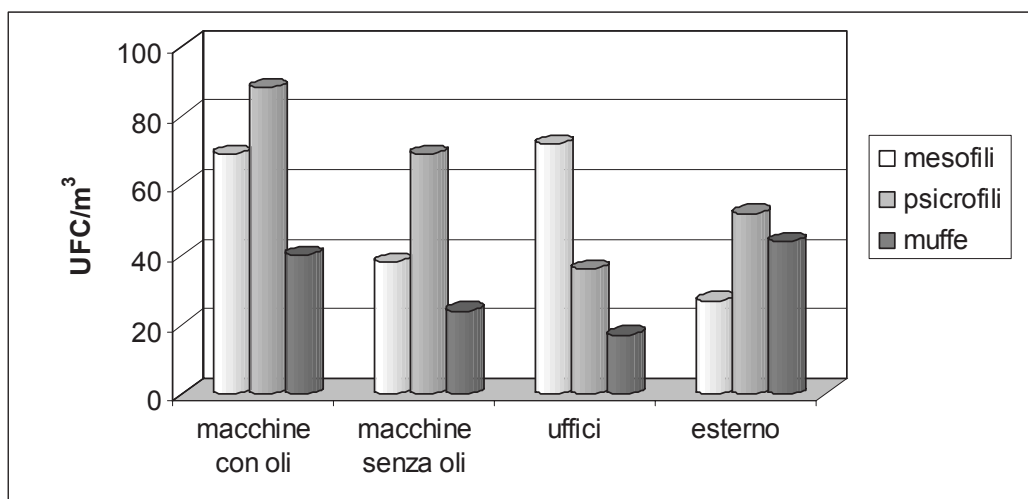


Figura 1- Cariche mesofile, psicrofile e fungine medie ottenute con campionamento attivo.

I valori di IGCM rilevati all'interno delle ditte all'esterno sono inferiori al valore soglia 500 UFC/m³. L'83% degli uffici e il 64% dei reparti dove non vengono utilizzati oli da taglio, presenta valori di IGCM inferiori a 200 UFC/m³.

Solo il 17% degli uffici raggiunge valori compresi tra 400 e 500 UFC/m³, a causa dell'elevato apporto della componente mesofila (Figura 2)

Il 50% dei reparti con macchine che utilizzano olio da taglio è caratterizzato da valori di IGCM compresi tra 200 e 500 UFC/m³. All'esterno degli opifici, l'83% dei campionamenti è inferiore a 200 UFC/m³.

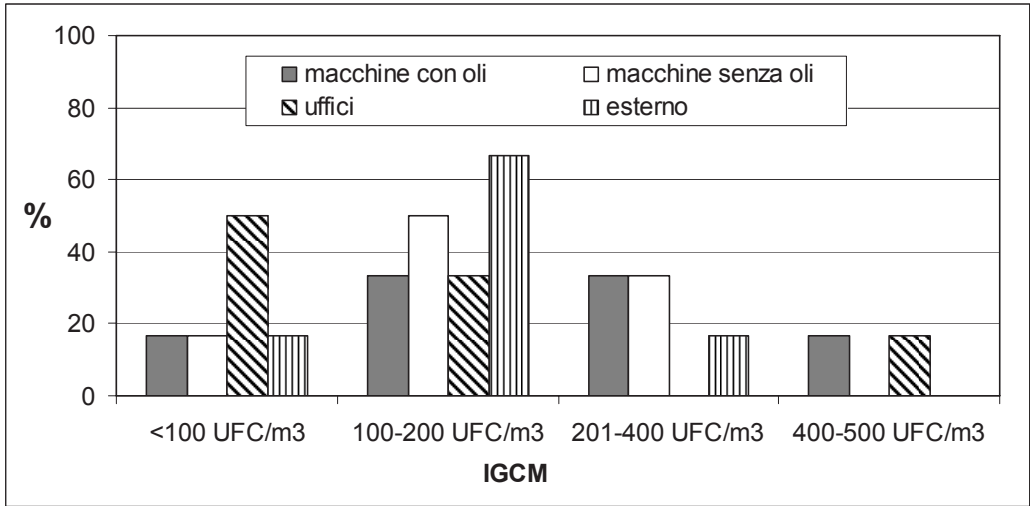


Figura 2- Distribuzione percentuale dei valori di IGCM.

3.2. Risultati campionamento passivo

Nella zona macchine con oli, i valori medi di carica microbica totale (Figura 3) ottenuti con metodologia passiva, sono superiori (72 UFC) al valore soglia scelto per le aziende del settore metalmeccanico (50 UFC). Nei reparti con macchine senza olio da taglio il valore medio di carica microbica totale (51 UFC) si approssima al valore soglia, mentre negli uffici è nettamente inferiore (24 UFC).

Il confronto tra i valori di carica microbica totale monitorate con metodologie passive e attive sono riportate nella Figura 3.

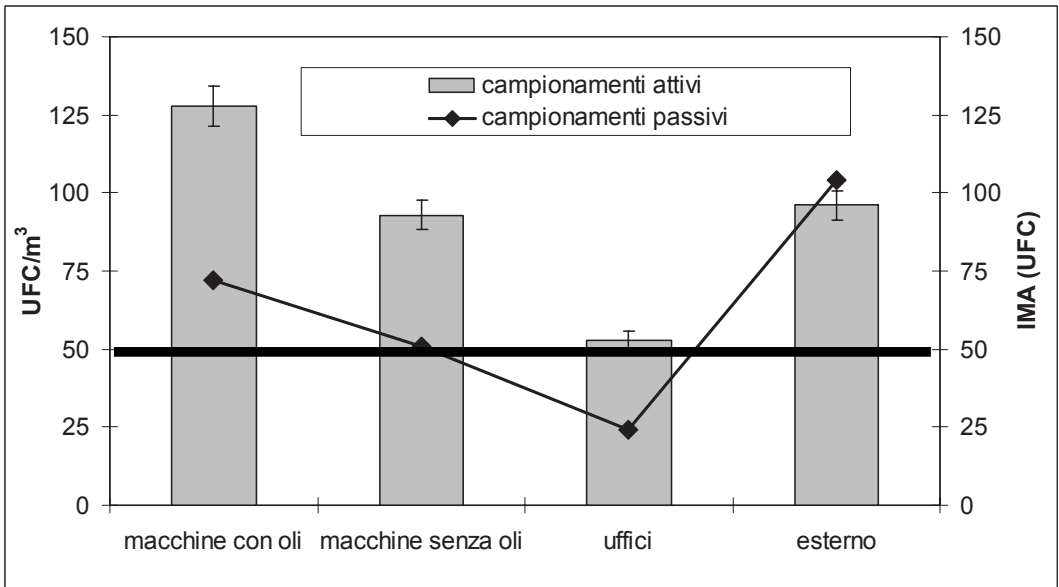


Figura 3. Confronto cariche microbiche totali (cariche psicrofile + cariche fungine) ottenute con campionamento attivo e passivo

Tabella 1- Generi fungini identificati

	Macchine con oli	Macchine senza oli	uffici	esterno
<i>Alternaria spp.</i>	6	1	0	3
<i>Aspergillus spp</i>	3	1	1	4
<i>Cladosporium spp.</i>	7	5	2	3
<i>Fusarium spp.</i>	1	1	0	1
<i>Paecylomices spp.</i>	1	1	1	1
<i>Penicillium spp.</i>	1	2	1	1
<i>Rhodotorula spp.</i>	1	0	1	0
<i>T.viridae</i>	1	0	0	0

I generi fungini identificati sono riportati nella Tabella 1.

I generi batterici principalmente presenti all'interno e all'esterno dell'opificio appartengono ai generi *Staphylococcus* e *Bacillus*. Nel 50% delle ditte sono stati isolati batteri appartenenti al genere *Pseudomonas*, principalmente nella zona macchine con oli e senza oli. In una ditta è stata riscontrata la presenza di *Micrococcus spp.*

4. CONCLUSIONI

Le metodologie di campionamento applicate, anche se con grandezze diverse dei valori assoluti, hanno fornito risultati comparabili.

I dati microbiologici ottenuti con campionamenti attivi e passivi evidenziano come, all'interno delle aziende, la presenza di olio da taglio produca un significativo aumento dell'inquinamento microbico totale.

I **campionamenti attivi** hanno mostrato che nel 67% delle zone macchine con olio e nel 33% delle zone macchine senza olio, la carica psicrofila sia significativamente maggiore rispetto agli uffici ($p \leq 0,05$). Anche la carica fungina media nella zona macchine con oli risulta essere maggiore nella zona macchine con oli rispetto agli altri siti all'interno degli opifici.

Nonostante che in tutti i reparti monitorati non venga mai superato il valore soglia di 500 UFC/m³ proposto da Dacarro e dai suoi collaboratori, il 50% dei reparti con macchine che utilizzano olio da taglio è caratterizzato da valori di IGCM compresi tra 200 e 500 UFC/m³, mentre la maggioranza delle altre zone monitorate presenta valori di IGCM inferiori a 200 UFC/m³.

Considerando le fasce orientative proposte dalla Commissione delle Comunità Europee, nelle aziende monitorate i livelli di contaminazione microbica non superano la fascia "intermedia". Nel 50% delle aziende nella "zona macchine con olio" è presente una contaminazione psicrofila "intermedia". L'83 % delle zone macchine senza olio e il 100 % degli uffici mostrano invece una contaminazione psicrofila "bassa" o "molto bassa". La carica fungina nelle zone macchine con olio e macchine senza olio è "intermedia" nel 17% delle aziende monitorate.

All'esterno solo in alcune aziende la carica psicrofila e fungina ha raggiunto livelli intermedi.

Anche i **campionamenti passivi** evidenziano un maggior inquinamento microbico nella zona produttiva delle aziende: le cariche microbiche totali nelle zone macchine con olio e senza olio superano infatti il valore soglia IMA (50 UFC), mentre negli uffici tale valore non viene mai superato.

Le specie fungine maggiormente presenti nella zona macchine con oli e all'esterno appartengono ai generi *Alternaria*, *Apergillus*, *Cladosporium*. In particolare sono stati isolati funghi appartenenti

alle specie potenzialmente patogene *A. niger*, *A. candidus*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, anche se in concentrazioni molto basse.

Il genere batterico maggiormente presente nei reparti è *Bacillus*. Nel 50% delle aziende sono stati isolati batteri appartenenti al genere *Pseudomonas*. La presenza di tale batterio nei campioni di olio da taglio e nel relativo bioaerosol ha numerosi riscontri in letteratura (WOSKIE *et al.*, 1996; KHAN & YADAV, 2004; FISHWICK *et al.*, 2005). Sono stati identificati anche batteri appartenenti e al genere *Micobacterium*. Anche questo genere è stato riscontrato spesso negli oli da taglio (SELVARAJU *et al.*, 2008) e presenta una particolare pericolosità in quanto è caratterizzato da una relativa resistenza ai biocidi normalmente utilizzati nei FLR. Per minimizzare il rischio di crescita batterica nei FLR e limitare l'emissione di bioaerosol nell'ambiente sarà necessario attuare nelle ditte monitorate delle procedure che richiedano una accurata pulizia dei serbatoi durante il cambio dell'olio da taglio. A causa inoltre dell'affinità della microflora alla fase acquosa sarebbe necessario utilizzare biocidi con un appropriato coefficiente di ripartizione tra fase acquosa e oleosa.

BIBLIOGRAFIA

A. I. Awosika- Olumo, K. L. Trangle, L.F. jr Fallon: Microorganism-induced skin disease in workers exposed to metalworking fluids, 2003, *Occup Med (Lon)*, 53(1):35-40.

M. Cyprowski, M. Piotrowska, Z. Zakowska, I. Szadkowska-Stanczyk: Microbial and endotoxin contamination of water-soluble metalworking fluids, 2007, *Int J Occup Med Environ Health*, 20(4): 365-71.

C. Dacarro, E. Grignani, L. Lodola, P. Grisoli, D. Cottica: Proposta di indici microbiologici per la valutazione della qualità dell'aria degli edifici, 2000, *G. It. Med. Lav. Erg.*, 22(3):229-235.

J. Douwes, P. Thorne, N. Pearce, D. Heederik: Bioaerosol health effects and exposure assessment: progress and prospects. 2003, *Ann Occup.Hyg.*, 47(3):187-200.

European Collaborative Action: Indoor air quality and its impact on man: Biological particles in indoor environments, 1993, report n°12.

J.O. Falkinham 3rd: Nontuberculous mycobacteria in the environment, 2002, *Clin Chest Med.*, 23(3): 529-51.

D. Fishwick, P. Tate, J. Elms, E. Robinson, B. Crook, F. Gallagher, R. Lennox, A. Curran: Respiratory symptoms, immunology and organism identification in contaminated metalworking fluid workers. What you see is not what you get, 2005, *Occup Med (lond)*, 55(3): 238-41.

E. Guerrera, L. Frusteri, R. Giovinazzo R., M. Mariani, L. Pitzurra : Il rischio biologico nel settore delle falegnamerie in Umbria: risultati preliminari, 2004, *Atti del 3° Seminario Contare:* 355-361

A.Gupta ,K.D. & Rosenman : Hypersensitivity pneumonitis due to metal working fluids: sporadic or under report, 2006, *Am.J.Ind.Med.*, 49(6):423-33.

M.J. Hodgson, A .Bracker , C. Yang, E. Storey , B.J. Jarvis , D. Milton ,Z. Lummus , D. Bernstein , S.Cole : Hypersensitivity pneumonitis in a metal-working environment, 2001, *Am J Ind Med*, 39(6): 616-28.

INAIL: Monitoraggio microbiologico negli ambienti di lavoro – Campionamento e analisi, 2005, Linee guida INAIL-CONTARP, Roma.

I. Karadzic , A. Masui , L.I. Zivkovic , N. Fujiwara : Purification and characterization of an alkaline lipase from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from putrid mineral cutting oil as component of metalworking fluids, 2006, J Biosci Bioeng , 102 (2):82-9.

I. U. Khan, J. S. Yadav: Real-time PCR assays for genus-specific detection and quantification of culturable and non-culturable mycobacteria and pseudomonads in metalworking fluids, 2004, Mol Cell Probes, 18(1): 67-73.

V. Liebers, T. Bruning, M. Raulf-Heimsoth: Occupational endotoxin-exposure and possible health effects on humans, 2006, Am. J. Ind. Med, 49:474-491.

A.H. Liu : Endotoxin exposure in allergy and asthma: reconciling a paradox, 2002, J Allergy Clin Immunol, 109:379-392.

D.W Malloch: Moulds, their isolation, cultivation and identification, 1981, University of Toronto Press, Toronto, 76 pp.

D. Park , B. Choi , S. Kim ,H. Kwag , K. Joo, J. Jeong: Exposure assessment to suggest the cause of sinusitis developed in grinding operations utilizing soluble metalworking fluids., 2005, J Occup Health, 47(4): 319-26.

C. Pasquarella, O. Pitzurra , A. Savino : The index of microbial air contamination, 2000, *J. Hosp. Inf*, 46:241-256.

S.B. Selvaraju, I.U. Khan, J.S. Yadav: Differential biocide susceptibility of the multiple genotypes of *Mycobacterium immunogenum*, 2008, J.Ind Microbiol Biotechnol , 35(3):197-203.

A.T. Simpson , M. Stear , J.A. Groves , M. Piney , S.D.Bradley, S. Stagg , B. Crook : Occupational exposure to metalworking fluid mist and sump fluid contaminants, 2003, Ann Occup Hyg, 47 (1): 17-30.

S. Ueno, Y. Shiomi , K. Yokota: Metalworking fluid and dermatitis, 2002, Ind Health, 40 (3): 291-3.

M.A. Virji , S.R. Woskie , S.R. Sama , D. Kriebel , D. Eberiel : Identifying the determinants of viable microorganisms in the air and bulk metalworking fluid, 2000, AIHAJ, 61(6):788-97.

S.R. Woskie , M.A. Virji, D. Kriebel, S.R- Sama, D. Eberiel , D.K. Milton, S.K. Hammond, R. Moure-Eraso: Exposure assessment for a field investigation of the acute respiratory effects of metalworking fluids. I. Summary of findings, 1996, Am Ind Hyg Assoc J, 57(12):1154-62.