

IL RISCHIO BIOLOGICO NEL SETTORE DELLE FALEGNAMERIE IN UMBRIA: RISULTATI PRELIMINARI

*E. Guerrera**, *L. Frusteri***, *R. Giovinazzo***, *M. Mariani****, *L. Pitzurra****

* INAIL - Direzione Regionale Umbria - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione

** INAIL - Direzione Generale - Consulenza Tecnica Accertamento Rischi e Prevenzione

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

RIASSUNTO

Lo scopo di questo studio è stato l'identificazione e la quantificazione di agenti biologici presenti nelle falegnamerie umbre. Sono stati eseguiti monitoraggi della carica batterica e fungina mediante metodiche passive (Standard IMA) e attive (campionatore ad impatto ortogonale). La temperatura e l'umidità sono state misurate tramite centralina microclimatica Quest. I risultati preliminari dei campionamenti attivi mostrano in assenza di attività lavorative basse percentuali di differenze significative tra i valori di carica fungina e/o batterica relativi all'ambiente esterno e ai locali interni. Nel 58%-65% dei casi i valori di carica batterica e/o micotica sono invece significativamente maggiori ($p < 0,05$) all'interno dei locali durante il normale turno lavorativo rispetto all'ambiente esterno. Tra i batteri identificati all'interno delle falegnamerie, i generi più ricorrenti sono stati *Staphylococcus*, *Sphingomonas*, *Pasteurella*. I miceti identificati appartengono maggiormente ai generi *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Aspergillus*.

SUMMARY

The purpose of this study was to quantify and identify the airborne microbial contamination in Umbria Sawmills. In this paper we reported the preliminary results of our analysis. Microbiological contaminants (fungi and bacteria) were assessed with passive (IMA Standard) and active (SAS microbial sampler) methods. Temperature and humidity were also measured. There were significant differences of bacterial and/or fungal CFU/m³ values between the outdoor and indoor environments during the normal sawmills activity. *Staphylococcus*, *Sphingomonas*, *Pasteurella*, were the most predominant bacteria. The most predominant isolated fungi belong to *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria* and *Aspergillus* genus.

1. INTRODUZIONE

Dal punto di vista allergologico le "polveri di legno" sono riconosciute tra gli agenti eziologici delle malattie professionali: asma bronchiale primario estrinseco ed alveoliti allergiche estrinseche tabellate dall'INAIL. Vari studi hanno evidenziato elevate frequenze di dermatiti allergiche (Saary et al., 2001), riniti allergiche (Ahman e Holmstrom, 2000), asma (Obata et al., 2001) e congiuntiviti (Estlander et al., 2001) tra falegnami esposti a polvere di cedro rosso, pino finlandese, abete rosso, pioppo, mansonia, teak, kamballa, ramin, iroko, mogano, makore e cabreuva. L'esposizione alle polveri di legno risulta essere anche in Umbria una delle principali cause di allergie tra i lavoratori. L'analisi delle pratiche di malattie professionali registrate nelle sedi INAIL di Perugia, Foligno e Terni tra il 1995 e il

2000, ha evidenziato infatti che su 21 casi di sintomatologie allergiche (asma, riniti, dermatiti) il 19% era denunciato da lavoratori operanti nel Settore delle falegnamerie o della produzione di parquet. Queste patologie possono essere collegabili all'esposizione ad agenti chimici o ad agenti biologici allergizzanti. In base a questi presupposti è stato giudicato essenziale inserire, all'interno di un ampio studio sui rischi lavorativi nel settore legno, un'indagine volta ad evidenziare la presenza e la diffusione nelle falegnamerie artigianali e industriali, di alcuni agenti microbiologici. La polvere di legno può diffondersi nell'ambiente di lavoro tramite bioaerosol, in cui il substrato inorganico è mescolato a batteri, batteri gram-negativi, funghi e lieviti (Abdel Hameed et al., 2000). In soggetti debilitati, l'inalazione di elevate concentrazioni di batteri può dar luogo a infiammazioni delle vie aeree; batteri Gram negativi possono produrre endotossine (sostanze conosciute come "induttori di febbre"); alcuni miceti quali *Aspergillus sp.*, *Alternaria sp.* e *Penicillium sp.* possono rilasciare nell'ambiente sostanze allergizzanti (Rippon, 1988).

2. MATERIALI E METODI

In quattro falegnamerie distribuite nella Provincia di Perugia, sono stati eseguiti monitoraggi della carica microbiologica, eseguendo in ciascun ufficio campionamenti nel: A) reparto macchine, B) reparto carteggiatura, C) reparto assemblaggio e D) nell'ambiente esterno. L'umidità e la temperatura in ciascun sito sono state rilevate mediante centralina microclimatica Quest.

1) Monitoraggio microbiologico attivo. I prelievi di aria sono stati realizzati con campionatore attivo ad impatto ortogonale SAS 180 (PBI International) ad 1,5 m di altezza. I campionamenti batterici sono stati eseguiti usando terreno Trypticase Soya Agar (Biomerieux); le colture sono state incubate a 37° C per 48 ore per i mesofili ed a 20°C per 5 giorni per gli psicrofili. I campionamenti fungini sono stati eseguiti con terreno Sabouraud Agar con Gentamicina e Cloramfenicolo (Biomerieux); le colture sono state incubate a 25 °C per 5 giorni. I valori di carica microbica sono stati espressi come UFC/m³ (Unità formanti colonie/ m³). Le specie dei batteri e dei lieviti sono stati identificati mediante reagenti VITEK (Biomerieux). Le specie fungine sono state identificate secondo metodica tradizionale (Malloch, 1981). I dati sono stati analizzati statisticamente mediante t di Student (Swinscow, 1997).

2) Monitoraggio microbiologico passivo (metodo IMA): I prelievi dell'aria sono stati eseguiti mediante sedimentazione utilizzando la procedura standardizzata presso il Dipartimento di Igiene dell'Università di Perugia (Pasquarella et al, 2000). In ogni sito di campionamento piastre Petri di 90 mm di diametro contenenti 20 ml di terreno Nutrient Agar (conta microbica totale) o di Rosa Bengala (conta fungina selettiva) sono lasciate aperte per 1 ora, ad 1 metro da terra e a 1 metro da ogni ostacolo. Dopo 3 e 5 giorni di incubazione a 30°C, sono state contaminate le colonie microbiche. 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 falegnamerie sono state considerate ad alto rischio di contaminazione e il limite IMA non superabile è stato individuato in 25 UFC.

3. RISULTATI

Il legname lavorato nelle falegnamerie analizzate e i parametri microclimatici medi sono riportati in Tabella 1.

Tabella 1

Tipo di legno lavorato e parametri microclimatici medi riscontrati nelle falegnamerie analizzate.

Falegnameria	Tipo di legno lavorato	T bulbo secco (°C)	Umidità relativa (%)
F1	castagno, pioppo	14,6	36
F2	pino, castagno, mogano	12,1	69
F3	pino, rovere, iroko	18,6	39
F4	castagno, noce, multistrato	28,2	43

Campionamenti attivi: la concentrazione di batteri mesofili, in presenza della normale attività lavorativa, nella zona A (zona in cui sono concentrate le operazioni di segazione) varia da un massimo di 253 UFC/m³, nella falegnameria 1, a 38 UFC/m³ nella falegnameria 2 (Tabella 2). Nella zona B (carteggiatura), la concentrazione di batteri mesofili varia da un massimo di 209 UFC/m³ nella falegnameria 1 ad un minimo di 54 UFC/m³ nella falegnameria 3, dove si lavora principalmente il pino. Nella zona C (assemblaggio), la concentrazione massima di mesofili varia da 253 UFC/m³ nella falegnameria 4, a 40 UFC/m³ nella falegnameria 2.

L'elaborazione statistica con t di Student evidenzia nel 58% dei casi che la concentrazione di mesofili nell'ambiente esterno è significativamente inferiore ($p \leq 0,05$) rispetto alla concentrazione interna analizzata durante le lavorazioni del legno. All'interno degli opifici, la carica mesofila campionata durante il normale turno lavorativo presenta differenze significativamente maggiori rispetto al dato ottenuto in assenza di lavorazioni, solo nel 33% dei confronti (Figura 1A).

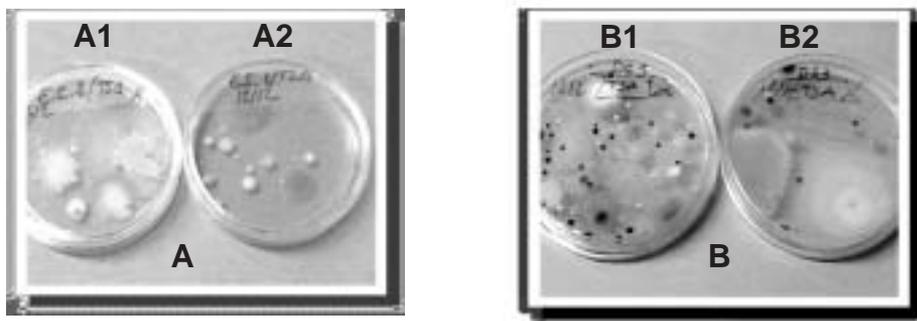


Figura 1: Differenze di crescita microbica interna di batteri mesofili (A) e psicrofili (B) in presenza (A1, B1) e in assenza (A2, B2) di lavorazione del legno.

La concentrazione aerea di batteri psicrofili nella zona A va da un massimo di 498 UFC/m³ (falegnameria 1) ad un minimo di 44 UFC/m³ (falegnameria 4) (Tabella 2). Nel reparto carteggiatura tali concentrazioni sono comprese tra un massimo di 376 UFC/m³ (falegnameria 2) e un minimo di 11 UFC/m³ (falegnameria 4). Per quanto riguarda il reparto assemblaggio il valore massimo viene registrato nella falegnameria 1 (347 UFC/m³) e il valore minimo nella falegnameria 3 (32 UFC/m³).

L'analisi con il t di Student evidenzia come nel 67% dei casi la concentrazione di psicrofilii presente nell'ambiente esterno sia significativamente inferiore alla concentrazione di psicrofilii durante le lavorazioni all'interno degli opifici. In assenza di lavorazioni, le concentrazioni interne di psicrofilii sono significativamente maggiori rispetto alle concentrazioni riscontrate all'esterno solo nel 48% dei casi. In presenza di lavorazioni nel 67% dei casi la concentrazione di psicrofilii interna è inoltre significativamente maggiore ($p \leq 0,05$) rispetto alla concentrazione rilevabile in assenza di lavorazioni (Figura 1B).

La concentrazione di muffe e lieviti, nella zona A, presenta un massimo nella falegnameria 4 (172 UFC/m^3), e un minimo nella falegnameria 3 (19 UFC/m^3). Nelle zone B e C il massimo viene raggiunto nella falegnameria 1 (rispettivamente: 57 e 79 UFC/m^3) e il minimo nella falegnameria 4 (rispettivamente 30 e 47 UFC/m^3).

Il t di Student ($p \leq 0,05$) evidenzia nel 58% dei confronti, una concentrazione micotica 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 nell'8% dei casi.

Nel 50% dei casi la concentrazione micotica interna è significativamente maggiore durante la lavorazione del legno rispetto alla situazione analizzata prima dell'inizio del lavoro ($p \leq 0,05$) (Figura 2).

Confrontando i valori riscontrati nelle 4 falegnamerie, si riscontra una notevole variabilità per quanto riguarda la concentrazione totale di batteri mesofili e psicrofilii: nell'83% dei confronti, le cariche microbiche a 37° e 22° C nei 4 opifici sono significativamente diverse ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$). Solo nel 50% dei casi invece, le cariche micotiche delle 4 falegnamerie sono diverse significativamente ($p \leq 0,05$).

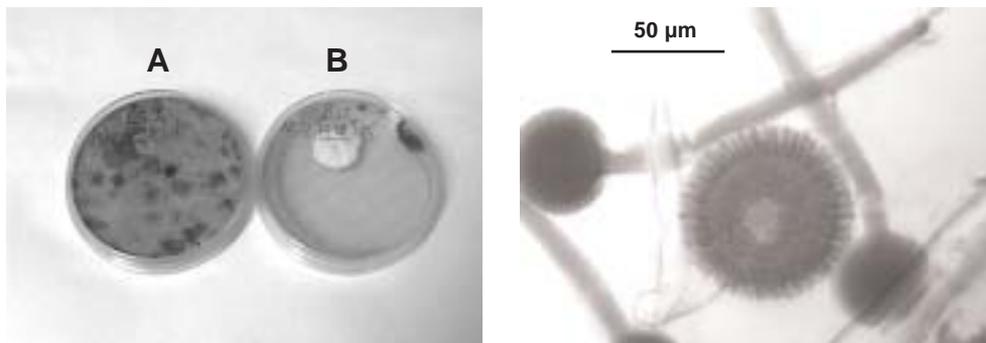


Figura: A sinistra: differenze di crescita micotica in presenza (A) e in assenza (B) di lavorazione del legno; a destra: fotografia al microscopio ottico di *Aspergillus* sp.

Tabella 2

Concentrazioni dei microrganismi presenti nei campioni di aria prelevati nelle falegnamerie durante il normale turno lavorativo.

	mesofili Media+ SD	psicrofili Media+ SD	funghi Media+ SD	mesofili Media+ SD	psicrofili Media+ SD	funghi Media+ SD	
Falegnameria 1	UFC/m ³	UFC/m ³	UFC/m ³	UFC/m ³	UFC/m ³	UFC/m ³	Falegnameria 3
A - zona macchine	235+110	498+97	132+45	84+7	65+21	20+11	A - zona macchine
B - carteggiatura	209+84	231+130	57+24	58+18	65+32	88+11	B - carteggiatura
C - assemblaggio	229+70	347+24	79+22	126+21	32+14	51+20	C - assemblaggio
media	224+56	359+142	86+43	89+33	55+27	36+19	media
Falegnameria 2							Falegnameria 4
A - zona macchine	38+14	127+37	95+18	129+50	44+10	172+29	A - zona macchine
B - carteggiatura	84+43	376+85	42+12	84+30	11+7	30 +8	B-carteggiatura
C - assemblaggio	40 +17	285+86	76+53	253+123	42+25	47+19	C - assemblaggio
media	55+32	259+125	69+38	155+147	32+21	83+69	media

Le specie identificate nelle 4 falegnamerie sono riportate nella Tabella 3.

Tabella 3

Elenco di batteri, lieviti e funghi isolati con campionamenti attivi nelle 4 falegnamerie (F1, F2, F3, F4), nelle 4 zone di interesse (A= zona macchine, B= carteggiatura, C= assemblaggio, E= esterno) .

Batteri Isolati a 37°	<i>Aerococcus sp.</i> (F3A-B-C), <i>Acinetobacter lowffli</i> (F1A-B-C-E), <i>Chryseobacterium indologenes</i> (F1A), <i>Flavimonas oryzihabitans</i> (F4E), <i>Pantoea agglomerans</i> (F2A-C-E), <i>Pasteurella haemolytica</i> (F1A-B-C; F3A-B-C), <i>P. multocida</i> (F3B-E; F4A-B-C-E) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (F1A-B-C-E), <i>S. hominis</i> (F2A-B-C), <i>S.spp.</i> (F4B-C), <i>Streptococcus uberis</i> (F3 C, E). Batteri
Isolati a 22°	22°C <i>Acinobacillus ureae</i> (F1A-B-C-E), <i>Bacillus sphaericus</i> (F4-B) <i>Gemella morbillorum</i> (F4A-B-C-E), <i>Pasteurella haemolytica</i> (F1A-B, F4A-B-C-E), <i>P. multocida</i> (F2B-C-E; F3 A-B-C), <i>Pseudomonas fluore scens</i> (F2A-B-C-E), <i>Sphingomonas paucimobilis</i> (F2A-C; F3A-B,C)
Funghi	<i>Alternaria sp.</i> (F2C; F1 A; F3B-C; F4 A-B), <i>Aspergillus sp.</i> (F1A-B; F2C-E; F3B-C-E;F4 A-B), <i>Chironilia sp.</i> (F1C) <i>Chrisosporium sp.</i> (F3A, F4E), <i>Cladosporium sp</i> (F1A-B;F3 C; F4A-B-C); <i>Epicoccum sp.</i> (F1C); <i>Penicillium sp.</i> (F1A-B; F2A-C; F3A-B-C; F4A-B-C); <i>Micromucor sp.</i> (F4 A); <i>Mucor sp.</i> (F1C; F4A), <i>Oedocephalum sp.</i> (F1C), <i>Ulocladium sp.</i> (F4 B)
Lieviti	<i>Rhodotorula glutinis</i> (F3C), <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (F1A-B; F2C-E; F3A) <i>Trichosporon pollulans</i> (F1A-B-C-E;F4 C)

Campionamenti passivi: 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=25) prima dell'inizio delle lavorazioni. Durante le lavorazioni in tutte le falegnamerie controllate sono stati registrati valori dell'indice IMA nettamente superiori a 25. La contaminazione fungina è principalmente determinata da specie appartenenti ai generi *Aspergillus* (Figura 3), *Penicillium*, *Alternaria* e *Cladosporium*.

4. CONCLUSIONI

Pur esistendo TLV per molte sostanze di origine biologica e per composti volatili prodotti da organismi viventi, non sono stati ancora proposti TLV o limiti espositivi occupazionali (OEL) internazionalmente riconosciuti a cui far riferimento per le cariche batteriche e micotiche aerodisperse. La Commissione delle Comunità Europee (European Collaborative Action, 1993) ha proposto per gli ambienti indoor non industriali, fasce orientative che collegano valori di carica batterica psicofila e micotica alla gravità dell'inquinamento ambientale. In relazioni a tali indicazioni le cariche psicofile riscontrate nelle 4 falegnamerie analizzate, nel 17% dei siti monitorati sono molto basse (>50 UFC/m³), nel 33% sono basse (50 -100 UFC/m³), e nel 50 % sono intermedie (100-500 UFC/m³). Per quanto riguarda la carica micotica, solo in due campionamenti si sono osservati cariche intermedie (100 -500 UFC/m³), in 9 casi la carica micotica è risultata bassa (25-100 UFC/m³) e in 1 caso molto bassa (<25 UFC/m³). La Commissione delle Comunità Europee, raccomanda tuttavia di giudicare la qualità dell'aria di un ambiente, confrontando principalmente le cariche microbiche esterne con quelle interne. Nel nostro studio la concentrazione di batteri mesofili, batteri psicofili e miceti, è significativamente maggiore all'interno degli opifici rispetto all'ambiente esterno, testimoniando la presenza di inquinamento legato alle attività lavorative. All'interno degli opifici sono state identificate inoltre un numero maggiore di specie rispetto all'ambiente esterno. Il genere *Pasteurella*, e *Staphylococcus* sono risultati predominanti tra i batteri mesofili. La presenza del genere *Staphylococcus* è stata riscontrata anche in altri studi di settore (Abdel et al., 2000, Krysinska-Traczyk et al., 2002). Nelle nostre analisi il genere *Pasteurella* è stato isolato con la stessa frequenza anche tra i batteri mantenuti a 22°C, probabilmente grazie alle proprie capacità di adattamento termico. Dopo le specie *P. multocida* e *P. haemolytica*, la specie isolata con maggior frequenza tra i batteri mantenuti a 22°C è stata *Sphingomonas paucimobilis*. Nei nostri campioni aerei sono stati isolati inoltre i generi *Acinetobacter*, *Pseudomonas* e la specie *Pantoglea agglomerans*, identificati anche in precedenti monitoraggi nel settore delle falegnamerie (Abdel et al., 2000; Krysinska-Traczyk et al., 2002). I miceti maggiormente diffusi nelle quattro falegnamerie sono *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* e *Cladosporium*, generi riscontrati anche nei campionamenti passivi da noi condotti e in studi precedenti (Abdel et al., 2000; Krysinska-Traczyk et al., 2002). I dati relativi ai campionamenti passivi concordano inoltre con quelli dei campionamenti attivi, in quanto testimoniano un peggioramento della qualità dell'aria durante le attività lavorative. Un completo confronto tra campionamenti attivi e passivi, in base ai dati in nostro possesso non è tuttavia ancora possibile. Tale analisi verrà affrontata in modo approfondito al termine del nostro studio di settore.

In conclusione, i risultati preliminari suggeriscono un aumento significativo dell'inquinamento microbico legato alla lavorazione del legno. Le identificazioni effettuate evidenziano inoltre la presenza di funghi potenzialmente allergenici appartenenti ai generi *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* e *Alternaria*. Alcune specie di *Penicillium* e *Aspergillus* oltre ad avere effetto allergenico, possono produrre micosi opportunistiche (*Aspergillus fumigatus*), infezioni sistemiche e micotossicosi (*A. flavus*, *A. parasiticus*, *A. versicolor*, *A. sydowii*, *A. ochraceus*). L'aflatossina prodotta da *Aspergillus flavus* può causare infine tumori epatici (Yang & Johanning, 1996). La

potenziale pericolosità dei miceti identificati consiglia, di conseguenza, di effettuare ulteriori e approfondite campagne di campionamenti, atte ad accertare la loro effettiva presenza e diffusione nel settore delle falegnamerie industriali e artigianali.

BIBLIOGRAFIA

ABDEL HAMEED A.A, KHODER MI, FARAG S.A: Organic dust and gaseous contaminants at wood working shops. *J.ENVIRON.MONIT* , 2000 (2):173-6

AHMAN M , HOLMSTROM M.: Nasal histamine reactivity in woodwork teachers. *RHINOLOGY* , 2000, (38/3):114-9

ESTLANDER T., JOLANKI R., ALANKO K., KANERVA L.: Occupational allergic contact dermatitis caused by wood dust, *CONTACT DERMATITIS*, 2001. 44(4): 213-7

EUROPEAN COLLABORATIVE ACTION: Indoor air quality and its impact on man: biological particles in indoor environments, REPORT N°12, 1993.

KRYSINSKA-TRACZYK E, SKORSKA C., COLEWA G., SITKOWSKA J., MILANOWSKY J., DUTKIEWICZ J.: Exposure to airborne microorganisms in furniture factories. *ANN.AGRIC. ENVIRON.MED*, 2001, 9: 85-90.

MALLOCH D.W.: Moulds, their isolation, cultivation and identification. 1981, UNIVERSITY OF TORONTO PRESS, TORONTO, 76 PP

OBATA H, DITTRICK M., CHAN H., CHAN-YEUNG M.: Occupational asthma due to exposure to africal cherry (makore) wood dust, *INTER MED*, 2000. 39: 11, 947-9

PASQUARELLA C., PIZURRA O, SAVINO A.: The index of microbial air contamination, *JOURN. HOSP. INF.*, 2000, 46:241-256.

RIPPON J.W.: MEDICAL MYCOBIOLOGY: The pathogenic fungi and the pathogenic actinomycetes, 1988, SAUNDERS ED, PHILADELPHIA, 797 PP

YANG C., JOHANNING E.: Airborne fungi and mycotoxins. IN *MANUAL OF ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 1996, HURST C. ED., ASM PRESS, WASHINGTON D.C.

SAARY M.J., HOUSE R.A., HOLNESS D.L: Dermatitis in a particleboard manufacturing facility. *CONTACT DERMATITIS*, 2001, 44 (6): 325-330.

SWINSCOW M.J.: Statistics at square one. 1997, BMJ PUBLISHING GROUP LTD. SOUTHAMPTON, 83 PP