



L. Bonadonna, A. Marconi

[illegible][illegible]

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Stato attuale ed orientamento degli studi e delle ricerche
sulla contaminazione biologica dell'aria degli ambienti chiusi (indoor)**

L. Bonadonna, A. Marconi

Laboratorio di Igiene Ambientale

Istituto Superiore di Sanità, Roma

Stato attuale ed orientamento degli studi e delle ricerche sulla contaminazione biologica dell'aria degli ambienti chiusi (indoor).

L. Bonadonna, A. Marconi

Giu 90, 48 p. Rapporti ISTISAN 90/14 (In Italiano)

Vengono prese in considerazione le problematiche inerenti alla contaminazione aerea di origine biologica degli ambienti interni (indoor). Sono stati descritti le fonti e i modi di diffusione dei biocontaminanti aerei in relazione anche all'applicazione di nuove tecniche costruttive e di arredo e all'impiego di attrezzature che possono costituire negli ambienti interni siti di accumulo e moltiplicazione dei microrganismi. Particolare attenzione è stata rivolta alla evidenziazione dei diversi biocontaminanti aerei e agli effetti sulla salute associati alla loro presenza in differenti ambienti interni. Sono stati descritti i sistemi di campionamento e di analisi dei campioni più adeguati ad effettuare rilevamenti rappresentativi e sono state fornite indicazioni circa l'interpretazione dei risultati. Infine, sono state indicate le strategie da seguire per lo sviluppo e l'approfondimento del problema a cui fare riferimento per impostare piani di intervento mirati alla eliminazione di eventuali rischi per la salute e soprattutto alla loro prevenzione.

Parole chiave: Ambienti interni, Bioaerosol, Biocontaminazione aerea.

Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy)

Biogenic aerosols within enclosed spaces: present state of studies and researches.

L. Bonadonna, A. Marconi

Jun 90, 48 p. Rapporti ISTISAN (ISTISAN Reports) 90/14 (In Italian)

Studies, problems and perspectives on the indoor biological pollution are taken into account. Adverse health effects of indoor exposure to different bioaerosols are pointed out. Monitoring and measurement techniques are described. Efforts to assess health risks associated with indoor air pollution are limited by insufficient information about the number of people exposed, the pattern and severity of exposures, and the health consequences of exposures. An overall strategy should be developed to investigate these problems and control options. In this regard studies and researches are suggested for the development of a general approach to the question.

Key words: Bioaerosols, Indoor biological pollution.

INDICE

INTRODUZIONE	1
1. ASPETTI SANITARI	10
2. SISTEMI DI CAMPIONAMENTO	18
3. ANALISI DEI CAMPIONI	25
4. STRATEGIE DI CAMPIONAMENTO ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	30
CONCLUSIONI	34
BIBLIOGRAFIA	37

INTRODUZIONE

Il termine "bioaerosol" e' usato per descrivere collettivamente il materiale particellare di origine biologica aerodisperso.

I bioaerosol presenti negli ambienti interni (indoor) possono provenire da fonti esterne e avere una origine interna legata alla diffusione e all'accumulo di materia biologica e dal suo sviluppo su substrati idonei.

Le particelle biologiche che si ritrovano e sono diffuse nell'aria indoor sono costituite per la maggior parte da batteri, virus, funghi dermatofiti, attinomiceti, ma anche da frammenti di insetti e aracnidi. Inoltre, possono ritrovarsi, come sostanze volatili e/o solubili, endotossine batteriche e, teoricamente, micotossine fungine, prodotti del metabolismo di microrganismi che crescono sulle superfici delle strutture e all'interno di apparecchiature.

Potenzialmente, qualsiasi substrato che comprenda una fonte di carbonio ed acqua puo' essere utilizzato per la crescita di microrganismi (cellulosa, lignina, plastica, ecc.). In ogni caso, comunque, un requisito necessario per tutti i tipi di contaminazione aerea degli ambienti interni e' l'umidita'.

Organismi saprofiti e patogeni possono essere emessi parlando, tossendo e starnutendo e rimanere diffusi

nell'aria di ambienti chiusi per periodi di tempo variabili a seconda della loro dimensione, della temperatura e dell'umidità relativa ed essere così diffusi negli ambienti dai sistemi di circolazione d'aria eventualmente presenti. Il numero di microrganismi diffusi parlando è variabile, ma uno starnuto diffonde $10^5 - 10^6$ goccioline che sono un importante veicolo di diffusione di microrganismi (1).

L'impiego di nuovi materiali e l'applicazione di nuove tecniche costruttive e di arredo in ambienti destinati ad uso abitativo o di lavoro, mentre da una parte hanno introdotto una situazione di miglioramento nella funzionalità generale degli ambienti, dall'altra hanno creato problemi di salubrità e igiene. Il rivestimento in moquette dei pavimenti, specialmente se associato al condizionamento dell'aria, è un esempio, riportato sempre più spesso in letteratura (2), che risulta legato a rischi di varia natura: fisica, chimico-tossicologica, microbiologica.

È noto, inoltre, che una varietà di attrezzature possono costituire, negli ambienti indoor, riserve potenziali e siti di moltiplicazione per i microrganismi: sistemi di riscaldamento, ventilazione e condizionamento, nonché umidificatori, vaporizzatori e frigoriferi autosbrinatori. Infatti l'acqua in essi contenuta è generalmente stagnante e, quando non pulita, costituisce un ideale substrato di arricchimento per i microrganismi il

cui sviluppo dipende dalle caratteristiche dell'acqua: tenore in elementi nutritivi, pH e temperatura. In questi apparecchi, l'acqua stagnante, generalmente contaminata, sovente e' in contatto con una corrente di aria in movimento che puo' raccogliere piccole particelle (batteri, antigeni) e trasferirle nell'ambiente. Così, correnti di aria prodotte per convezione da calore radiante oppure da aria circolante meccanicamente, tramite sistemi ad aria forzata, possono mettere in circolo e diffondere le particelle biologiche che, se inalate, possono costituire, un rischio per la salute.

I microrganismi possono essere diffusi nell'aria associati a nuclei precursori della formazione di goccioline (droplet-nuclei), a goccioline e a polvere (tabella 1).

I droplet-nuclei sono le particelle piu' piccole: sono costituiti da batteri e virus e loro residui, rimangono sospesi per lunghi periodi e sono trasportati da correnti d'aria. Quelli inferiori ai 5 μ m possono facilmente penetrare negli alveoli dei polmoni. E' stato evidenziato che queste particelle, in cui sono comprese anche quelle emesse parlando o tossendo, possono essere implicate nell'8-33% delle infezioni ospedaliere (3).

Le goccioline e le polveri, a causa della loro alta velocita' di sedimentazione ricadono sulle superfici orizzontali: quelle di piu'grandi dimensioni ricadono entro

Tabella 1. Caratteristiche delle particelle di origine biologica aereodisperse e sistemi di campionamento adatti al loro rilevamento (1).

	POLVERE	GOCCIOLINE	DROPLET NUCLEI
FONTI	materiali solidi cellulosa pelle pollini	fluidi da naso e gola	residui solidi di goccioline evaporate
PRODUZIONE	attrito	atomizzazione di fluidi	evaporazione di goccioline
MODO DI DISPERSIONE	diffusi in aria da superfici. Possono ricadere a 1 m dalla fonte di emissione	diffusi in aria da tosse e starnuti. Possono diffon- dersi a distanze superiori a 10 m	sospesi in aria. Permangono per lunghi periodi
DIAMETRO	10 - 100 μm	< 100 μm	2 - 10 μm
VELOCITA' DI SEDIMENTAZIONE	5 - 300 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$	< 300 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$	< 5 $\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$
SISTEMI DI CAMPIONAMENTO	Campionatori centrifughi e rotanti	Campionatori rotanti e aspiranti	Campionatori aspiranti e filtranti

1 m dalla fonte di emissione. Le goccioline piu' piccole, durante la diffusione in aria possono seccarsi e formare quindi droplet-nuclei.

La contaminazione dell'aria indoor e' stata messa in relazione a fattori stagionali (4), meteorologici (5), oltre che a condizioni strutturali e microclimatiche specifiche (6,7) dei diversi ambienti considerati (abitazioni, scuole, uffici, ospedali, fabbriche, ecc.). E' stato dimostrato infatti (8) che la ventilazione e la circolazione di aria negli edifici sono fattori che possono indurre un incremento nella densita' microbica dell'aria interna. Riley (9) ha dimostrato il ruolo del sistema di ventilazione in una epidemia di morbillo in una scuola elementare. Houk (10) ha evidenziato come la circolazione d'aria in una nave era implicata in una epidemia di tubercolosi.

Studi quantitativi sulla concentrazione microbica di spazi intramurali sono stati principalmente svolti in ospedali (11), scuole (12) e fabbriche (13). Uno studio sulla qualita' dell'aria di condotte di ventilazione di un edificio con appartamenti di abitazione ha messo in rilievo una concentrazione media di batteri di circa $17,2 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$ di aria (Unita' Formanti Colonia per metro cubo). Se si considerava l'aria totale immessa (circa $400 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$), la densita' batterica media era, all'interno delle stanze, circa pari a 10^6 UFC per giorno. I valori ottenuti sono

stati comunque considerati delle sottostime dei valori reali in quanto la tecnica di campionamento non era efficiente al 100%. I cocci gram positivi erano i più frequenti (73.5%), seguiti dai bacilli gram positivi (14.2%), bacilli gram negativi (12.0%) e cocci gram negativi (0.3%). Non era stato possibile evidenziare nessun virus in 1200 m di aria (14).

Si deve considerare, comunque che il rilevamento e l'enumerazione dei microrganismi aerogeni dipende da diversi fattori. Primo fra tutti la loro possibilità di sopravvivere nell'aria.

E' stato osservato che la perdita di vitalità degli organismi aerogeni e' il risultato di una serie di fenomeni complessi in cui si individua una prima fase di mortalità che procede rapidamente e dura circa 1 minuto seguita da una seconda in cui il numero di organismi vitali declina esponenzialmente (15, 16).

I fattori che governano la sopravvivenza, e quindi la vitalità dei batteri dispersi nell'aria, sono numerosi. Temperatura, umidità relativa, dimensioni delle particelle, presenza di sostanze tossiche hanno un ruolo fondamentale. E' stato dimostrato che la sopravvivenza e' innanzi tutto in relazione alle dimensioni delle particelle aerodisperse su cui sono adesi i microrganismi stessi (17).

Sembra inoltre essere di particolare importanza l'influenza dell'umidità (18).

Gli studi effettuati a questo proposito sono numerosi, anche se discordanti. Alcuni ricercatori (19) hanno evidenziato che per i bioaerosol sono letali alti livelli di umidità relativa, mentre altri hanno dimostrato che sono i livelli intermedi quelli in cui si creano le condizioni più sfavorevoli per la sopravvivenza (20). Altri studiosi (21) sostengono, invece, che queste si associano a basse percentuali di umidità relativa. Ricerche svolte da Whathes e coll. (22) avrebbero messo in evidenza una correlazione tra sopravvivenza di Escherichia coli aerogeno e umidità relativa per cui risulterebbe che questo genere viene eliminato nell'aria tanto più rapidamente quanto più questa è secca e alta la temperatura. Infatti, a temperatura intorno ai 15°C la seconda fase (riduzione esponenziale) si svolgerebbe, con il 50% di umidità relativa, 6 volte più velocemente che a livelli più elevati di umidità. A valori equivalenti di umidità relativa, ma a 30°C, la riduzione sarebbe 4 volte più veloce che a 15°C.

Allo stesso modo, studi effettuati su Legionella (23) hanno evidenziato che questo microrganismo può essere ancora recuperato dopo aerosolizzazione a diversi valori di umidità dopo più di 2 ore e che sopravvive più a lungo con valori di umidità relativa intorno al 65%.

Il meccanismo con cui l'umidità influenza la sopravvivenza dei batteri aerodispersi è stato originariamente attribuito alla rapida evaporazione di

acqua libera dalle goccioline di aerosol immediatamente dopo aerosolizzazione e alla diffusione di acqua legata dalla cellula batterica. Tuttavia, Cox (24) ha dimostrato che responsabile degli effetti dell'umidità è la pressione di reidratazione, e non di disidratazione. Una atmosfera umida favorisce la sintesi di RNA, mentre in condizioni di scarsa umidità gli enzimi flavina-legati sono danneggiati dall'azione dell'ossigeno. Tuttavia, l'esistenza di un elevato numero di processi letali concomitanti rende difficile identificarne uno come causa specifica dell'eliminazione di batteri dall'aria.

Gli studi riportati in letteratura sulla sopravvivenza dei virus negli aerosol sono altrettanto discordanti. Anche in questo caso appare evidente una relazione tra sopravvivenza dei virus e valori di umidità relativa e temperatura. Tuttavia sembra che non si possa applicare una semplice generalizzazione in quanto nelle stesse condizioni ambientali ogni tipo di virus si comporta in modo diverso. Infatti, è stato evidenziato da Ijaz e coll. (25) che alcuni virus ad RNA sopravvivono più a lungo a bassi valori di umidità relativa, mentre per altri dello stesso gruppo si verifica l'effetto opposto. Indagini effettuate su rotavirus (agenti eziologici di gastroenteriti) hanno permesso di osservare che questi hanno migliori capacità di sopravvivenza a medi e bassi valori di umidità in contrasto ad altri virus non

capsulati, come i poliovirus: i rotavirus si comporterebbero quindi come molti tipi di virus capsulati (26).

In ogni caso sembra che le particelle virali aerogene rimangano vitali per un considerevole lasso di tempo (piu' di 24 ore) in condizioni favorevoli. Pur tuttavia queste condizioni non sono le stesse per tutti i virus ed essi mostrano, rispetto ai batteri, una piu'ampia variabilita'di comportamento in relazione ai diversi parametri ambientali (27).

1. ASPETTI SANITARI

Gli effetti sulla salute da parte dei bioaerosol contaminanti dell'aria degli ambienti interni possono essere di 3 tipi: patogeni, allergici, e tossicologici.

E' epidemiologicamente provata la trasmissione aerea delle malattie infettive per contatto diretto o tramite droplet-nuclei da persona a persona (agenti virali dell'influenza e delle malattie esantematiche, agenti batterici della tubercolosi e della meningite). La trasmissione di patogeni diffusi per contaminazione di strutture e di apparecchiature degli ambienti interni e' invece dimostrata solo per le infezioni da Legionella sp. (28).

Oltre a batteri e virus anche alcuni funghi saprofiti possono comportarsi da opportunisti patogeni e causare affezioni respiratorie e sistemiche che possono diffondersi dai polmoni ad altri organi (Aspergillus fumigatus). Alcune specie di Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Cladosporium e Phialophora, riconosciute patogene, sono state isolate da impianti di umidificazione (29).

L'incidenza delle infezioni trasmesse dall'aria degli ambienti interni dipende da diversi fattori: il numero di persone infette che diffondono aerosol infettivi, il numero di persone suscettibili alla infezione, la permanenza all'esposizione, la ventilazione dell'ambiente, il potere

di sedimentazione delle particelle aerosolizzate e la sopravvivenza dei patogeni nell'aria.

La contaminazione dell'aria degli ambienti indoor e' stata piu' frequentemente e facilmente messa in relazione a reazioni di tipo allergico. I funghi sono le particelle aeree piu' comunemente associate a reazioni allergiche di ipersensibilizzazione che possono variare per intensita' e tipo: riniti allergiche, asma bronchiale e alveoliti allergiche. Queste ultime sono considerate le piu' gravi reazioni da sostanze sensibilizzanti comportando una grande produzione di anticorpi IgG, ipersensibilita' cellulare e formazione di granulomi interstiziali con progressiva distruzione degli alveoli (30). I funghi aerogeni, che includono spore e frammenti ifali, sono considerati tra i maggiori contaminanti aerei degli ambienti indoor (31).

In tabella 2 e' riportato il numero medio di funghi isolati in abitazioni in cui erano presenti o no problemi di contaminazione aerea da funghi (32).

Studi micologici dell'aria hanno dimostrato che le muffe che si trovano nell'aria indoor sono generalmente il riflesso della flora di base e spesso sono in basse concentrazioni rispetto all'aria esterna (32). E' stato evidenziato (33) che nelle stanze di appartamenti di abitazione i problemi relativi a presenza di muffe generalmente si verificano dopo prolungati o ripetuti danni dovuti a perdita o stagnamento di acqua su una varieta' di

Tabella 2. Numero medio di funghi rilevati durante analisi di campioni di aria raccolti in abitazioni in cui erano presenti (+) o no (-) problemi di contaminazione aerea (32).

GENERE	numero medio di funghi m^{-3} di aria	
	(+)	(-)
<u>Alternaria</u>	65	47
<u>Aspergillus</u>	591	16
<u>Beauveria</u>	43	12
<u>Cladosporium</u>	759	253
<u>Fusarium</u>	30	18
<u>Mucor</u>	34	12
Miceli non sporigeni	138	32
<u>Penicillium</u>	5512	219
<u>Rhinochladiella</u>	0	12
<u>Ulocladium</u>	0	24
non identificati	158	24
media totale $\cdot m^{-3}$ (generi più frequentissimi)	814	61
media totale $\cdot m^{-3}$ (generi isolati)	7595	597

materiali organici che possono comprendere legno, tessuti, tappeti, carta da parati, libri, pelli, infissi, paglia, vimini. Un'umidità relativa tra il 25% e il 70% influisce favorendo la concentrazione di spore fungine. In condizioni normali, nell'ambiente aereo esterno, la densità di spore fungine è superiore rispetto all'aria indoor. È stato tuttavia osservato, che, in condizioni di scarsa igiene o in presenza di alti valori di umidità, la concentrazione può aumentare notevolmente e risultare maggiore che all'esterno del 200-400% (29).

I dati ottenuti da analisi aeromicologiche di ambienti domestici danno informazioni a livello di genere e hanno mostrato variazioni stagionali e geografiche (34). Cladosporium, Alternaria, Epicoccum, Penicillium e Aspergillus sono quelli prevalenti.

Uno studio condotto negli USA sull'aria di 68 appartamenti ha segnalato una media di 437,7 spore m⁻³, con valori compresi tra 36 e 5984. Cladosporium è stato identificato in tutti i campionamenti. Gli altri generi isolati includevano Penicillium (91,2%), Alternaria (87%), Epicoccum (52,9%), Aspergillus (48,5%) e Drechslera (38,2%) (33).

Le patologie da ipersensibilità sono state anche associate alla presenza di altri microrganismi. In particolare, la cosiddetta febbre da umidificatori è stata attribuita ad Attinomiceti termofili (Thermoactinomyces

vulgaris) (35) le cui spore sono di dimensioni inferiori o uguali a 1 μm e ad amebe di diverse specie (Acanthamoeba e Naegleria) (36, 37) con spore di dimensioni superiori o uguali a 7 μm . Anche lieviti come Sporotrix e Geotricum sono stati segnalati come colonizzatori di impianti di vaporizzazione (38).

Per quanto attiene l'aspetto tossicologico dei bioaerosol c'è da considerare che alcuni funghi sono in grado di produrre potenti micotossine. Mentre, però sono conosciuti gli effetti sulla salute da ingestione di micotossine, nulla si sa su quelli dovuti alla loro inalazione. Funghi come Aspergillus fumigatus e Aspergillus parasiticus sono patogeni, tossigeni e allergici. Le loro spore contengono micotossine anche spesso a concentrazioni molto basse. Stachybotris, Fusarium, Trichotecium, Trichoderma, Aeromonium, Cylindrocarpon e Myrothecium producono tossine che possono dare luogo a immunosoppressione, lesioni gastrointestinali, soppressione epatopoietica e delle funzioni riproduttive (39). Un esempio di possibile intossicazione da micotossine è quella associata al fungo Stachybotris che è un saprofita che cresce su substrati ricchi di cellulosa con basse concentrazioni di azoto e su substrati poveri come polvere e carta delle pareti. Comunque, funghi tossigeni non sempre producono le loro tossine, specialmente in vitro.

Numerosi studi (40, 41, 42) sulla contaminazione aerea

sono stati effettuati in ambienti ospedalieri. Infatti l'analisi della qualita'dell'aria, in questi ambienti, risulta di maggiore interesse se si considera che microrganismi virulenti o patogeni occasionali possono venire in contatto con individui immunodepressi e quindi piu'facilmente esposti alle infezioni. Indagini svolte (43, 44, 45) hanno evidenziato che polveri diffuse nell'aria dai pavimenti, dai letti, dai vestiti e dalla pelle dei pazienti sono importanti veicoli di trasporto per i microrganismi, come anche aerosol da nebulizzatori e da apparecchi di suzione (46, 47).

Oltre al rischio per la salute legato alla diffusione di funghi e lieviti (Aspergillus, Cryptococcus), negli ambienti ospedalieri, risulta di particolare interesse anche quello legato ai batteri aerogeni. E' documentato (48, 49, 50) che possono verificarsi infezioni del tratto respiratorio per inalazione di Staphylococcus aureus, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, mentre e' difficile dimostrare l'evenienza, tramite l'aria, di contaminazione di ferite e ustioni. E' stato suggerito (51) che Staphylococcus aureus puo' rappresentare l'1% degli organismi totali diffusi nell'aria degli ambienti ospedalieri. Quindi e' stato calcolato che 17,5-35 UF particelle·m⁻³ (Unita'Formanti particelle per metrocubo) di aria campionata possono essere significative nel causare infezioni da parte di questo microrganismo. Campionamenti

di aria effettuati durante le pulizie dei pavimenti di luoghi di degenza, con una scopa, hanno dimostrato che, in questo caso, si ha un aumento del 500% del numero di organismi risospesi (52).

Nei campionamenti di aria risulta difficile mettere in evidenza la presenza di bacilli gram negativi, come anche di Pseudomonas aeruginosa, anche in prossimità di pazienti con infezioni respiratorie da gram negativi per la rapidità con cui questi microrganismi sono eliminati nell'aria per disidratazione (49). Allo stesso modo, anche se la diffusione aerea di Neisseria meningitidis è la principale via di trasmissione di questa infezione, risulta altrettanto difficile ritrovare questo microrganismo nell'aria anche in presenza di persone infette (53).

Soprattutto negli ospedali aerosol provenienti da torri di raffreddamento e da sistemi di aria condizionata sono stati considerati responsabili della diffusione di Legionella (54). Aerosol originati dalla nebulizzazione di acqua dai diffusori delle docce sono stati causa di infezioni in pazienti immunocompromessi (55). Comunque, il rischio di contrarre l'infezione da parte di individui sani risulta piuttosto basso, forse per la sua alta dose infettiva. Il genere Legionella è considerato responsabile della maggior parte delle malattie respiratorie in ambienti ospedalieri. È stato stimato che dall'1 al 13% di tutte le polmoniti che si verificano negli ospedali degli USA,

Canada, UK, Germania sono provocate da organismi appartenenti a questo genere, la cui trasmissione, in alcuni casi, e' stata correlata direttamente alla qualita' dell'aria fornita da sistemi di condizionamento (56).

Nonostante alcune riserve circa la sensibilita' e specificita' dei sistemi di monitoraggio, i seguenti valori si possono considerare come indicatori di riferimento delle concentrazioni limite in ambienti indoor provvisti di sistemi di condizionamento d'aria:

- 1×10^3 unita' formanti colonia (UFC) in un m^3 di aria
- 1×10^6 funghi per g di polvere
- 1×10^5 batteri o funghi per mL di acqua stagnante

Livelli superiori a tali valori non implicano necessariamente condizioni insalubri o a rischio (57).

2. SISTEMI DI CAMPIONAMENTO

Come recentemente raccomandato dalla ACGIH (American Conference of Governamental Industrial Hygienists) (58), in generale, il campionamento di bioaerosol dovrebbe essere effettuato solo nei casi in cui si evidenzi una relazione biunivoca tra alcune patologie e contaminazione biologica: febbre da umidificatori, pneumoniti da ipersensibilit , asma allergica e rinite allergica. Quando venga accertata questa possibilit  e' consigliabile eseguire un sopralluogo nell'ambiente interessato allo scopo di individuare le potenziali sorgenti di bioaerosol contaminanti quali: materiali organici umidi o superfici porose umide. Inoltre, dovrebbero essere ispezionati tutti i siti che possono rappresentare potenziali serbatoi o amplificatori di crescita di microrganismi, specialmente nei sistemi di condizionamento dell'aria (HVAC) (Heating Ventilating - Air Conditioning).

Nel caso in cui venga identificata una presumibile sorgente di aerosol durante l'ispezione, e' opportuno, anche per le successive analisi di campioni aerei, raccogliere ed analizzare campioni "in massa" dalle presunte sorgenti (ad esempio, campioni di acqua stagnante, di depositi dai serbatoi di drenaggio, ecc.).

L'obiettivo primario del campionamento dell'aria e' l'identificazione della sorgente da cui si originano i

microrganismi contaminanti in modo tale da provvedere le necessarie azioni correttive. Inoltre, può risultare utile per l'individuazione della sorgente contaminante la classificazione dei microrganismi rilevati durante il campionamento.

Il campionamento delle particelle di origine biologica aerodisperse costituisce un problema notevolmente complesso a causa della considerevole ampiezza del loro intervallo dimensionale ed della loro enorme eterogeneicità qualitativa. Per quanto riguarda la valutazione del rischio legato all'esposizione a bioaerosol contaminanti, sarebbe necessario avere come riferimento dei protocolli che stabiliscano quale tipo di campionamento sia il più idoneo per ciascun genere di microrganismo da ricercare e come dovrebbero essere interpretati i risultati.

I sistemi di campionamento attualmente disponibili possono essere suddivisi in 3 principali categorie: campionatori gravitazionali, impattori inerziali e sistemi di filtrazione.

Il sistema gravitazionale si basa sia sull'effetto di caduta per gravità, sia su effetti inerziali. Le particelle aeree vengono in tal caso lasciate depositare su determinate superfici di raccolta (generalmente superfici di vetro ricoperte di sostanze adesive o terreni di coltura in piastra). Poiché l'aria per sua natura non è mai ferma, la gravità in realtà ha un ruolo molto poco importante in

questo tipo di campionamento. In effetti, questo sistema può essere considerato come un campionatore inerziale con una componente gravitazionale che varia inversamente con la velocità dell'aria e la sua turbolenza (59). Questo metodo non è mai volumetrico, produce dati quantitativamente errati per le spore di maggiori dimensioni (sovrastima), e sottostima le particelle più piccole che sono di maggiore interesse sanitario. Sfortunatamente esso è tuttora il metodo più usato negli USA per il campionamento delle particelle biologiche aerodisperse (59).

I sistemi basati sull'impatto inerziale sfruttano, per il campionamento dell'aria, il moto delle particelle. Essi operano in condizioni di velocità dell'aria costanti muovendo le superfici di raccolta nell'aria stessa a velocità costante oppure accelerando l'aria per aspirazione meccanica (pompa o ventole) sulla superficie di raccolta fissa. In questa categoria sono compresi gli impattori rotanti, gli impingers a liquido e gli impattori aspiranti.

Gli impattori rotanti o centrifughi hanno una efficienza di campionamento che varia con le dimensioni delle particelle. Essa è soddisfacente per particelle biologiche con dimensioni comprese tra 20 e 10 μm (59). Particelle di queste dimensioni comprendono tutti i tipi di pollini e una grande varietà di spore fungine, tra cui molte allergogene. Tuttavia una gran parte di patogeni umani non vengono raccolti con efficienza sufficiente da questi strumenti.

Gli impingers a liquido aspirano l'aria attraverso un liquido, spesso dopo l'impatto della corrente di aria stessa su di una superficie solida sommersa. Essi sono particolarmente utili per il campionamento di particelle vitali e germinabili in situazioni di elevate concentrazioni di aerosol poiche' il fluido puo' essere posto in coltura dopo diluizione. Inoltre, questo metodo puo' essere utile per il recupero di sostanze solubili (micotossine, endotossine, antigeni) e per il campionamento di batteri e virus.

Gli impattori aspiranti comprendono i campionatori a fenditura (slit samplers, come il Burkard spore trap), e gli impattori a cascata (come il tipo Andersen).

Nel primo tipo l'aria viene aspirata attraverso uno stretto orifizio, che serve ad accelerare il flusso d'aria, situato vicino ad una superficie ricoperta di materiale adesivo o a piastre contenenti terreni di coltura. Il tipo Burkard raccoglie le particelle su di un tamburo mobile permettendo in tal modo campionamenti temporali sequenziali. Negli impattori a cascata l'aria entra attraverso una apertura relativamente grande, quindi viene accelerata gradatamente per passaggi successivi attraverso piastre con fori via via piu' piccoli. L'impatto avviene su superfici poste sotto ogni piastra perforata. Le particelle piu' grandi impattano nelle zone a velocita' piu' bassa e le piu' piccole dove la velocita' del flusso d'aria e'

maggiore. In tal modo viene a realizzarsi un campionamento a selezione dimensionale. L'impiego di questi campionatori ha mostrato che, mentre le spore fungine tendono a viaggiare come singole unita', i batteri molto piccoli sono invece trasportati sotto forma di dispersioni aderenti a materiali di supporto (goccioline, scaglie di pelle, ecc.) (59). I campionatori inerziali, in genere, sono abbastanza efficienti per un largo spettro di tipi di particelle, tuttavia possono verificarsi delle perdite: per deposizione di particelle piu'grandi lungo le pareti degli strumenti, oppure a causa del superamento delle superfici di impatto da parte delle particelle piu'piccole.

Un sistema di campionamento che opera sulla base di meccanismi di impatto inerziale, di diffusione e di setacciamento, e' costituito dalla filtrazione dell'aria su adatti mezzi filtranti o membrane. L'efficienza di raccolta delle particelle aerodisperse in questo caso e'molto vicina al 100%. Il sistema di campionamento e'molto semplice ed e' realizzato usando un portafiltro di adatte dimensioni, in cui e' inserito un mezzo filtrante (membrana) di adeguata porosita', connesso con una pompa aspirante. I campioni d'aria, raccolti su membrana, possono essere posti in coltura direttamente sul terreno di crescita specifico per l'organismo che si vuole ricercare ed esaminati poi al microscopio, oppure possono essere rimossi dalla membrana per lavaggio (eluizione) e quindi analizzati con varie

tecniche: microscopiche, biologiche, biochimiche e immunologiche.

Nella figura 1 vengono schematicamente riportate le dimensioni delle principali specie di particelle di origine biologica .

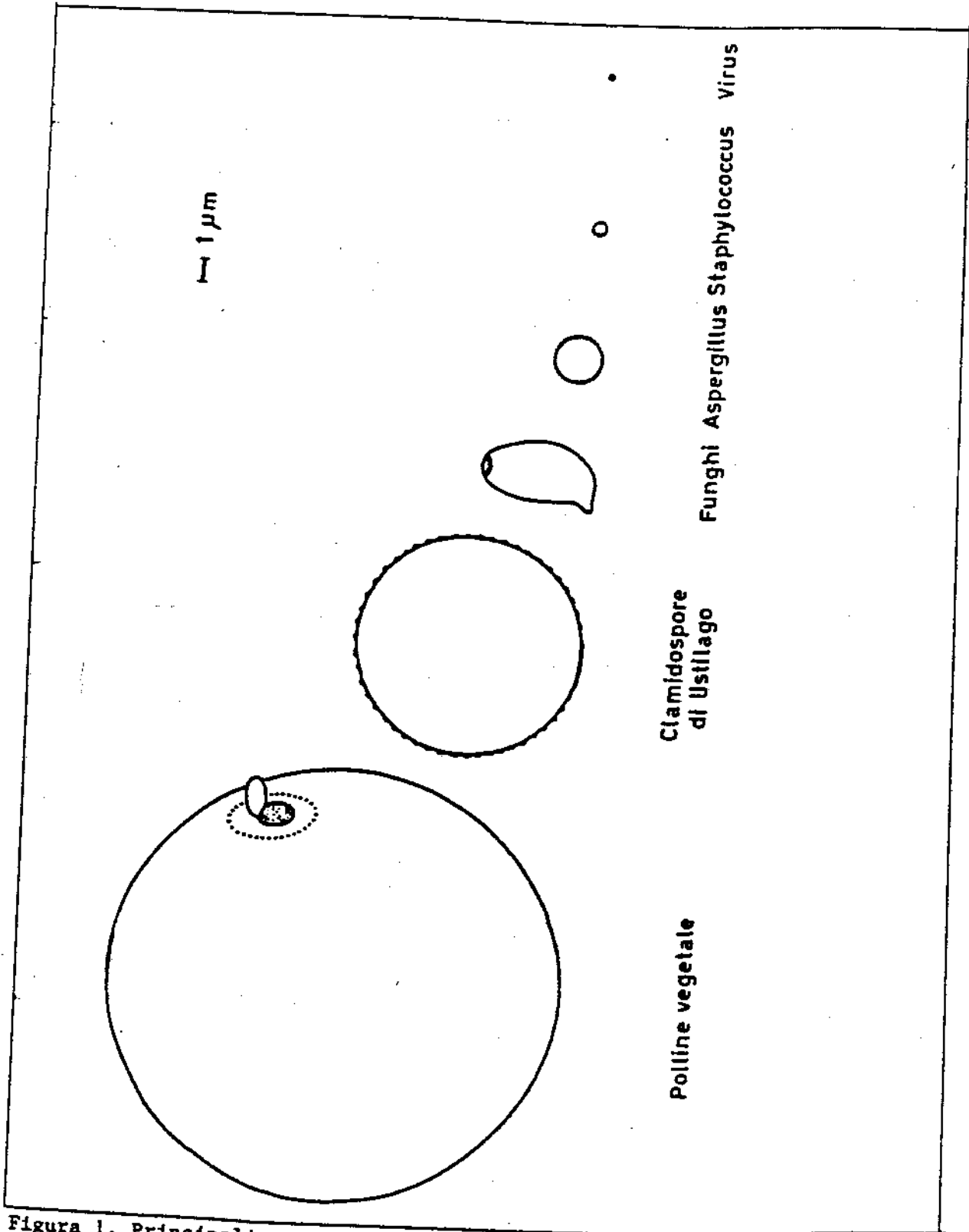


Figura 1. Principali specie di particelle di origine biologica e loro dimensioni.

3. ANALISI DEI CAMPIONI

Le principali metodologie di indagine di campioni di aria comprendono metodi di coltura diretta e analisi biologiche, biochimiche ed immunologiche.

Con la metodica colturale diretta gli organismi raccolti sul terreno di coltura, direttamente o per mezzo di membrane filtranti, si evidenziano e si enumerano perche' si sviluppano in colonie (UFC) e possono essere identificati macroscopicamente, microscopicamente o mediante test biochimici. Questa metodica puo'essere utilizzata quando il campionamento e' effettuato con campionatori filtranti e aspiranti (tipo Andersen) e per enumerare i campioni raccolti dopo eluizione da membrana oppure per analizzare polveri e tamponi prelevati dalle superfici.

Il metodo dell'enumerazione diretta e' adatto per evidenziare, oltre alla flora aerodispersa contaminante di base, anche agenti infettivi come stafilococchi e funghi patogeni, come Aspergillus fumigatus. Purtroppo, spesso le colture in terreno agarizzato forniscono sottostime delle densita'reali dei microrganismi presenti negli aerosol. Le cause sono diverse:

- alcuni organismi hanno richieste di crescita molto specializzate. E' il caso di Legionella che, con i metodi attualmente in uso, non si e' in grado di evidenziare routinariamente. Infatti, per quanto il terreno per la sua

crescita possa essere selettivo e specifico, il suo rilevamento quantitativo dà spesso risultati negativi o valori più bassi di quelli reali.

- alcuni microrganismi producono sostanze che possono rallentare o inibire del tutto la crescita di altri, che quindi non vengono rilevati.

- una densità eccessiva di microrganismi sul terreno di coltura agarizzato può drasticamente ridurre, quantitativamente, il recupero degli organismi ricercati sia per la presenza di fattori solubili di inibizione, sia per inibizione "da contatto" dovuta a crescita adiacente.

- con i campionamenti effettuati mediante filtrazione dell'aria, la disidratazione e la conseguente morte dei microrganismi durante il periodo di campionamento possono diventare significativi e ridurre, in questo caso, il numero.

Nella ricerca dei saprofiti presenti nell'aria, come avviene nel caso delle analisi microbiologiche delle acque o di qualsiasi campione di natura ambientale, si possono utilizzare terreni che permettano la crescita ad una larga fascia di microrganismi (conta batterica totale). In questo caso la temperatura di incubazione deve essere mirata a mettere in evidenza microrganismi di specifica natura ambientale (25° - 30° C), o di più ristretta origine umana (30° - 37° C). Per il rilevamento dei funghi, patogeni e non,

sono consigliati i terreni specifici che vengono di routine usati nella microbiologia ambientale. Il Sabouraud, il Malt extract agar e il rosa bengala, parallelamente all'uso di temperature adatte alla crescita di questi microrganismi (22° - 25° C), sono ritenuti i piu' idonei (58).

In tabella 3 sono riportati i metodi e le caratteristiche di campionamento dei bioaerosol (59).

Microrganismi specifici, quali stafilococchi, attinomiceti, enterobatteri, Legionella, richiedono l'uso di metodiche e di terreni selettivamente adatti per la loro ricerca.

L'enumerazione e la successiva identificazione delle colonie cresciute sul terreno di coltura dovrebbe essere effettuata secondo le indicazioni specifiche date dalla casa di produzione del terreno stesso. In ogni caso puo' risultare utile utilizzare microrganismi di controllo (Cladosporium cladosporioides, Staphylococcus epidermidis, Bacillus subtilis) per saggiare l'efficienza e la sterilita' dei terreni adoperati.

Le colonie batteriche e fungine possono essere contate mediante contacolonie o piu' accuratamente mediante esame microscopico (10x). Per la identificazione e classificazione dei funghi e' comunque necessaria un'esperienza in materia.

Bioaerosol contaminanti la cui presenza nell'aria, e non necessariamente la loro vitalita' (pollini, spore non

Tabella 3. Sistemi di campionamento dei bioaerosol (59).

TIPO DI CAMPIONATORE	PRINCIPIO OPERATIVO	FLUSSO ($l \cdot min^{-1}$)	DURATA DEL CAMPIONAMENTO CONSIGLIATA	QUANTITA' MINIMA DETERMINABILE (UFC)
1. Campionatore centrifugo	Impatto su strisce di terreno agarizzato	40(7)	$\frac{1}{2}$ min	50
2. Impingera di vetro	Impatto su liquido	12.5	30 min	3
3. Impattori a fenditura (elc) (a, b)	Impatto su piastre di terreno agarizzato poste su superficie rotante	30 - 700	dipende dal modello e dalla circostanze	
4. Impattori a cascata :				
i - a stadio singolo portatile (b)	Impatto su agar in piastra rodak	90 o 185	$\frac{1}{2}$ o $\frac{1}{3}$ min	22 o 16
ii - a stadio singolo (a o c)	Impatto su agar in piastra (100 mm)	28	1 min	35
iii - a 2 stadi (c)	Impatto su 2 piastre di terreno agarizzato (100 mm)	28	1 min	35
5. Portafiltri e filtri (cassette) (a)	Filtrazione su membrana	1 - 2	15 - 60 min	8 - 33

1. Non può essere calibrato. Piccolo, portatile, utile come indicatore.
2. I funghi richiedono un agente tensioattivo. Utile per un ampio intervallo di concentrazioni.
3. Fornisce dati di concentrazione nell'arco di tempi lunghi. Ingombrante. Funziona a corrente alternata.
4. i - L'efficienza è circa il 40% di quella del tipo 3. Portatile, utile come indicatore.
 - ii - Efficienza simile al tipo 3. Relativamente ingombrante. Funziona a corrente alternata.
 - iii - Come il precedente, ma divide il campione in 2 frazioni: aerosol respirabili e non respirabili.
5. Possibili sottostime per essiccamento. Portatile, basso costo, utile come indicatore.

a - richiede pompa aspirante e flussimetro.

b - la pompa è incorporata e il flusso deve essere calibrato.

c - richiede una pompa da vuoto con un flusso di $15 l \cdot min^{-1}$.

germinanti), e' sufficiente a provocare effetti sulla salute (ipersensibilita' o tossicita'), creano problemi per quanto riguarda la loro evidenziazione. In questo caso possono essere utilizzati metodi biologici che permettono di evidenziare, la presenza di contaminanti in base a reazioni di sensibilita' da parte di individui allergici a specifici antigeni.

La ricerca di micotossine che hanno una ben definita struttura molecolare e un comportamento noto nei sistemi di cromatografia puo' essere effettuata con indagini biochimiche (60). Per questi studi possono anche essere utilizzati metodi immunologici come l'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) e il RAST (radio-allergosorbent test) (61) che sfruttano la specificita' antigene-anticorpo che viene messa in evidenza anche tramite sostanze radioattive (62).

Si deve considerare che, sebbene, questi metodi siano attualmente i piu' efficaci nel rilevamento di biocontaminanti dell'aria, possono essere utilizzati solo nei casi in cui antigeni o tossine siano noti e devono essere quindi usati per la loro ricerca quantitativa (58).

4. STRATEGIE DI CAMPIONAMENTO E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

In generale e' il tipo particolare di bioaerosol a cui e' rivolto l'interesse che determina la scelta del sistema di campionamento da utilizzare in associazione con la specifica tecnica analitica. Per quanto e' possibile, nel caso di indagini mirate a specifici tipi di contaminanti biologici, occorre identificare il particolare metodo di campionamento che permetta di massimizzare la raccolta di un particolare organismo o gruppo di organismi.

Per i batteri, in genere, risultano appropriati sistemi di campionamento come gli impinger a liquido o gli impattori a cascata.

I campionatori a fessura (slit), cosi' come la filtrazione su vari mezzi filtranti, associati ad una tecnica di analisi ottica, vengono considerati piu' vantaggiosi nel conteggio totale di spore fungine ed, in particolar modo, nel caso di spore di grandi dimensioni (*Alternaria*) (58).

Tuttavia, poiche' non esiste un solo metodo di campionamento-analisi che riesca a soddisfare tutte le specifiche esigenze, e' necessario adottare diversi approcci, anche se nessuno di essi puo' risultare completamente idoneo. In tal modo e' possibile la determinazione di un vasto spettro di microrganismi

aerodispersi combinando l'uso di diversi sistemi campionatori, come quelli a fessura, gli impattori a cascata dotati di piastre con diversi mezzi di coltura, i filtri e gli impingers (58).

La preparazione di un corretto programma di campionamento ed analisi richiede l'impostazione dei volumi da prelevare. Considerando che nella maggior parte delle situazioni 50 UFC non costituiscono un problema di contaminazione, il volume del campione deve essere tale da provvedere una sensibilita' intorno alle 50 UFC. Contemporaneamente occorre evitare un sovraccarico, specialmente nel caso dei campionatori attrezzati con piastre di terreno di coltura. Inoltre, per ogni mezzo di coltura e tipo di campionatore usato in ciascun punto di prelievo e' opportuno raccogliere un numero minimo di campioni in doppio o in triplo.

Il luogo e il periodo di campionamento devono essere stabiliti tenendo conto delle potenziali sorgenti e scegliendo gli opportuni siti per i valori di riferimento da usare nel confronto tra concentrazioni esterne ed interne.

Di particolare importanza e' la scelta dei vari mezzi di coltura e del loro controllo di qualita' e sterilita', nonche' dei tempi e dei modi di incubazione. Nel caso dell'analisi mediante conteggio diretto di colonie o di spore sono importanti i criteri adottati nella conta (58).

Benche' attualmente non esistano valori di concentrazione standard di riferimento ai quali e' possibile associare un determinato rischio, tuttavia possono essere considerate alcune indicazioni sperimentali. Normalmente, durante la stagione dello sviluppo, la concentrazione di spore fungine aerodisperse nell'aria esterna oscilla tra 1000 e 100000 per m^3 . La concentrazione negli ambienti interni non contaminati, in cui l'unica sorgente e' rappresentata dall'aria esterna, dovrebbe essere di norma circa meno di un terzo della concentrazione presente all'esterno. Inoltre, le specie dei componenti aerodispersi all'interno dovrebbero essere qualitativamente le stesse che all'esterno (58).

Per la valutazione del contributo dell'aria esterna alla popolazione interna di bioaerosol, il metodo attualmente piu' idoneo e utilizzato e' quello della classificazione delle specie piu' maggiormente rappresentate dal punto di vista quantitativo nei due tipi di ambiente (58).

La pianificazione statistica delle indagini ambientali mirate alla determinazione dei bioaerosol resta un compito molto complesso e difficile. Cio' e' dovuto alla interazione di diversi fattori specificamente ambientali con fattori tipici dei sistemi di campionamento, nonche' delle diverse specie di microrganismi. Le stesse sorgenti sono caratterizzate da una variabilita' complicata che produce relazioni non lineari e distribuzioni difficilmente

normali. Da cio' consegue che nella maggior parte dei casi e' necessario utilizzare, per quanto possibile, metodi statistici non parametrici per il trattamento dei dati (58).

CONCLUSIONI

I bioaerosol possono essere una delle principali cause del decadimento di qualità dell'aria degli ambienti indoor.

Sebbene le problematiche inerenti la contaminazione biologica dell'aria siano state affrontate da tempo, non si hanno informazioni definitive confermate da risultati significativi e le conoscenze al riguardo sono ancora, per lo più, limitate e, in alcuni casi, frammentarie e contraddittorie.

Infatti, nonostante la crescente attenzione rivolta al problema, relativamente scarse sono le informazioni sulle fonti, sui rischi di esposizione ai biocontaminanti aerei da parte degli individui, nonché sugli effetti per la salute a breve e lungo termine.

Per stabilire una strategia globale di sviluppo e di approfondimento del problema è necessario quindi che le ricerche e gli studi vengano indirizzati in più direzioni.

L'agenzia americana per la protezione dell'ambiente (EPA) (63) ha pubblicato recentemente un rapporto in cui vengono raccomandate delle linee di indagine da sviluppare e seguire nell'ambito dello studio sulla biocontaminazione aerea che possono essere considerate come un utile riferimento.

Risulta innanzitutto indispensabile mettere a punto tecniche standardizzate di campionamento e di analisi e, in

base a queste, stabilire quali siano le concentrazioni normali di fondo dei piu' importanti e comuni biocontaminanti dell'aria indoor nei diversi ambienti (ospedali, industrie, uffici, scuole, abitazioni).

In seguito, in considerazione delle concentrazioni di fondo della flora batterica e fungina aerodispersa, i risultati ottenuti dalle indagini svolte potranno essere utilizzati per costituire la base di riferimento per effettuare valutazioni di rischio per la salute delle popolazioni esposte.

Dovra' quindi essere presa in considerazione l'influenza sulla bioflora indoor di base che possono avere clima, condizioni geografiche, fattori fisico-chimici (umidita', temperatura, ventilazione, presenza di sostanze di natura chimica), tipi di edifici, sistemi meccanici di aereazione, superfici interne (mobili, tappeti, moquette) e valori esterni dei biocontaminanti.

A questo riguardo sara' necessario tentare di stabilire relazioni dose-effetto per costituire la base scientifica da cui derivare eventuali valori limite di riferimento oltre i quali il rischio di esposizione diventerebbe significativo: da qui lo sviluppo di programmi epidemiologici.

Inoltre, le ricerche dovranno approfondire gli studi sull'influenza dell'uso di sistemi di aereazione e ventilazione forzata (HVAC) nel favorire l'accumulo e la

diffusione di agenti aerei infettivi e allergici (funghi, Legionella), che sono riconosciuti quali contaminanti in ambienti indoor forniti di questi sistemi.

Schematicamente le necessita'prioritarie per sviluppare la ricerca nel campo della biocontaminazione aerea possono essere cosi'riassunte (63):

1. Stesura di rapporti che orientino la ricerca su contaminanti biologici aereodispersi ed effetti sulla salute ad essi associati.
2. Messa a punto di metodologie di campionamento ed analisi standardizzate.
3. Identificazione delle piu' importanti classi di biocontaminanti aerei e definizione delle loro concentrazioni naturali di fondo negli ambienti indoor.
4. Studio del contributo dei sistemi HVAC sulle concentrazioni indoor dei biocontaminanti.

La realizzazione di programmi di questo tipo costituisce il necessario fondamento scientifico a cui fare riferimento per impostare piani di intervento mirati alla eliminazione di eventuali rischi per la salute e soprattutto alla loro prevenzione.

BIBLIOGRAFIA

1. AYLIFFE G.A.J., LOWBURY E.J.L., 1982 - Airborne infection in hospital. J. Hospit. Infect., 3: 217-240.
2. VANINI G.C., CALAMO-SPECCHIA F.P., STELLA C., BUCCI R., LA PIETRA L., SCANZANO P., PIERSANTI S., TURNATURI C., 1988 - Sul problema dei rischi connessi all'impiego della moquette in ambienti per ufficio: primi risultati di alcune esperienze. Ig. Mod. 90: 5-24.
3. KUDSIN R.B., 1985 - Hygienic significance of microorganisms in the hospital environment. In: Indoor Air and human health, R.B. Gammage and S.V. Kaye Eds. Lewis Publishers. Chelsea, UK.
4. SOLOMON W.R., 1975 - Assessing fungus prevalence in domestic interiors. J. Allergy Clin. Immunol. 56: 235-242.
5. HIRSCH D.J., HIRSCH S.R., AND KALBFLEISCH J.H., 1978 - Effect of central air conditioning and meteorologic factors on indoor spore counts. J. Allergy Clin. Immunol. 62: 22-26.
6. LA FORCE F.M. 1984 - Airborne infections and modern building technology. Swedish Council for building research 1: 109-127.

7. FANGER P.O. AND O. VALBJORN eds. 1979 - Indoor climate. Proc. of the First International Indoor Climate Symposium, WHO. Copenhagen, Danish Building Research Institute.
8. AGER B.P. AND TICKNER J.A. 1983 - The control of microbiological hazards associated with air-conditioning and ventilation systems. Ann. Occup. Hyg. 27: 341-358.
9. RILEY R.L. 1979 - Indoor spread of respiratory infection by recirculation of air. Bullet. Physiopathol. Respir. 15: 699-705.
10. HOUK V.N. 1980 - Spread of tuberculosis via recirculated air in a naval vessel: the Byrd study. Ann. New York Acad. Science 353: 10-24.
11. ALTEMEIR W.A., BURKE J.F., PRUITT B.A.jr., SANDUSKY W.R. eds. 1976 - Manual of Control of Infection in surgical patients, J.B. Lippincott Publisher, Philadelphia, Toronto.
12. GAVESSEN S., LARSEN L., GYNTELBERG F. AND SKOV P. 1986 - Demonstration of microorganisms and dust in schools and offices. Allergy 41: 520-525.
13. SMID T., SCHOKKIN E., BOLEIJ S.M. AND HEEDERIK D. 1989 - Enumeration of viable fungi in occupational environments: a comparison of samplers and media. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. 50: 235-239.

14. SIMARD C., TRUDEL M., PAQUETTE G. AND PAYMENT P. 1983
- Microbial investigation of the air in an apartment
building. J. Hyg. Camb. 91: 277-286.
15. BENBOUGH J.E. 1967 - Death mechanisms in airborne
Escherichia coli. J. Gen. Microbiol. 47: 325-333.
16. POON C.P.C. 1966 - Studies on the instantaneous death
of airborne Escherichia coli. J. Epidemiol. 84: 1-9.
17. MAY K.R. AND DRUETT H.A. 1968 - A microthread
technique for studying the viability of microbes in a
simulated airborne state. J. Gen. Microbiol. 51: 353-
366.
18. ARUNDEL A.V., STERLING E.M., BIGGIN J.H. AND STERLING
K.D. 1986 - Indirect health effects of relative
humidity in indoor environment. Environ. Health
Perspect. 65: 351-361.
19. DEOME K.B. 1944 - The effect of temperature and
humidity, and glycerol vapour on viability of air-
borne bacteria. Am. J. Hyg. 40: 239-250.
20. FERRY R.M. AND MARPLE T.G. 1954 - Studies on the loss
of viability of stored bacterial aerosols. J. Infect.
Dis. 95: 142-159.
21. WELLS W. AND ZAPPASODI P. 1942 - The effect of
humidity on betastreptococci (group C) atomized into
air. Science 96: 277-278.

22. WATHES C.M., HOWARD K. AND WEBSTER A.J.F. 1986 - The survival of Escherichia coli in an aerosol at air temperature of 15 and 30 C and a range of umidities. J. Hyg. Camb. 97: 489-496.
23. HAMBLETON P., BROSTER M.G., DENNIS P.J., HENSTRIDGE R., FITZGEORGE R. AND CONCAN J.M. 1983 - Survival of virulent Legionella pneumophila in aerosol. J. Hyg. Camb. 90: 451-460.
24. COX C.S. 1970 - Aerosol survival of Escherichia coli B disseminated from the dry state. Appl. Microbiol. 19: 604-607.
25. IJAZ M.K., SATTAR S.A., JOHNSON-LUSSENBURG C.M., AND SPRINGTHORPE V.S. 1985 - Effect of relative humidity, atmospheric temperature, and suspending medium on the airborne survival of human rotavirus. Can. J. Microbiol. 31: 681-685.
26. IJAZ M.K., SATTAR S.A., JOHNSON-LUSSENBURG C.M., AND SPRINGTHORPE V.S. 1985 - Comparison of airborne survival of calf rotavirus and poliovirus I (Sabin) aerosolized as a mixture. Appl. Environ. Microbiol. 49: 289-293.
27. COUCH R.B. 1981 - Viruses and indoor air pollution. Bull. N.Y. Acad. Med. 57: 907-921.
28. TAYLOR A.G. 1981 - Legionnaires' disease: the facts. Med. Lab. World 12-14.

29. HOLST P.E., COLEMAN E.D., SHERIDAN J.E., O'DONNELL T.V. AND SUTTHOFF P.T. 1983 - Asthma and fungi in the home. NZ Med. J. 96: 718-720.
30. PEPYS J. 1969 - Hypersensitivity diseases of the lungs due to fungi and organic dusts. Monogr. Allergy, vol.4, Basel.
31. EVANS H.C. 1972 - Thermophilous fungi isolated from air. Trans Br. Mycol. Soc. 59: 516-526.
32. KOMADA A. M., MCGEE R.I. 1986 - Airborne microbial contaminants in indoor environments. Naturally ventilated and conditioned homes. Arch. Environ. Health 45: 306-311.
33. BURGE H.A. 1985 - Indoor sources for airborne microbes. In: Indoor air and human health. Gammage R.B., S.V. Kaye eds. Lewis Publishers Inc., Chelsea.
34. KOZAK P.P. AND GALLUP J. 1985 - Endogenous mold exposure: environmental risk to atopic and nonatopic patients. In: Indoor air and human health. In : Gammage R.B., S.V. Kaye eds. Lewis Publishers Inc., Chelsea.
35. SEABURY J., SALVAGGIO J., DOMER J., K.FINK J., AND KAWAI T. 1973 - Characterization of thermophilic actinomycetes isolated from residential heating and humidification systems. J. Allergy Clin. Immunol. 51: 161-173.

36. EDWARDS J.H., GRIFFITHS A.J., MULLINS J. 1980 - Protozoa as sources of antigen in humidifier fever. Nature 206: 438 - 439.
37. MRC Symposium 1977 - Humidifier fever. Torax 32: 653-663.
38. U. S. Environmental Protection Agency. 1987 - Indoor Air Quality. Implementation plan. Appendix A: Preliminary Indoor Air Pollution Information Assessment, EPA 600/8-87.
39. PURCHASE I.F.H. 1971 - Symposium on "Mycotoxins in human health." Mc Millan Press, London.
40. GROSCHEL D.H. 1980 - Air sampling in hospitals. Ann. N.Y. Acad. Science 353: 230- 240.
41. HAMBRAEUS A., BENGTSSON S., AND LAURELL G. 1978 - Bacterial contamination in a modern operating theatre. 3. Importance of floor contamination as a source of airborne bacteria. J. Hyg. Camb. 80: 169-174.
42. NAKHLA L.S. AND CUMMINGS R.D. 1981 - A comparative evaluation of a new centrifugal air sampler (RCS) with a slit air sampler (SAS) in a hospital environment. J. Hosp. Infect. 2: 261-266.
43. WHYTE W., VESLEY D. AND HODGSON R. 1976 - Bacterial dispersal in relation to operating theatre clothing. J. Hyg. Camb. 76: 367-378.

44. NEWCASTLE REGIONAL HOSPITAL BOARD 1962 - Blankets and air hygiene. A report of a trial of blanket disinfection. J. Hyg. Camb. 60: 85-94.
45. MORRIS A.H. 1973 - Nebuliser contamination in a burns unit. Am. Rev. Respir. Dis. 107: 802-808.
46. BENEDIKTSOTTIS E. AND HAMBRAEUS A. 1982 - Dispersal of non-sporeforming anaerobic bacteria from the skin. J. Hyg. Camb. 88: 487-500.
47. BLENKHARN J. I. AND HUGHES V.M. 1982 - Suction apparatus and hospital infection due to multiply - resistant Klebsiella aerogenes. J. Hosp. Inf. 3: 173-178.
48. HAMBRAEUS A. 1973. Dispersal and transfer of Staphylococcus aureus in an isolation ward for burned patients. J. Hyg. Camb. 71: 787-797.
49. LOWBURY E. J. L., THOM B.T., LILLY H.A., BABB J.R. AND WHITTALL K. 1970 - Sources of infection with Pseudomonas aeruginosa in patients with tracheostomy. J. Med. Microbiol. 3: 39 - 56.
50. MARPLE E.C. 1958 - Transmission of group A streptococci, III. The effect of drying on the infectivity of the organism for man. J. Hyg. Camb. 56: 280- 287.
51. NOBLE W.C. AND DAVIES R.R. 1965 - Studies on the dispersal of staphylococci. J. Clin. Pathol. 18: 16-19.

52. COLLINS B.J., WILKIN S.M. AND AYLIFFE G.A.J. 1972 - Dry cleaning of hospital floors. British Hosp. J. Social Serv. Rev. 3: 1-12.
53. ARTENSTEIN M.S. AND MILLER W.S. 1966 - Air sampling for respiratory disease agents in army recruits. Bacteriol. Rev. 30: 571-575.
54. FISHER-HOCK S.P., BARTLETT C.L., TOBIN J.O., GILLETT M.B., NELSON A.M., PRITCHARD J.E., SMITH M.G., SWANN R.A., TALBOT J.A. AND THOMAS J.A. 1981 - Investigation and control of Legionnaires' disease in a district general hospital. Lancet I: 922-926.
55. HOVIG B. 1981 - Lower respiratory tract infections associated with respiratory therapy and anaesthetic equipment. J. Hosp. Infect. 2: 301-315.
56. AGER A.P., TICKNER J.A. 1985 - The control of microorganisms responsible for Legionnaires' disease and humidifier fever. Occup. Hyg. Monogr. 14, Science Reviews Ltd U.K.
57. BRIEF R.S. AND BERNATH T. 1988 - Indoor pollution: Guidelines for prevention and control of microbiological respiratory hazards associated with air conditioning and ventilation systems. Appl. Ind. Hyg. 3: 5-10.
58. BURGE H.A., CHATIGNY M., FEELEY J., KREISS K., MOREY P., OTTEN J., PETERSON K. 1987 - Bioaerosols. Appl. Ind. Hyg. 2: R10-R16.

59. BURGE H.A. AND SOLOMON W.R. 1987 - Sampling and analysis of biological aerosols. Atm. Environ 21: 451-456.
60. RODERICKS J.V., HESSELTINE C.W. AND MEHLMAN M.A. 1977 - Mycotoxins in human and animal health. Pathotox Publ., Dark Forest South, III.
61. TIPIRNEMI P., MOORE B.S., HYDE J.S., SCHAUF V. 1980 - IgE antibodies to mycoplasma pneumoniae in asthma and other atopic diseases. Ann. Allergy 45: 1-7.
62. SEPULVEDA R., LONGBOTTOM J. AND PEPYS J. 1979 - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IgG and IgE antibodies to protein and polysaccharide antigens of Aspergillus fumigatus. Clin. Allergy 9: 359-371.
63. U. S. Environmental Protection Agency. 1989 - Rapport to Congress on the Indoor Air Quality. Vol. 3: Indoor Air Pollution Research Need Statement. EPA/400/1-89/001D.

*Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità
e Responsabile scientifico: Francesco Antonio Manzoli*

Direttore responsabile: Vilma Alberani

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, giugno 1990 (n.2) 4° Suppl.