

RESISTENZA DEL SUGHERO CORKPAN AGLI ATTACCHI MICROBICI

*Come si comporta il sughero CORKPAN in presenza di elevato tenore di umidità relativa?
In queste condizioni, favorisce o riduce la proliferazione di muffe? E' soggetto a degenerazione organica?*

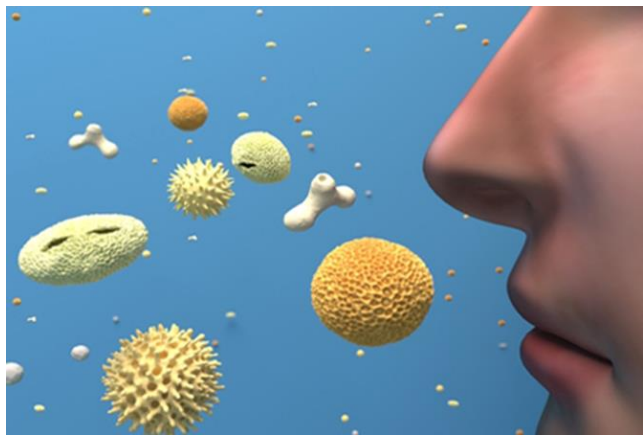
A cura del Dott. Matteo Montanari

PREMESSA

L'uomo contemporaneo, specie nei climi temperati e nei paesi industrializzati, passa la maggior parte della sua vita all'interno di ambienti confinati.

Per tal motivo l'attenzione alla qualità dell'aria ambientale indoor è diventata sempre più alta e le ricerche scientifiche e le innovazioni tecnologiche in questo settore negli ultimi anni si sono moltiplicate.

Una delle componenti principali dell'aerosol in questi ambienti è data da particelle biologiche che comprendono microrganismi, pollini, parti d'insetti e frammenti cellulari di natura fungina, vegetale o batterica, che nell'insieme prendono il nome di bioaerosol.



La componente fungina nell'aria, in particolare, se presente in alta quantità, può comportare diversi effetti negativi sulle persone che frequentano locali contaminati. Fin dagli anni '80 del secolo scorso l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha riconosciuto l'esistenza di due principali quadri patologici legati agli ambienti residenziali: La **“sindrome da edificio malato”** (SBS, dall'inglese) e le **“malattie correlate all'edificio”** (BRI).

Queste patologie si distinguono da quelle normalmente intese come “malattie umane a trasmissione aerea” (come l'influenza, la tubercolosi o la meningite), in quanto il contagio non avviene tra individui ma da una fonte ambientale presente all'interno dei locali in cui essi vivono.

Sempre secondo l'OMS, nelle regioni industrializzate tra il 10 e il 30% delle nuove abitazioni sono soggette a quadri patologici compatibili con SBS o BRI, mentre un altro studio americano afferma che nel 21 % dei casi l'asma, nei pazienti statunitensi, è correlata ad edifici umidi e malsani.

LE PATOLOGIE ASSOCIATE AD AMBIENTI INDOOR INSALUBRI

Le malattie innescate dai contaminanti biologici dell'aria possono essere di tre tipi: **infettive**, **tossiche ed allergiche** e si possono manifestare con diversa intensità in relazione a vari fattori, tra i quali le condizioni fisiche e la suscettibilità di ciascun individuo.

Tra le **“Malattie correlate all'edificio”** rientrano tutte le patologie infettive e tossiche provocate da batteri e in particolare, muffe ambientali, in primis la **muffa verde** da *Aspergillus fumigatus* e **quella nera** da *Stachybotrys chartarum*. Questi organismi possono portare a vere e proprie **infezioni delle mucose** e del **tessuto polmonare**, soprattutto nei confronti di soggetti deboli come gli anziani o i malati.

Approfondimento n. 14 – Marzo 2019

Problemi meno gravi, ma **molto più frequenti**, sono causati invece dalla presenza nell'aria di **agenti tossici** e allergizzanti, che scatenano anche in soggetti sani diversi tipi di sintomi: riniti, dermatiti, asma allergiche e polmoniti da ipersensibilità.

La particolarità di queste patologie è che sono provocate da **agenti eziologici** spesso non vitali. Esse derivano infatti dalla respirazione di **molecole o frammenti cellulari** prodotti durante il ciclo vitale di diversi organismi, per lo più microrganismi e insetti, che prosperano in qualche nicchia ecologica degli ambienti indoor, come nei climatizzatori, nelle zone umide, nei tappeti e soprattutto su **materiali edili di varia natura** e funzione.

Potremmo immaginarci questa componente dell'aria come una sorta di polvere biologica, molto difficile da monitorare e da trattare. Per alcuni epidemiologi questa stessa polvere è anche causa o concausa, oltre che delle suddette patologie da intossicazione e allergia, della già citata "Sindrome da Edificio Malato" che provoca, soprattutto in ambienti da ufficio con sistemi di climatizzazione centralizzata, un quadro sintomatologico complesso, che va dall'irritazione delle mucose, alla congiuntivite, spossatezza e nausea.

L'ECOSISTEMA" INDOOR

Un gran numero di specie fungine possono colonizzare i materiali edili quando sulla superficie o all'interno dei substrati è presente una sufficiente quantità di **nutrienti e di umidità**. Il nutrimento utile alla crescita fungina può essere sia **esogeno**, cioè provenire dall'esterno e depositarsi sulla superficie, oppure **essere intrinseco** al materiale in forma di colle, resine, gomme, finiture ecc.

Quando il tenore nutrizionale è sufficiente, il fattore limitante principale per le muffe è la **disponibilità di acqua**. Questa può essere presente nei materiali in diverse forme, liquida o in forma di vapore, legata o libera, e può provenire da fenomeni di infiltrazione, risalita o condensa, raggiungendo tenori idrici variabili.

Tra le muffe più **frequentemente** isolate da **materiali edili** ad alto tenore idrico (a causa di allagamenti o infiltrazioni) possiamo annoverare le già citate *Aspergillus fumigatus* e *Stachybotrys chartarum* e a tenori idrici leggermente inferiori *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, ecc.

Esistono infine alcune **muffe biodeteriogene**, dette xerofile (dal greco amanti dell'aridità) che crescono invece a tenori idrici relativamente bassi. Queste muffe riescono a svilupparsi sui materiali grazie a micro condense che si generano in ambienti con poca ventilazione che superano di poco il 65% di umidità relativa ambientale. Tra queste possiamo annoverare *Scopulariopsis* e alcune specie di *Penicillium*, ma soprattutto diverse specie di *Aspergillus*, tra cui *A. parasiticus*, *A. restrictus* e *A. versicolor*.

MATERIALI RESISTENTI

La **crescita fungina sui materiali edili** è dunque una delle principali sorgenti di **inquinamento biologico indoor** e rappresenta una delle maggiori cause di **malattie respiratorie** nell'uomo. Per prevenire lo sviluppo di questi organismi molte imprese che operano nel settore edile hanno sviluppato e proposto sul mercato prodotti con proprietà antimicrobiche.

Secondo il Dipartimento per l'Energia statunitense, il miglioramento dei materiali ad uso abitativo e la loro diffusione nel mercato ridurrebbe i costi sanitari e aumenterebbe la produttività delle persone con mansioni indoor, stimando un guadagno annuale per la comunità tra i 30 e 150 miliardi di dollari e una diminuzione nella popolazione tra il 10 e il 30 %

delle malattie di natura respiratoria (infezioni polmonari, asma, rinite ecc.) e del 20 – 50 % per quanto riguarda la Sindrome da Edificio Malato.

Molte strategie e approcci sono stati proposti per ridurre la suscettibilità (biorecettività) dei materiali alla contaminazione fungina. Tra queste l'eliminazione o riduzione dai materiali di substrati organici, l'introduzione di composti antimicrobici (biocidi) oppure l'uso di materiale per natura scarsamente biorecettivo, se non antimicrobico di per sé.

LA NORMATIVA DI RIFERIMENTO PER I TEST DI RESISTENZA

Diversi produttori che operano nell'edilizia pubblicizzano materiali edili dalle presunte proprietà antimicrobiche. Spesso tali proprietà **non sono supportate** da nessun test scientifico o nei migliori dei casi sono presentati valori di resistenza provenienti da semplici test qualitativi, che in quanto tali, basandosi su mere osservazioni visive, hanno il limite di essere arbitrari e approssimativi.

Andando oltre alle semplici sigle altisonanti delle procedure di riferimento ed entrando nel dettaglio dei metodi impiegati, è frequente imbattersi in risultati provenienti da test condotti con un metodo validato su materiali diversi rispetto a quelli per i quali il test viene eseguito, oppure saggiando organismi completamente avulsi dal contesto in cui quei materiali vengono impiegati.

Tra i metodi più frequentemente utilizzati nel settore edile possiamo annoverare:

ASTM D3273: Test di resistenza alla crescita fungina su superfici di rivestimento in cella climatica

ASTM D2020: Resistenza alla muffa di carta e cartongesso

ASTM G 21: Procedure standard per la determinazione di resistenza alle muffe di polimeri sintetici

ASTM C1338: Test standard per la determinazione di resistenza ai funghi di materiale isolante e rivestimenti

Tutti i metodi elencati soffrono di tre **fondamentali criticità**: come si è detto si basano su **valutazioni visive** e dunque arbitrarie, sono relative a specifiche categorie di prodotti e quindi **poco versatili**, hanno una **durata troppo breve** per poter saggiare la resistenza a organismi a lenta crescita, come ad esempio molte muffe xerofile biodeteriogene di materiali edili.

IL TEST ASTM D6329-98

Per superare le limitazioni dei metodi sopra elencati nel 2014 l'EPA, l'Agenzia Statunitense per la Protezione dell'Ambiente (EPA), basandosi sulle linee guida **ASTM D6329 – 98** (Sviluppo di una metodologia per la valutazione delle biorecettività di un supporto edile ad uso indoor in camere ambientali statiche) ha messo a punto e testato una procedura di verifica applicabile ad un ampio range di materiali, eseguibile a **regimi microclimatici variabili** e in grado di rilevare la resistenza dei materiali **anche alle specie fungine a basso tasso di crescita**. Soprattutto ha indicato un metodo i cui risultati sono **misurati quantitativamente** e quindi non soggetti a valutazioni arbitrarie.



Questa procedura, in breve, consiste nel sottoporre il materiale test ad una **contaminazione** controllata di organismi fungini biodeteriogeni, specifici per il materiale che s'intende testare, in condizioni microclimatiche che simulano quelle che si possono creare attorno al materiale quando si trova in opera.

Approfondimento n. 14 – Marzo 2019

Un numero adeguato di provini di materiale è introdotto in condizioni asettiche all'interno di camere ambientali sigillate, nelle quali l'umidità è regolata da specifiche soluzioni saline sature. La temperatura a sua volta è regolata collocando le camere all'interno di incubatori termostati.

A precisi intervalli di tempo (solitamente 3 o 4) un numero adeguato di campioni è prelevato e sottoposto ad **analisi microbiologiche colturali** per la quantificazione della biomassa fungina, attraverso la **conta delle unità formanti colonia** (UFC) su substrati di crescita agarizzati. I valori di UFC ai diversi intervalli sono confrontati con il valore iniziale (tempo 0) determinato prima dell'introduzione dei campioni contaminati nelle camere ambientali. A seconda della specie fungina e del materiale che s'intende testare, il test può durare **fino a 12 settimane**, una durata molto superiore a quella normalmente prevista per gli altri test.

Come viene calcolata la resistenza del materiale ad uno specifico organismo biodeteriogeno

Il livello di resistenza di un certo materiale ad una certa specie test è determinato calcolando la **variazione del numero di UFC** (trasformato in unità Log_{10}) dall'inizio della contaminazione (tempo 0) al tempo n (definito dall'operatore) e si calcola in questo modo:

$$\Delta \log_{10} \text{ UFC} = \log_{10} \text{ UFC tempo } n - \log_{10} \text{ UFC tempo } 0$$

Secondo i tecnici dell'EPA una variazione di biomassa fungina sul materiale nel tempo n **maggiore di 1** unità Log indica un **effetto significativo del materiale sulla crescita del fungo**. **Incrementi > 1** indicano suscettibilità del materiale allo sviluppo del fungo test, al contrario **decrementi >1** indicano che il materiale ha specifiche **proprietà antimicrobiche**.

TEST ASTM D6329–98 SUL PANNELLO DI SUGHERO CORKPAN



Nel corso del 2018 Tecnosugheri ha applicato questa procedura di verifica nei confronti del pannello di **sughero espanso CORKPAN**, utilizzato come isolante in edilizia.

Si tratta di un pannello di sughero ottenuto dalla corteccia della quercia da sughero lasciata stagionare, granulata e agglomerata tramite processo termico di espansione/tostatura. La componente principale del pannello è la **suberina**, una **resina altamente idrofobica** prodotta dal fellogeno del fusto e delle radici delle piante legnose come forma di protezione dall'acqua e dagli agenti esterni biologici. La **funzione protettiva della suberina** nei confronti degli attacchi da microrganismi è evidenziata anche dalla sua immediata produzione, a livello di tutti i tessuti compresi i meristemi fogliari, non appena la pianta **entra in contatto** con un organismo patogeno (SAR: resistenza sistemica acquisita).

La presenza nel pannello di sughero di altri composti organici oltre alla suberina, rende comunque potenzialmente suscettibile il materiale agli organismi biodeteriogeni, soprattutto in condizioni di elevata umidità. È stato quindi necessario **verificare la biorecettività** del prodotto alle condizioni stringenti del test ASTM D6329 – 98.

Organismi test

Selezionare l'**organismo test corretto** è un passaggio fondamentale per ogni protocollo di verifica di resistenza. I criteri adottati per la scelta degli organismi più idonei sono i seguenti:

Approfondimento n. 14 – Marzo 2019

- 1) La probabilità con la quale il materiale sottoposto a verifica possa entrare in contatto con l'organismo test quando è in opera
- 2) L'influenza sulla salute umana
- 3) La capacità dell'organismo di crescere e riprodursi sul materiale
- 4) La capacità dell'organismo di agire ai valori di umidità relativa ai quali si intende sottoporre il materiale

A tal riguardo si è scelto di sottoporre il materiale a **due diversi valori di umidità relativa**: un valore **medio-alto, 85%**, che simula la presenza di fenomeni di condensa e diffusione di aria satura e un **valore estremo, 100%**, che simula fenomeni di allagamenti o infiltrazioni d'acqua.



Sono stati quindi selezionati due organismi fungini: ***Aspergillus versicolor*** e ***Stachybotrys chartarum***.

Il primo è un fungo xerofilo capace di svilupparsi a **bassi tenori di UR**, l'altro invece necessita della presenza di **supporti saturi di acqua**. Essi inoltre sono tipici funghi di ambienti residenziali, capaci di attaccare svariati materiali edili, e possono essere pericolosi per la salute umana.

A. versicolor è implicato nei **fenomeni allergici** mentre *S. chartarum* è un **produttore di metaboliti volatili** estremamente tossici nei confronti dell'uomo. Il ceppo di *A. versicolor* utilizzato nel test è stato isolato da intonaco mentre quello di *S. chartarum* da supporti edili provenienti da un archivio alluvionato.

Condizioni del test

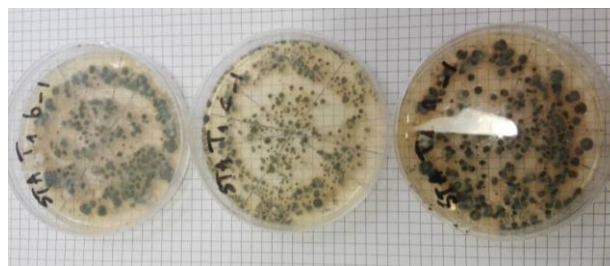
Due serie di provini di CORKPAN della dimensione di 4x4 cm, condizionati alle condizioni microclimatiche previste dal test (fig. 1), sono stati contaminati separatamente con più di 500 mila spore, ottenute da colonie in crescita attiva su agar di *A. versicolor* e *S. chartarum*.

I provini non sono stati previamente sterilizzati, con autoclave o radiazioni ionizzanti, per evitare di modificare le caratteristiche native del materiale. Prima della loro introduzione nelle camere ambientali, tre repliche di ciascuna serie sono state prelevate per la determinazione delle UFC iniziali (Tempo 0) relative a ciascun fungo test. Le camere sono state mantenute costantemente a 25° C (toto a lato) nei due rispettivi range di UR per tutta la durata del test, vale a dire per 12 settimane, per garantire anche ad una specie a lenta crescita come *A. versicolor* di manifestare le sue potenzialità biodeteriogene. Un datalogger di T e UR è stato inserito in ciascuna camera per tutta la durata del test per certificare il rispetto delle condizioni termometriche stabilite (fig. 2).

Il prelievo delle repliche e le analisi colturali sono state eseguite nel corso dell'incubazione **dopo 3, 8 e infine 12** settimane.



Le analisi colturali sono state eseguite sottoponendo i provini, posti in soluzione tampone, ad agitazione forzata ad alta velocità (460 rpm) per l'estrazione delle spore. Le sospensioni sporali così ottenute sono state opportunamente diluite e seminate su terreni agarizzati selettivi per l'enumerazione delle UFC (figura a lato – UFC di *S. Chartarum* su terreno agarizzato).



Ogni determinazione è stata replicata tre volte per poter sottoporre i risultati a test statistici.

RISULTATI

Il materiale CORKPAN ha dimostrato di avere **proprietà antibiotiche** nei confronti di *Stachybotrys chartarum*, fungo responsabile della muffa nera tossica in ambienti alluvionati. Infatti, la sua presenza sul materiale dopo 3 settimane non è **più rilevata** (tab. 1). La tabella riassume la dinamica di crescita e la variazione di biomassa rispetto al valore iniziale (T0) per *Stachybotrys chartarum*. Insieme alle media sono riportati i valori di deviazione standard.

Aspergillus versicolor, invece, come previsto **crece lentamente** sul materiale. Il valore massimo viene infatti raggiunto dopo 8 settimane. In ogni caso il suo incremento è **ben inferiore** al limite stabilito dall'EPA di un'unità logaritmica. Dopo questo lasso di tempo la sua crescita si arresta, rimanendo costante fino all'ultimo rilievo delle 12 settimane (tab. 2). Si può dunque affermare che il sughero espanso CORKPAN **non favorisce, né sfavorisce** la crescita di questa muffa allergenica.

CONCLUSIONI

Alla luce di questi test, il pannello di sughero espanso CORKPAN, non contenendo collanti chimici/sintetici ed essendo stato sottoposto a processo termico di agglomerazione, si presenta **"neutro"** rispetto alla proliferazione delle muffe testate.

Ciò significa che, anche in caso di patologie edilizie, quali formazioni di condensa superficiale o interstiziale, con presenza anche di **elevati tenori di Umidità Relativa**, il pannello CORKPAN **non è soggetto a degenerazione organica e non partecipa** allo sviluppo di muffe dannose alla salute.

Settimana d'incubazione	<i>S. chartarum</i> 100% UR (Log ₁₀ UFC/provino)	Variazione Log ₁₀ UFC
<i>inoculo iniziale</i>	5,68	-
0	4,95 ± 0,14	-
3	NR	NR
8	NR	NR
12	NR	NR

Tabella 1 *Stachybotrys cartarum*

Settimana d'incubazione	<i>A. versicolor</i> 85% UR (Log ₁₀ UFC/provino)	Variazione Log ₁₀ UFC
<i>inoculo iniziale</i>	5,81	-
0	5,38 ± 0,35	-
3	5,31 ± 0,08	-0,07
8	6,06 ± 0,02	0,68
12	6,06 ± 0,22	0,68

Tabella 2 *Aspergillus versicolor*

BIBLIOGRAFIA

Dean T., Betancourt D. (2014). Microbial Resistant Test Method Development. Office of Research and Development. EPA/600/R-14/152 | January 2014 | www.epa.gov/research

Morey P.R. (1988) Microorganisms in Buildings and HVAC Systems: A Summary of 21 Environmental Studies Proceedings of the ASHRAE Conference on Indoor Air Quality, American Society of Heating, Refrigeration, and Air-Conditioning Engineers, Atlanta, GA, pp 10-24.

Reynolds S.J., Steifel A.J., McJilton C.E. (1990) Elevated Airborne Concentration of Fungi in Residential and Office Environments. American Industrial Hygiene Association Journal, Vol. 51, pp 601-604.

Leese K.E., E.C. Cole, Neefus J.D. (1992) Biocide Mitigation of a Mold Contaminated Building: An Initial Preventive Approach. Proceedings, American Industrial Hygiene Association Annual Meeting, Washington, DC.

Kozak P.P., et al. (1980) Currently Available Methods for Home Mold Surveys. II. Examples of Problem Homes Surveyed, Annals of Allergy, Vol. 45, pp 167-176.

Garrett M.H., Rayment P.R., Hooper M.A., Abramson M.J., Hooper B.M. (1998) Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children, Clinical and Experimental Allergy: 28: 459-467.

Rylander R., Etzel R. (1999) Indoor mold and children's health. Environmental Health Perspectives Supplements:107: 465-517.

Gent J.F., Ren P., Belanger K., Triche E., Bracken M.B., Holford T.R., Leaderer B.P. (2002) Levels of household mold associated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. Environmental Health Perspectives: 110: A781-A786.

Energy Inf. Admin. (1998) A Look at Commercial Buildings in 1995: Characteristics, Energy Consumption, and Energy Expenditures. DOE/EIA-0625(95). Energy Inf. Admin., US Dep. Energy

ASTM D6329-98 (2003) Standard Guide for Developing Methodology for Evaluating the Ability of Indoor Materials to Support Microbial Growth Using Static Environmental Chambers. American Society for Testing and Materials, West Conshohocken, PA

WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. (2009). World health organization

Paba E., Chiominto A., Marcelloni A.M. (2017). Contaminazione fungina in ambienti indoor: rischi per la salute occupazionale. Inail

NOTE BIOGRAFICHE SULL'AUTORE

Matteo Montanari, Biologo professionista. Laureato con lode nel 1996 con una tesi in biologia molecolare applicata alla Botanica. Si dottora in Patologia Vegetale nel 2001 e diventa ricercatore a contratto presso la facoltà di Agraria fino al 2010. Autore di più di 40 articoli in riviste scientifiche nazionali e internazionali, collabora tuttora con la facoltà di Agraria come collaboratore esterno alla ricerca.

Nel 2009 usufruisce di un contributo da parte della Regione Emilia Romagna per sviluppare idee imprenditoriali innovative e ad alto contenuto di conoscenza. Il contributo serve per la creazione di un gruppo di ricerca dal nome Biores (Biodeterioration of cultural heritage: Research & Service) che si occupa principalmente della diagnosi e del monitoraggio degli organismi biodeteriogeni presenti sui Beni Culturali. Nel 2013 nasce la società Biores Art s.r.l. della

Approfondimento n. 14 – Marzo 2019

quale diventa amministratore fino al 2016. Dal 2013 entra a far parte della Commissione Permanente per la Tutela dei Beni Culturali dell'Ordine nazionale dei Biologi e sempre dal 2013 assume la docenza a contratto in "Biologia per il restauro" presso l'Accademia di Belle Arti di Bologna, carica a tutt'oggi ancora attiva. Dal 2011 fa parte del Direttivo del Cesmar7, Centro per lo Studio dei Materiali per il Restauro di Reggio Emilia.

Dal 2010 gestisce un laboratorio privato attraverso il quale offre consulenze, analisi e monitoraggi nel settore ambientale in particolare nel settore della biologia applicata all'edilizia, ai Beni Culturali e alla sicurezza nei luoghi di lavoro.

www.bioresart.it