

Corso di Laurea Magistrale in
“**BIOLOGIA PER LA SOSTENIBILITÀ**”

Anno Accademico 2023-2024



Igiene dell'ambiente e del territorio

Prof.ssa Valeria Di Onofrio

valeria.dionofrio@uniparthenope.it



SIS

Scuola Interdipartimentale
delle **Scienze**, dell'**Ingegneria**
e della **Salute**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE (DIST)

ESEMPI

A₁

Coli fecali/100 mL = 100

Enterococchi/100 mL = 100

Disinfezione



Disinfezione

Filtrazione



Disinfezione

Filtrazione

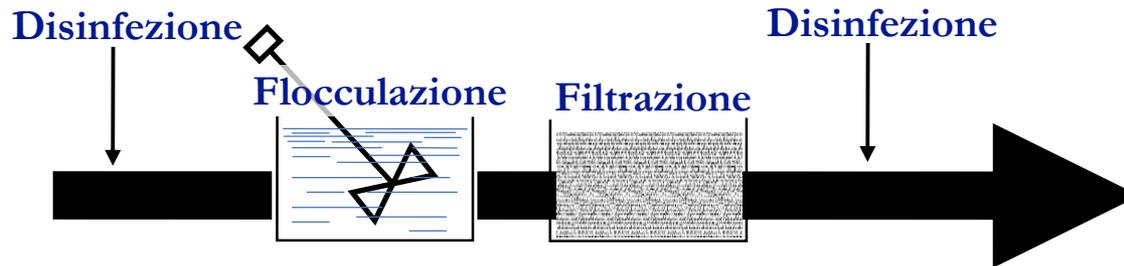
Disinfezione



A₂

Coli fecali/100 mL = 2.000

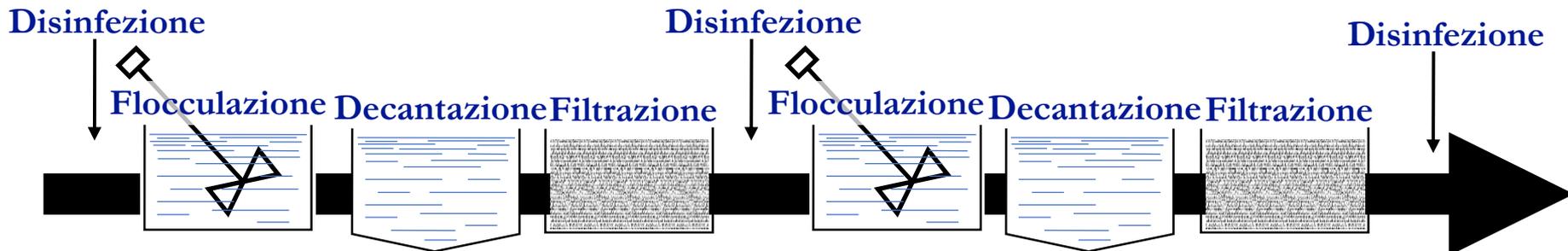
Enterococchi/100 mL = 1.000



A₃

Coli fecali/100 mL = 20.000

Enterococchi/100 mL = 10.000



L'analisi chimica può essere definita come quell'insieme di operazioni volte a mettere in evidenza gli elementi che costituiscono un composto o una miscela di composti.

qualitativa



ha lo scopo di identificare i componenti del campione da analizzare

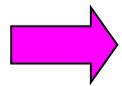
quantitativa



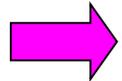
si propone di determinare le proporzioni in cui i componenti sono presenti

Nel caso dell'analisi quantitativa è necessario conoscere anche con esattezza l'equazione stechiometrica e la composizione dei prodotti ottenuti

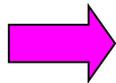
METODI ANALITICI



Metodi gravimetrici



Metodi volumetrici



Metodi chimico-fisici

titolazione

potenziometrici

diffrattometrico

cromatografico

spettrofotometrico



METODI GRAVIMETRICI

La base dell'analisi gravimetrica è la precipitazione. In tale operazione la sostanza da determinare viene trasformata in un composto di solubilità così piccola da poter essere separato per filtrazione in modo praticamente totale.

Nella estrema semplicità concettuale del metodo sta il suo principale vantaggio; conseguentemente risulta assai facile valutare l'accuratezza e l'affidabilità dei risultati ottenuti.

Contrastano con tale vantaggio alcuni grossi svantaggi e precisamente la scarsa selettività, che obbliga spesso a faticose separazioni prima di effettuare la determinazione gravimetrica

METODI VOLUMETRICI

La volumetria si basa sull'impiego di soluzioni a titolo noto che vengono aggiunte, sotto forma di piccole frazioni volumetriche successive e note, alla soluzione che contiene la specie che si vuole dosare.

Titolazioni

Il punto finale della titolazione, dal quale perciò è possibile, sulla base della conoscenza della concentrazione della soluzione titolante, ricavare la concentrazione della soluzione titolata, viene messo in evidenza dalla variazione di colore che subisce un indicatore aggiunto a tale fine alla soluzione.

METODI CHIMICO-FISICI

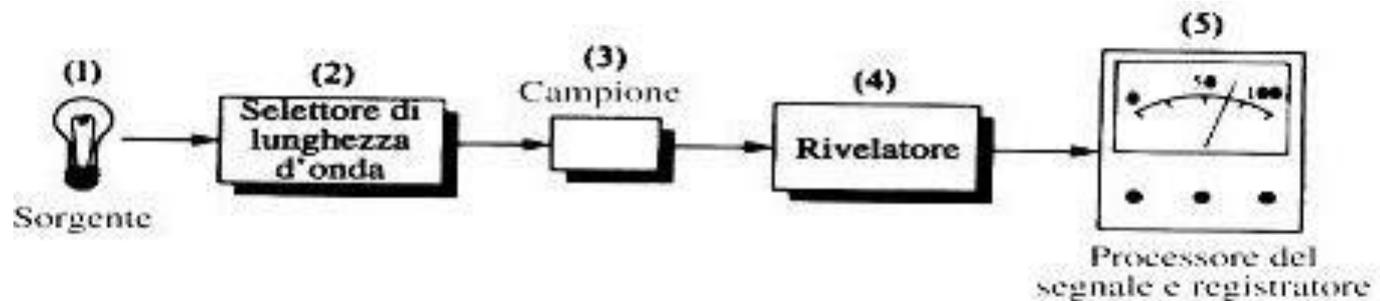
Le grandezze fisiche fondamentali che possono essere misurate direttamente sono in realtà non molte. La maggior parte delle misure che l'analista effettua in laboratorio consiste nel rilevare lo spostamento lineare od angolare di un certo indice su una scala.

Esempio: nell'impiego della buretta si registra la posizione iniziale e finale del menisco; in quello della bilancia il valore dei pesi tarati che dobbiamo aggiungere su uno dei due piatti per riportare a zero l'indice; nelle misure elettriche si misura lo spostamento angolare dell'ago dello strumento impiegato (amperometro, potenziometro, conduttimetro). Le apparecchiature più moderne, tuttavia, impiegano sistemi di rilevazione digitale.

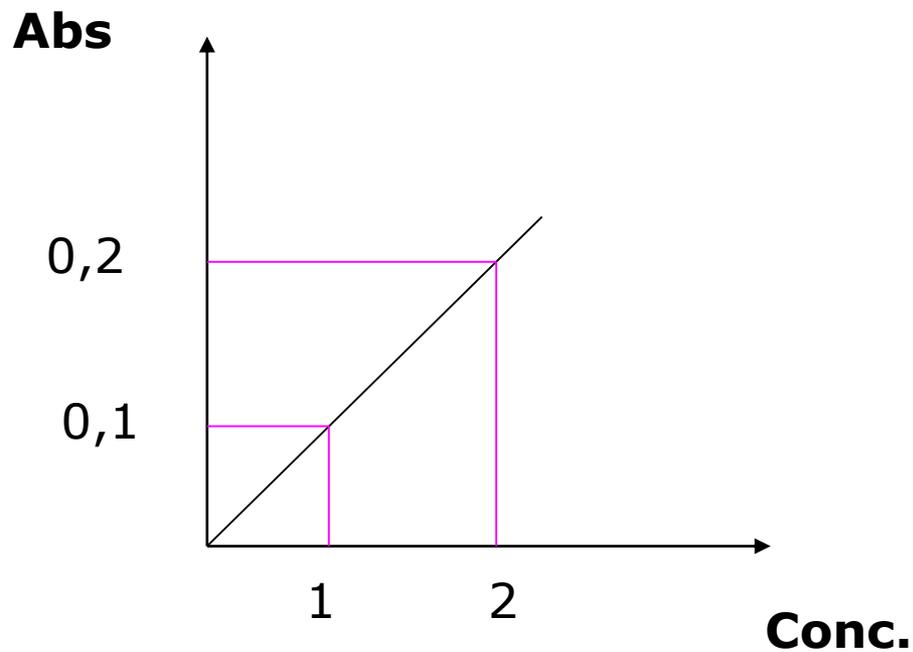
Le parti essenziali di uno spettrofotometro sono:

- la sorgente di energia raggiante (che varia a seconda del campo di lunghezza d'onda prescelto),
- il monocromatore prisma o reticolo,
- le celle che contengono il campione e la soluzione di riferimento (bianco),
- il rivelatore.

Schema di uno spettrofotometro



RETTA DI TARATURA



*Si ottiene
utilizzando
delle soluzioni
a
concentrazioni
note*

PARAMETRI MICROBIOLOGICI

Un'acqua potabile deve essere *batteriologicamente pura* ovvero devono essere assenti i microrganismi patogeni.

I microrganismi patogeni che possono ritrovarsi nell'acqua sono quelli responsabili di infezioni a diffusione oro-fecale immessi nell'ambiente per eliminazione con le feci.

INDICATORE

Parametro o specie chimica, fisica o biologica avente una relazione, razionale o empirica, stretta con un fenomeno o una caratteristica ambientale, in grado di riassumere le caratteristiche generali del fenomeno o del comparto ambientale pur descrivendone solo una parte.

QUALITATIVO

La sua presenza o assenza segnala la presenza o assenza di un dato fenomeno

QUANTITATIVO

La sua presenza in quantità superiore ad un determinato limite segnala la presenza o assenza di un dato fenomeno

CRITERI DI SCELTA DEI PARAMETRI MICROBIOLOGICI DA VALUTARE

**L'OBIETTIVO CONSISTE NEL VERIFICARE
LA POSSIBILITA' DI UN INQUINAMENTO FECAL**

**PERTANTO NON SI RICERCANO DIRETTAMENTE I
PATOGENI (BATTERI, VIRUS, PROTOZOI) CHE SONO
ASSAI NUMEROSI E RICHIEDEREBBERO MOLTE
ANALISI COMPLESSE E MOLTO TEMPO PER
OTTENERE I RISULTATI E CHE – INOLTRE – NON
SEMPRE SONO PRESENTI ANCHE SE VI E' UNA
CONNESSIONE CON ESCRETI UMANI O ANIMALI
MA SI RICERCANO DEGLI “INDICATORI FECALI” CHE
SONO ASSAI PIU' NUMEROSI (n/grammo feci) E SEMPRE
PRESENTI SE VI E' TALE CONNESSIONE**

REQUISITI DI UN GERME INDICE DI CONTAMINAZIONE:

- ✓ avere la stessa nicchia ecologica del patogeno
- ✓ avere la stessa modalità di trasmissione del patogeno
- ✓ essere presente in numero elevato
- ✓ essere facilmente rilevabile

PROPRIETÀ DI UN INDICATORE

RAPPRESENTATIVITÀ

Deve essere correlabile ad un certo fenomeno

Non deve essere mascherato da altri fattori

Deve poter essere applicabile a situazioni diverse

ACCESSIBILITÀ

Deve essere facilmente campionabile e valutabile

Deve avere una soglia di rilevabilità analitica accessibile

AFFIDABILITÀ

Deve essere soggetto al minor numero possibile di errori sistemati

OPERATIVITÀ

Deve essere facilmente applicabile

INDICATORI DI INQUINAMENTO

Nelle feci degli uomini e degli animali sono sempre presenti quali costituenti della flora intestinale, alcuni batteri ad azione prevalentemente saprofitica.

Coliformi fecali

Enterococchi fecali

Escherichia coli

Coliformi totali

Conta batterica a 22°C e 37°C

Clostridi solfito riduttori

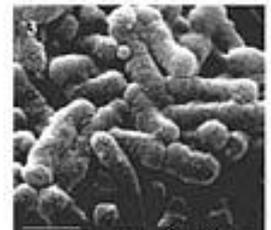
Insieme ad essi possono esserci anche germi patogeni. In nessun caso possono ritrovarsi microrganismi patogeni in assenza dei batteri saprofiti.

COLIFORMI TOTALI

bastoncini Gram (-) aerobi o anaerobi facoltativi, appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriacee*. Batteri lattosio fermentanti con produzione di gas. Presenti nel materiale fecale di origine umana (10^9 UFC/g), colonizzano il suolo, aria, acqua e vegetazione.

Devono risultare assenti in 100 ml di acqua.

Indicatori di qualità delle acque possono fornire indicazioni sull'efficienza dei trattamenti



COLIFORMI FECALI

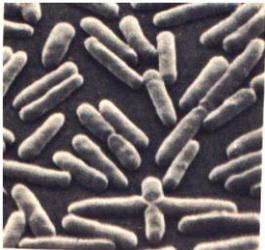
bastoncelli Gram (-) aerobi o anaerobi facoltativi, appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriacee*. Batteri lattosio fermentanti con produzione di gas.

Presenti nel materiale fecale di origine umana (10^8 UFC/g). Termotolleranti.

Sono considerati indicatori di contaminazione in atto.

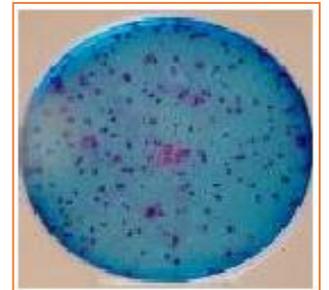


Escherichia coli



È un'ospite normale dell'organismo umano di cui rappresenta la specie predominante nella popolazione batterica residente nell'intestino.

Si ritrova nelle acque di scarico, negli effluenti trattati e nei suoli sottoposti a contaminazioni fecali recenti, dovuti all'uomo, agli animali da allevamento e selvatici, agli uccelli. La sua presenza nell'acqua può essere considerata indizio sicuro di contaminazione fecale. È l'agente eziologico più frequente ed importante di infezioni delle vie urinarie e alcuni stipiti sono agenti eziologici di enteriti.



Enterococchi

cocchi Gram (+) con tendenza a disporsi a catena aerobi anaerobi facoltativi del genere *Enterococcus*. Si trovano nel tratto gastrointestinale di animali a sangue caldo.

Devono risultare assenti in 100 ml di acqua.

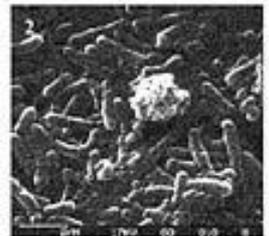


Si moltiplicano raramente nelle acque inquinate e sono più persistenti di *E. coli* e dei batteri coliformi. Il loro valore primario per l'esame della qualità dell'acqua è perciò quello di indicatori aggiuntivi. Inoltre, gli enterococchi sono altamente resistenti all'essiccamento e possono essere utili per il rilevare la contaminazione di acque sotterranee o superficiali causata dal dilavamento del suolo.

Clostridi solfito riduttori

Sono organismi anaerobi e sporigeni, il più caratteristico dei quali *C. perfringens* è normalmente presente nelle feci, sebbene in numeri molto minori di *E. coli*.

Tuttavia i clostridi non hanno esclusivamente una origine fecale e possono derivare da altre fonti ambientali. Le spore dei clostridi possono sopravvivere in acqua molto più a lungo degli organismi del gruppo dei coliformi e, inoltre, resistono alla disinfezione. A causa della loro longevità, trovano il loro impiego migliore come indicatori di contaminazione intermittente o remota. Poiché tendono a sopravvivere e ad accumularsi, possono essere rilevabili per lungo tempo dopo la contaminazione e in punti distanti dalla fonte contaminante.

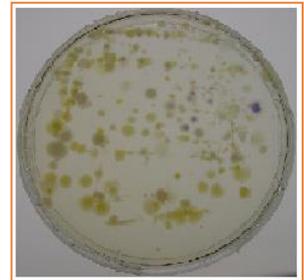


Conta batterica a 22°C e 37°C

Permette di evidenziare la presenza di microrganismi eterotrofi aerobi ed anaerobi facoltativi.

La flora che si sviluppa a 22°C veniva tradizionalmente considerata espressione della flora batterica autoctona dell'acqua, delle specie telluriche.

La flora che si sviluppa a 37°C è invece considerata espressione della presenza di batteri ospiti degli animali a sangue caldo. Attualmente tale distinzione non viene più considerata valida in senso stretto. La carica batterica totale indica la potenzialità che un'acqua ha di sostenere la moltiplicazione microbica. Inoltre la Conta batterica deve essere considerata un indice di qualità integrativo ad altri parametri analitici.



metodi di indagine dei parametri microbiologici

Momenti dell'analisi

- Conteggio
- Isolamento
- Identificazione

conteggio

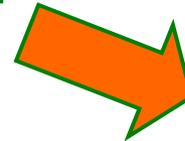
Numerazione in terreno solido



Tecnica di inclusione nella
massa

Tecnica delle membrane
filtranti

Numerazione in terreno liquido



MPN

RICERCA DEGLI INDICATORI

Alcuni esempi

Tecnica delle membrane filtranti:

Parametro

- coliformi totali
- coliformi fecali
- streptococchi fecali
- *Escherichia coli*
- *Spore di clostridi solfito riduttori*

Terreno selettivo

- Endo agar
- Mfc agar
- Kf agar
- Tbx agar
- SPS agar
(anareobiosi)

Metodo delle membrane filtranti



RICERCA DEGLI INDICATORI

Conta batterica a 22°C e 37°C

Tecnica dell'inclusione nella massa

Terreno nutritivo

- Conta batterica totale a 22°C
- Conta batterica totale a 37°C

Nutrient agar

Nutrient agar

TECNICA DI INCLUSIONE NELLA MASSA



1 ml di campione



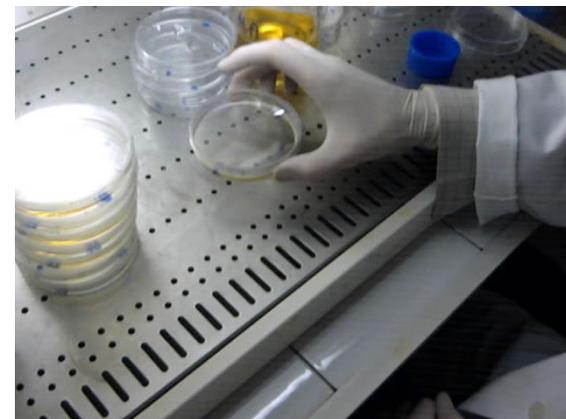
Inoculo del campione

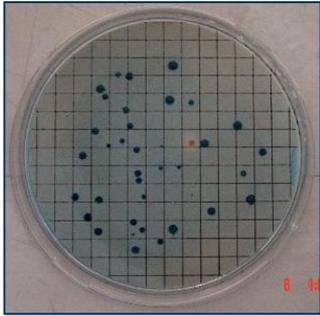


Terreno fuso



mescolare





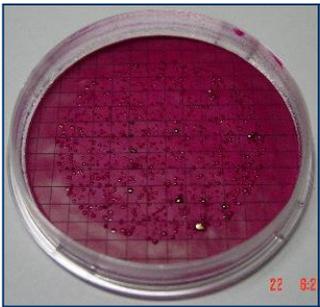
Membran fecal coliform
agar (MFC)



KF agar



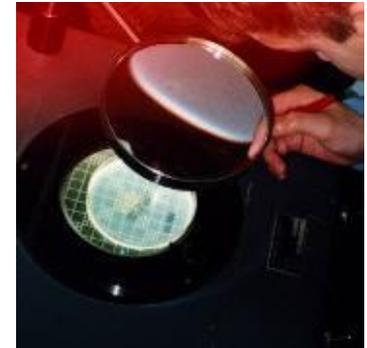
Nutrient
agar



Endo agar les

*Riconoscimento di
colonie con colore e
forma caratteristiche*

identificazione
e
conteggio



- Pre-trattamento del campione a 80°C



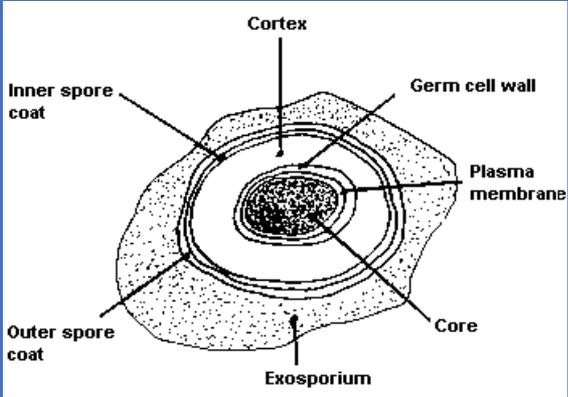
Shock termico che determina la germinazione delle spore



SPS Agar



spore



Giara per anaerobiosi

