

Qualità microbiologica dei sedimenti

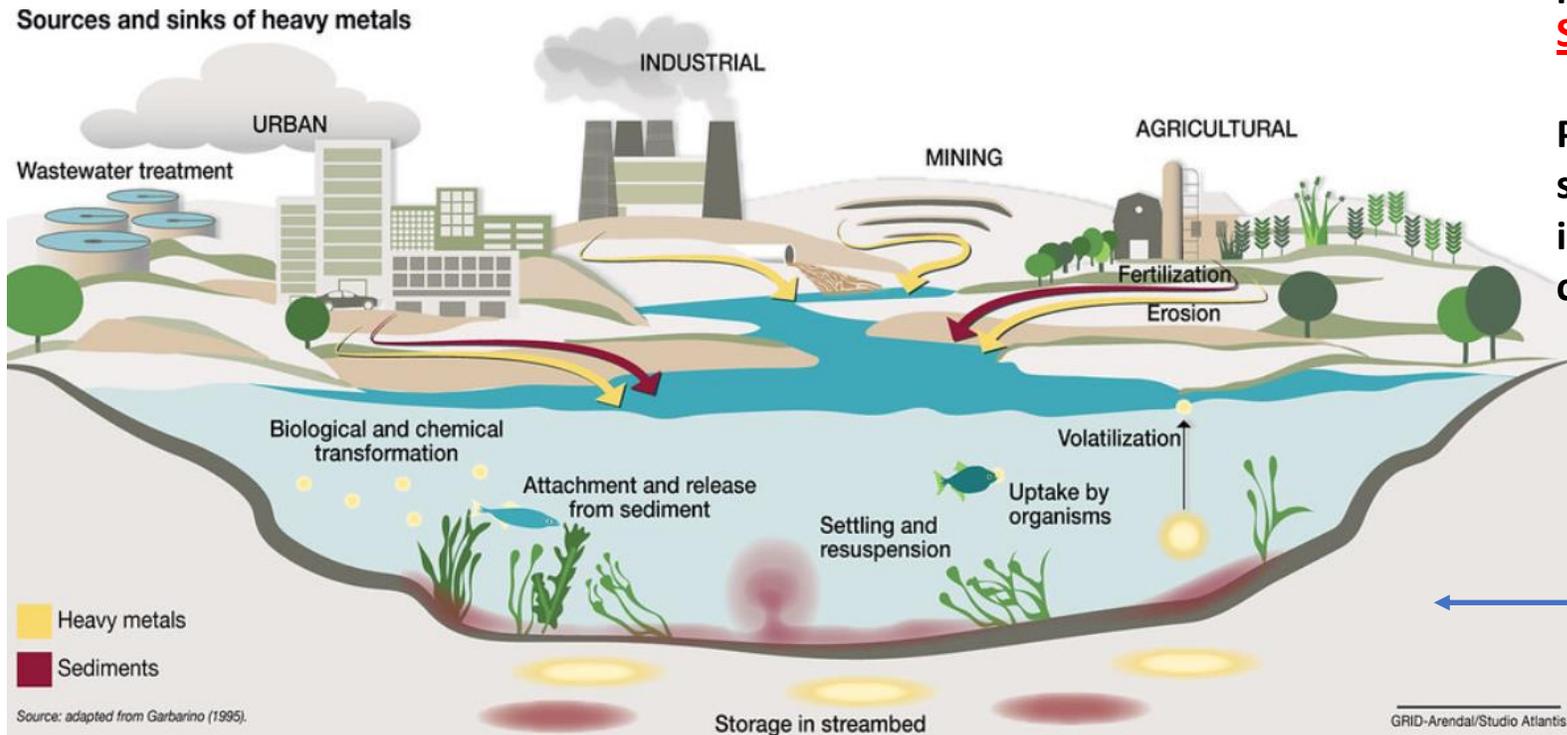
I **sedimenti**, in particolare i sedimenti lacustri e marini, rappresentano il comparto ambientale in cui si accumulano sia **materiali provenienti dai suoli e dalle rocce delle terre emerse** (erosione) sia materiali sversati nell'ambiente derivanti dalle **attività antropiche**.

Stratificazione dei sedimenti

Lo **strato superficiale** (pochi centimetri) del sedimento rappresenta la "**porzione attiva**" dell'ecosistema sedimenti, mentre i sedimenti più profondi sono, di solito, "indisturbati".

Per la loro capacità di **accumulare** (transitoriamente o permanentemente) **contaminanti di diversa natura**, gli strati del sedimento, soprattutto quelli più profondi, rappresentano la "**MEMORIA STORICA**" di un corpo idrico.

Possono consentire valutazioni sull'andamento di diverse forme di inquinamento di un tratto marino-costiero o di un bacino lacustre.



Lo studio dei sedimenti, sia di acqua dolce che marini, e l'analisi delle **caratteristiche chimico-fisiche e microbiologiche** rivestono una notevole importanza nella valutazione dello stato di salute degli ambienti idrici.

Gli **studi microbiologici** sui sedimenti possono seguire diversi approcci

Approccio di tipo ecologico

I sedimenti rappresentano il luogo dove avvengono alcune fasi, soprattutto anaerobiche, dei diversi **cicli biogeochimici** (C, N, S, P, ...) e la sede di interazioni tra componenti chimiche, fisiche e biologiche che consentono il funzionamento dell'intero ecosistema.

Nei sedimenti, i **microrganismi** (batteri, funghi) costituiscono la quota maggiore di biomassa e sono i principali responsabili dell'attività chimica di questi ambienti.

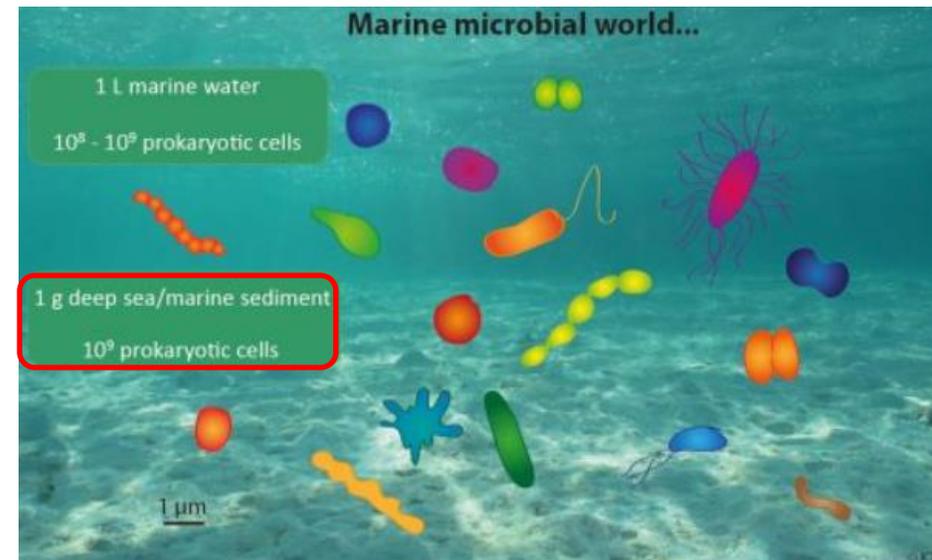
Per alcune loro caratteristiche, svolgono il ruolo di **chimici** dei sedimenti:

- **dimensioni** (elevata superficie specifica),
- **versatilità metabolica** (diversa capacità di ossidare il carbonio organico e le sostanze inorganiche),
- **variabilità genetica** (trasferimento genico orizzontale),
- ...

Approccio di tipo igienico-sanitario

Valutazione potenziali rischi per la salute degli organismi viventi, in particolare l'uomo.

Presenza **microrganismi patogeni**.



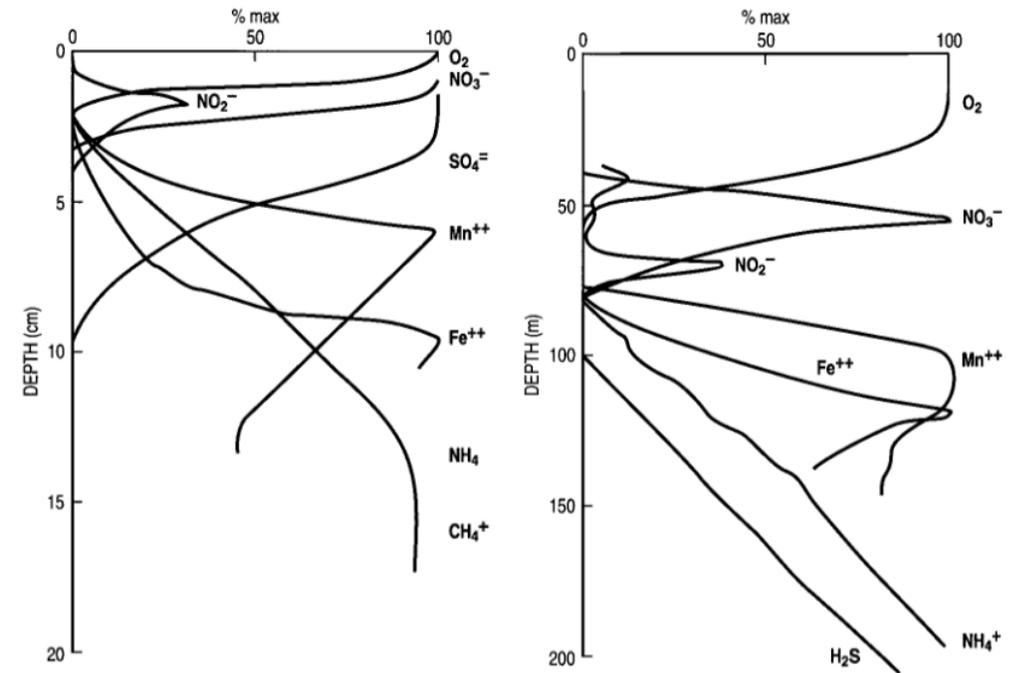
Microorganisms involve many species from different groups of small life forms (**Bacteria**, **Archaea**, **Fungi**, and also **Viruses**).

I sedimenti rappresentano degli ecosistemi caratterizzati da una stratificazione chimico-fisica e microbiologica

I **profili verticali** delle diverse specie chimiche (**donatori/accettori di elettroni**) nei sedimenti sono correlati all'**attività di microrganismi diversi**.

La comprensione dei meccanismi attraverso i quali l'ambiente chimico di un sedimento viene generato e stabilizzato richiede una **conoscenza delle popolazioni microbiche** residenti.

Le differenze principali tra **sedimenti di acqua dolce** e **marini** sono, soprattutto, la quantità di **solforati** (SO_4^{2-}) in questi ultimi e la conseguente dominanza del **ciclo dello zolfo**, mentre nei sedimenti di acqua dolce la **formazione del metano** è lo stadio terminale, che domina il metabolismo del carbonio in profondità.



Freshwater sediment (Lake Michigan)

Marine sediment (Black Sea)

Esempi di profili verticali di alcune specie chimiche (donatori/accettori di elettroni) nei sedimenti.

Depth	Zone	Redox
1	Oxygen (O_2)	Oxygen reduced to Water ($\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$)
2	Nitrate (NO_3^-)	Nitrate reduced to Nitrogen Gas or Nitrous Oxide ($\text{NO}_3^- + e^- \rightarrow \text{N}_2$)
3	Manganic Mn (Mn^{++})	Manganic Mn reduced to Manganous Mn ($\text{MnO}_2 + e^- \rightarrow \text{Mn}^{2+}$)
4	Ferric Fe (Fe^{3+})	Ferric Iron compounds reduced to Ferrous Fe ($\text{Fe}_2\text{O}_3 + e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$)
5	Sulfate (SO_4^{2-})	Sulfate reduced to Sulfide ($\text{SO}_4^{2-} + e^- \rightarrow \text{S}^{2-}$)
6	Carbon Dioxide (CO_2)	Carbon dioxide reduced to Methane ($\text{CO}_2 + e^- \rightarrow \text{CH}_4$)

La regione più superficiale dei sedimenti (**zona ossica**) è compatibile anche con la vita eucariotica.

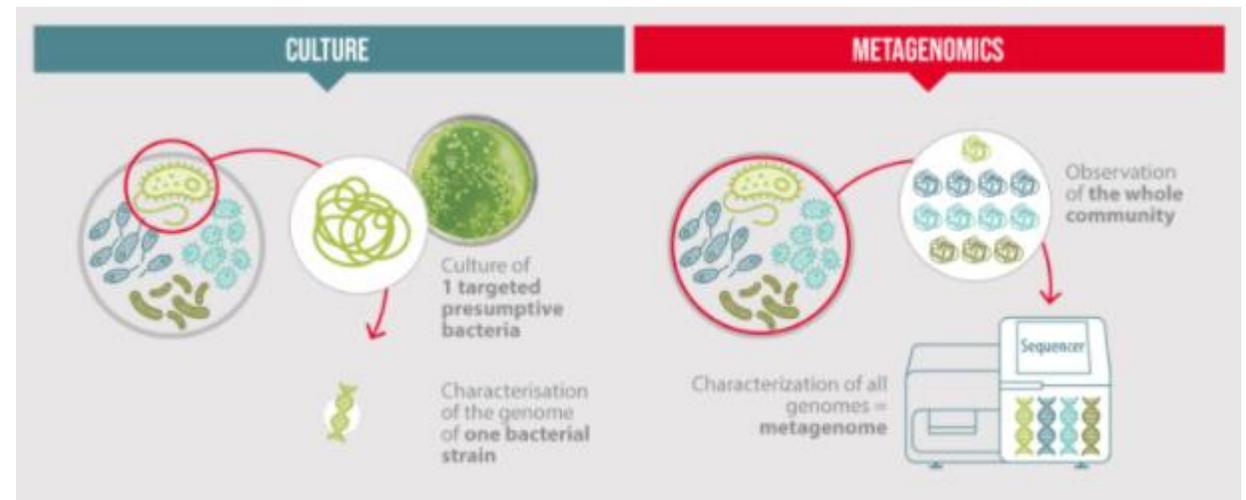
la regione più profonda (**zona anossica**) è dominio esclusivo dei procariori.

La comprensione dei meccanismi attraverso i quali la stratificazione chimica di un sedimento viene generata e stabilizzata richiede una **conoscenza delle popolazioni residenti**.

Le sole **tecniche colturali**, oggi disponibili, non consentono di conoscere l'esatta composizione delle comunità microbiche che colonizzano i diversi ecosistemi.



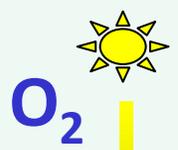
Le **tecniche colturali**, tuttavia, consentendo di coltivare i microrganismi permettono di conoscerne struttura, forme di adattamento, caratteristiche metaboliche, potenziali applicazioni, etc.



Le **tecniche di biologia molecolare** rappresentano dei validi strumenti per lo studio delle comunità microbiche che colonizzano i sedimenti, senza la necessità di coltivare gli organismi.

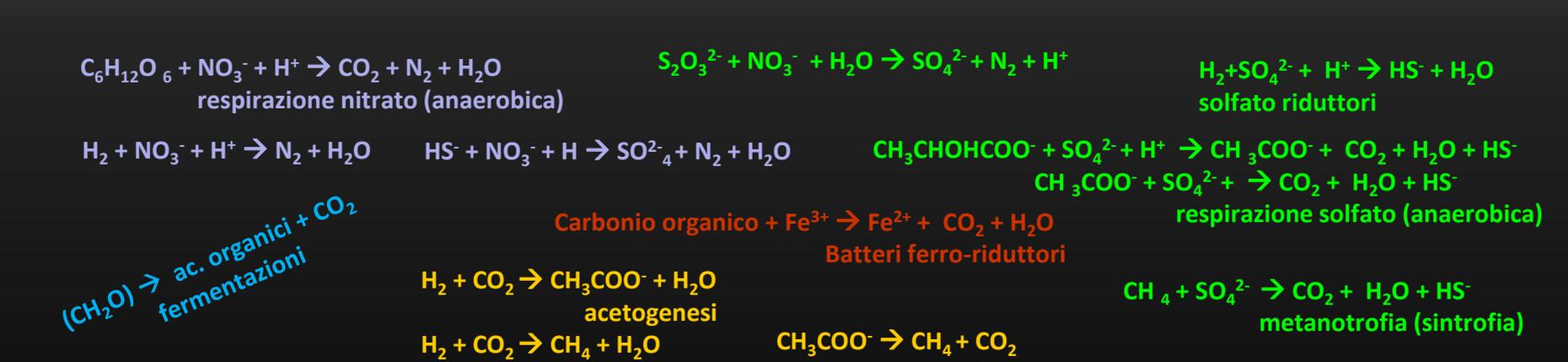
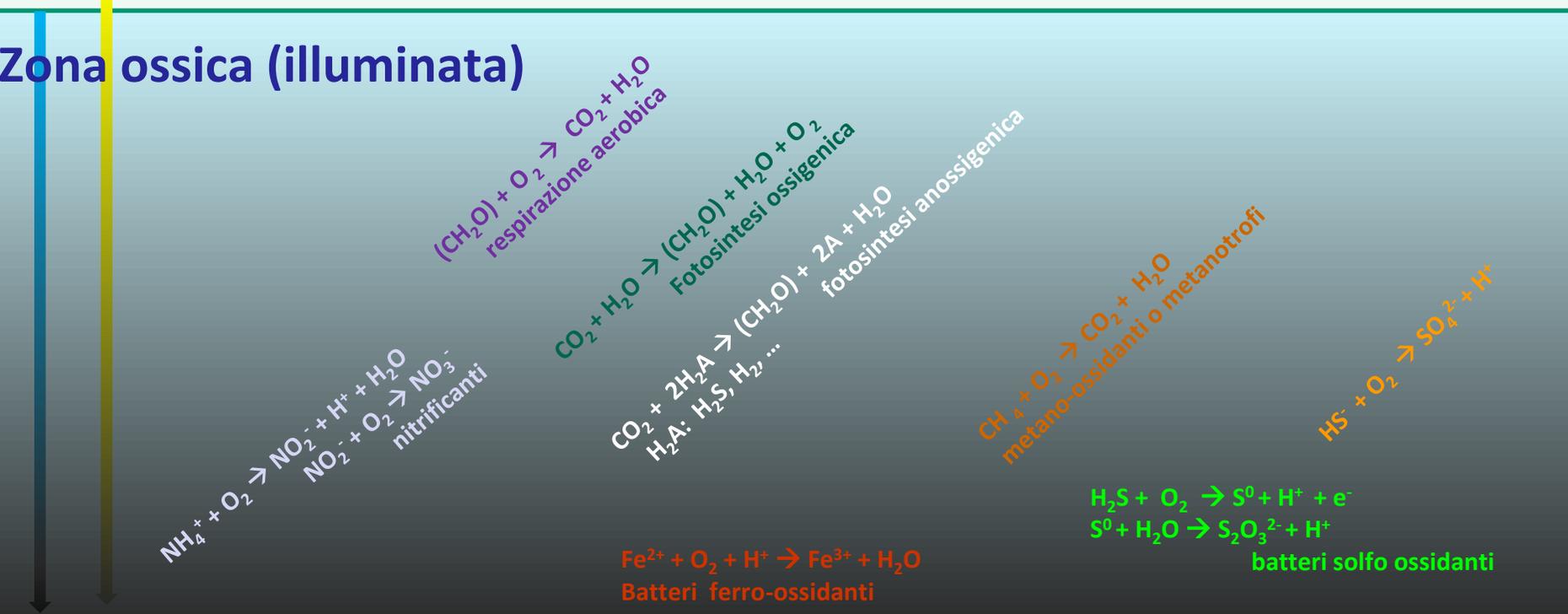
↓
Considerando che i microrganismi non coltivabili rappresentano la grande maggioranza della biodiversità del pianeta, le tecniche indipendenti dalla coltura sono essenziali per comprendere la diversità genetica, la struttura delle comunità, le attività metaboliche ed i ruoli ambientali dei microrganismi.

Il progresso nel campo delle **tecniche colturali, microscopiche e molecolari** consentirà in futuro l'identificazione di **nuovi gruppi metabolici** con enormi contributi alla comprensione dei complessi processi microbici che avvengono nei sedimenti.



Diversità metabolica dei microrganismi nella colonna d'acqua e nei sedimenti

Zona ossica (illuminata)



Zona anossica (afotica)

$(CH_2O) \rightarrow ac.\ organici + CO_2$
fermentazioni

Importanza ecologica dei microrganismi del sedimento



Molte fasi dei **cicli biogeochimici** avvengono nei sedimenti dei corpi idrici.

MICROBIOLOGIA DEI SEDIMENTI → APPROCCIO DI TIPO IGIENICO-SANITARIO →

Basato sulla ricerca di microrganismi indicatori e/o microrganismi patogeni.

La sopravvivenza (a lungo termine) degli **organismi indicatori fecali** e dei **microrganismi patogeni** nei sedimenti è importante, oltre che dal punto di vista ecologico, anche per l'influenza sulla **qualità dell'acqua** e per i **rischi per la salute umana**.

Batteri, funghi e virus hanno una forte tendenza ad adsorbirsi al **particolato** sospeso nell'acqua dei corpi idrici (fiumi, laghi, estuari, lagune ed ambienti marini).

L'associazione **particolato-microrganismi** tende ad essere più accentuata nei sedimenti a **tessitura** più fine ed è fortemente influenzata da **tipo e quantità di minerali argillosi** e di **sostanza organica** presenti.

particelle favorisce la nell'ambiente, offrendo abiotici (chimico-fisici).

Concentrazioni batteriche nei sedimenti e nella colonna d'acqua.

Bacteria	Sediments	Water column	References
	Range or average	Range or average	
	CFU or MPN 100 g WW ⁻¹	CFU or MPN 100 ml ⁻¹	
Fecal coliforms	80-200,000	8-9400	Alcântara and Almeida, 1995; Lucena et al., 1996; Bonilla et al., 2007; Abdelzaher et al., 2010; Luna et al., 2010; Vignaroli et al., 2013; Borade et al., 2014.
<i>E. coli</i>	19-100,000	0-6700	Evanson and Ambrose, 2006; Bonilla et al., 2007; Abdelzaher et al., 2010; Stumpf et al., 2010; Borade et al., 2014.
Fecal Streptococci	190-19,000	6-240	Alcântara and Almeida, 1995; Lucena et al., 1996.
<i>Enterococcus</i> spp.	80-136,000	0-240	Evanson and Ambrose, 2006; Bonilla et al., 2007; Abdelzaher et al., 2010; Stumpf et al., 2010; Vignaroli et al., 2013.
<i>E. faecalis</i>	ND	200	Borade et al., 2014.
<i>Clostridium perfringens</i>	300-1,500,000	<2-13	Lucena et al., 1996; Abdelzaher et al., 2010.
<i>Staphylococcus aureus</i>	ND	ND	Abdelzaher et al., 2010.
<i>Salmonella</i> spp.	ND-262,500	600-1500	Borade et al., 2014.
<i>Shigella</i> spp.	ND	1600	Borade et al., 2014.
<i>Proteus</i> spp. and <i>Klebsiella</i> spp.	6300-543,700	5400-5600	Borade et al., 2014.
<i>Aeromonas</i> spp.	36,000	-	Lucena et al., 1996.
<i>Vibrio</i> spp.*	31,300-756,200	3000-6600	Borade et al., 2014.

Hassard et al. (2016). Abundance and Distribution of Enteric Bacteria and Viruses in Coastal and Estuarine Sediments - a Review. *Front. Microbiol.* 7:1692.

Stazione A: acqua S: sedimento		<i>E. coli</i> UFC/100 mL	Enterococchi UFC/100 mL	<i>Salmonella</i> spp. P/A in 100 mL o 10 g
11	A	7.100	120.000	Ass.
	S			Pres.
13	A	60.000	290.000	Ass.
	S			Pres.
20	A	20.000	28.000	Pres.
	S			Pres.
27	A	600	400	Ass.
	S			Pres.
30	A	100	70	Ass.
	S			Pres.
34	A	10	30	Pres.
	S			Ass.
36	A	80	290	Ass.
	S			Pres.
42	A	300	280	Ass.
	S			Pres.

Analisi microbiologiche effettuate su campioni di acqua e sedimento per la definizione dello stato di salute di un corpo idrico.

Analisi microbiologiche F. Basento

Acqua → *E. coli* ed *enterococchi* (UFC/100 mL),
Salmonella spp. (P/A in 100 mL)

Sedimento → *Salmonella* spp. (P/A in 10 g)

Criticità messe in evidenza dai dati analitici?

- Staz. 11, 13: Nell'acqua, non sempre c'è correlazione tra batteri indicatori e batteri patogeni. I batteri patogeni possono essere presenti in sedimenti sottostanti acque con alte concentrazioni di batteri indici di contaminazione fecale, ma che non risultano positive alla presenza di *Salmonella* spp.
- Staz. 27, 30, 36, 42 : Presenza di *Salmonella* spp. nel sedimento, pur non presentando le acque una elevata contaminazione fecale.

Un accurato studio delle caratteristiche microbiologiche di un corpo idrico, dal punto di vista igienico-sanitario, deve prendere in considerazione tutte le sue componenti (acqua, sedimenti, biota).

Stz.	Località	Specie isolata	Acqua marino-costiera		
			C. totali UFC/100 mL	C. fecali UFC/100 mL	S. fecali UFC/100 mL
35S (sedimenti)	T.te Soverato	<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. alginolyticus</i> <i>Salmonella spp.</i>	5.850	1.850	1.300
35m (mitili)		<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. alginolyticus</i> <i>V. cholerae</i> non O1			
37S (sedimenti)	Soverato (scarico depuratore)	<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>A. sobria</i> <i>V. alginolyticus</i> <i>Salmonella spp.</i>	1.090.000	420.000	4.500
71S (sedimenti)	Foce F. Budello	<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. cholerae</i> non O1	15.500	800	50
71p (plancton)		<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. cholerae</i> non O1			
81S (sedimenti)	Foce T.te Ruffa	<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. cholerae</i> non O1 <i>Salmonella spp.</i>	65	5	3
103S (sedimenti)	Piedigrotta	<i>A. hydrophila/caviae</i> <i>V. cholerae</i> non O1 <i>V. alginolyticus</i>	85	6	6

Analisi microbiologiche di acqua e sedimenti lungo una fascia marino-costiera.

Correlazione tra grado contaminazione fecale delle acque e presenza di microrganismi patogeni (*Salmonella spp.*) nei sedimenti.



Stazioni 35 e 37

Criticità?

La presenza di microrganismi patogeni o potenzialmente tali nei sedimenti non è sempre correlata al grado di contaminazione fecale delle acque.



Stazione 81

Limiti qualità acque di balneazione (D.P.R. 470/82): CT 2.000 UFC/100 mL, CF 100 UFC/100 mL, SF 100 UFC/100 mL

Un accurato studio delle caratteristiche microbiologiche di un corpo idrico, dal punto di vista ecologico ed igienico-sanitario, non può prescindere dall'analisi di tutte le sue componenti (**acqua, sedimenti, biota**).

Studio di 16 mesi per indagare l'ecologia di ***Vibrio spp.*** e di **specie patogene di *Vibrio*** nei sedimenti costieri del Mar Mediterraneo.

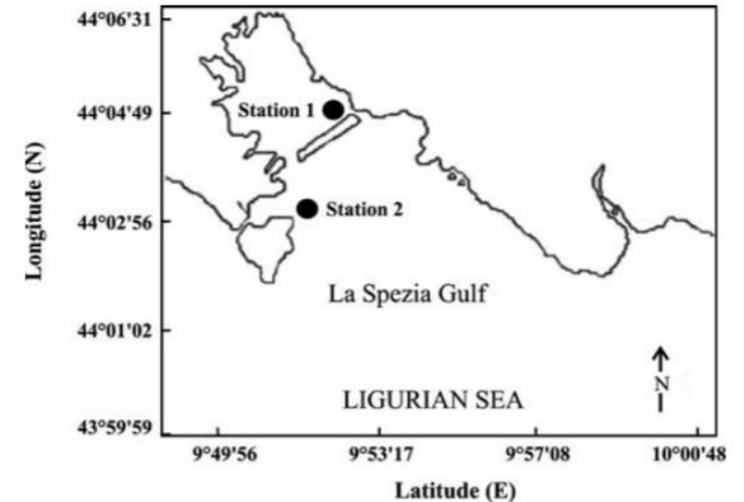
Le stime di ***Vibrio*** coltivabili, mediante tecniche colturali (MPN) e molecolari (PCR e RT-PCR), sono risultate almeno **un ordine di grandezza più alte nei sedimenti rispetto all'acqua di mare**.

La meiofauna è una componente importante degli ecosistemi bentonici. È stata studiata anche l'associazione tra vibroni e meiofauna (metazoi 32-1000 µm) presente nei sedimenti.

Potenziali specie patogene per l'uomo ***Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*** e ***Vibrio parahaemolyticus*** sono state rilevate nel sedimento; tra esse, ***V. parahaemolyticus*** è risultata la specie più frequente. Diversi fattori influiscono sulla persistenza dei batteri nel sedimento (**temperatura, salinità, concentrazione di sostanza organica, ...**).

In generale, il compartimento sedimenti può rappresentare un **reservoir di *Vibrio spp.*** ed, in particolare, anche di specie **potenzialmente patogene**.

Vezzulli et al. 2009. ***Vibrio* Sea Consortium. Benthic ecology of *Vibrio spp.* and pathogenic *Vibrio* species in a coastal Mediterranean environment (La Spezia Gulf, Italy). Microb Ecol. 58(4):808-818.**



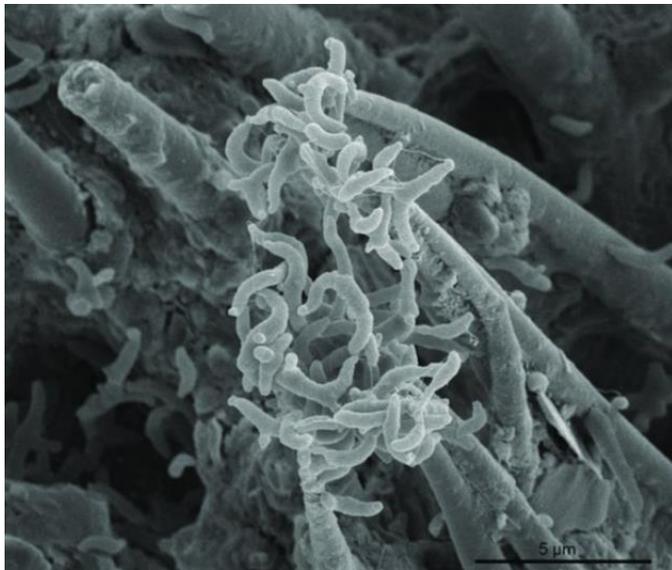
Study area and sampling stations

Nel periodo dicembre 1970-agosto 1971, è stato condotto uno studio sull'ecologia dei vibrioni, in particolare *Vibrio parahaemolyticus*, nella zona costiera di Chesapeake Bay (US).

Dallo studio è emerso che, nelle zone temperate, *V. parahaemolyticus* viene isolato più spesso nelle acque nei mesi più caldi, mentre **durante l'inverno il microrganismo sopravvive (sverna) nei sedimenti.**

L'incidenza di *V. parahaemolyticus* e dei **vibrioni correlati** è risultata correlata con la **temperatura dell'acqua.**

I vibrioni non sono stati rilevati nella colonna d'acqua durante i mesi invernali, sebbene fossero presenti nei sedimenti.



Vibrio cholerae biofilm on chitin from crab shells (Klose and Satchell, 2018)

Kaneko & Colwell (1973). Ecology of *Vibrio parahaemolyticus* in Chesapeake Bay. J. Bacteriol., 113(1):24-32.



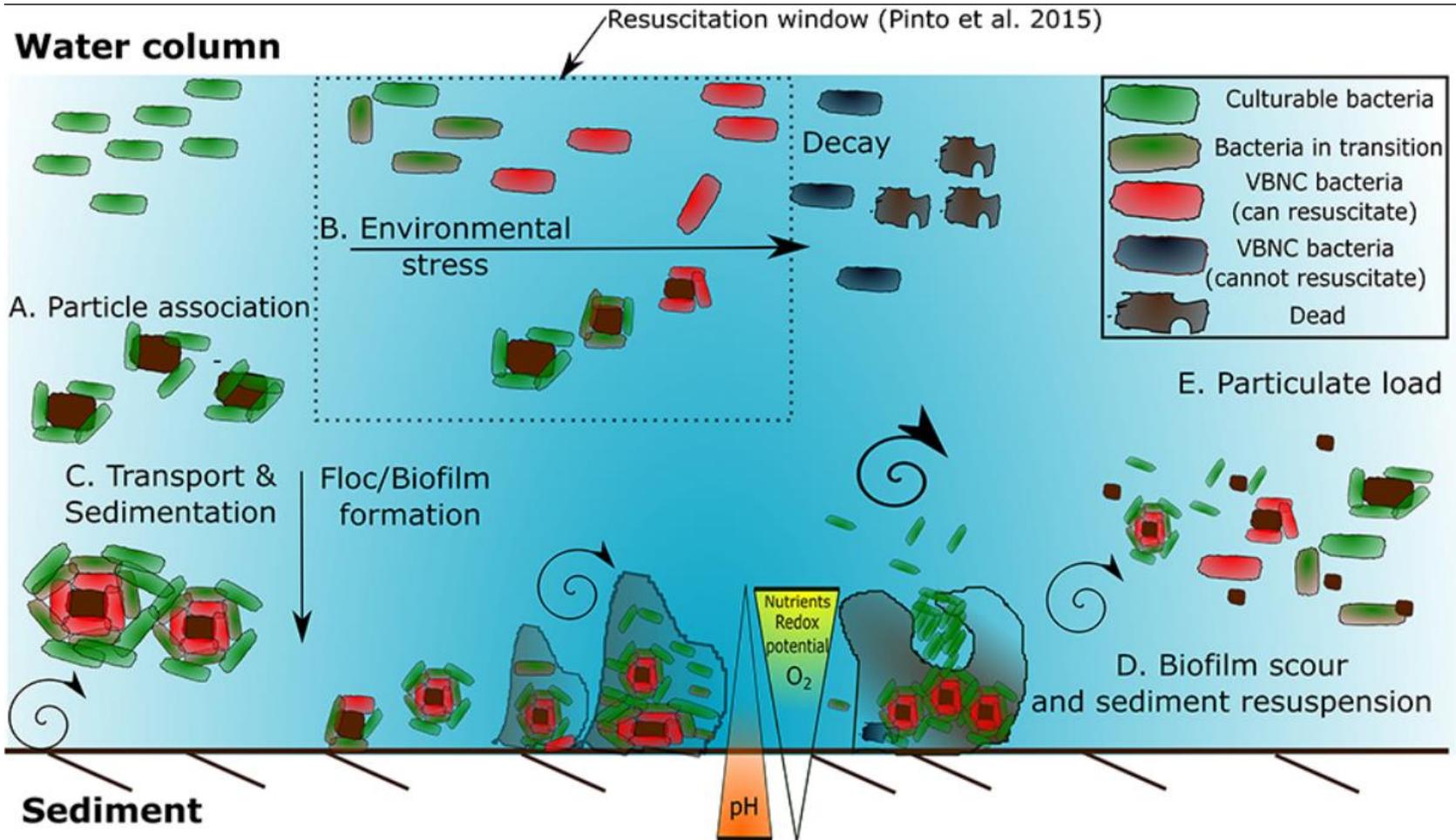
Dalla tarda primavera all'inizio dell'estate, quando la temperatura dell'acqua risaleva a $\sim 14^{\circ}\text{C}$, i vibrioni presenti nei sedimenti abbandonavano le comunità di fondo (anche adesi allo **zooplancton**) per colonizzare la colonna d'acqua.

Quando la temperatura raggiungeva $\sim 19^{\circ}\text{C}$, anche i vibrioni associati al plancton, moltiplicandosi, contribuivano all'aumento della densità della popolazione batterica della colonna d'acqua.

L'interazione sedimenti-acqua-zooplancton risulta essenziale nel funzionamento degli ecosistemi naturali degli estuari.

Fattori che favoriscono l'**accumulo di batteri nell'ambiente**,
l'induzione e la *resuscitation* dallo **stato VBNC**.

Hassard et al. (2016). Abundance and Distribution of **Enteric Bacteria** and Viruses in Coastal and Estuarine Sediments-a Review. *Frontiers in microbiology*, 7, 1692.



- (A) Associazioni **particella-batteri** e **batteri-batteri**.
- (B) Stress ambientali (disponibilità nutrienti, ossigeno, potenziale redox, stress ossidativo, ...) inducono lo **stato VBNC**.
- (C) Trasporto e **sedimentazione** generano un flusso di particelle-batteri verso il sedimento con formazione di **floc** e **biofilm**. In funzione dei diversi gradienti localizzati (disponibilità nutrienti, accettori di e⁻, pH, etc.) nel sedimento si formano biofilm contenenti anche **batteri VBNC**.
- (D) Eventi di flusso elevato provocano **erosione e disgregazione del biofilm**, riducendo l'effetto stabilizzante degli EPS.
- (E) **Risospensione** dei batteri, in diverso stati metabolici lungo la colonna d'acqua ed aumento del carico di particolato.

MOVIMENTAZIONE SEDIMENTI MARINI (aspetto microbiologico)

- **Persistenti o elevati carichi inquinanti** nei corpi idrici.
 - **Attività industriali e produttive** in prossimità di aree portuali.
- Possono essere causa di **contaminazione di sedimenti (fluviali, lacuali e di aree portuali e marine)**.

Contaminazione da metalli
(alluminio, arsenico, cadmio, mercurio, nichel, piombo, rame, zinco, vanadio, ...).

Contaminazione da composti organici
(idrocarburi, idrocarburi policiclici aromatici, solventi aromatici, policlorobifenili, ...)

Contaminazione da microrganismi
(batteri saprofiti intestinali, batteri patogeni, virus, miceti, parassiti).

Contaminazione da altre sostanze

Il periodico **dragaggio delle darsene dei porti e dei canali costieri**, per assicurare il mantenimento delle profondità dei fondali idonee alla navigazione, necessita di una preventiva **caratterizzazione chimico-fisica, microbiologica ed ecotossicologica** dei sedimenti di escavo.

Per la **determinazione dei livelli di contaminazione** ed il **tipo di gestione** più idoneo dei sedimenti (confinamento, anche previo trattamento, all'interno di casse di colmata, per la costruzione di nuove strutture funzionali del porto).

Per la bonifica dei sedimenti la normativa italiana (**D.lgs n. 152/2006**) non ha fissato valori di concentrazioni soglia, come per la bonifica dei suoli (Allegato 5, Parte IV del D.Lgs 152/06).

I **valori di intervento** della concentrazione di contaminanti al superamento dei quali, anche per un solo parametro, è necessario procedere alla bonifica dei sedimenti in un determinato sito vengono indicati dall'**Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA)**, sulla base di criteri chimico-ecotossicologici ed in funzione delle caratteristiche geochimiche locali.

Decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152

**Norme in materia ambientale
(G.U. n. 88 del 14 aprile 2006)**

Corposo testo unico che rielabora e unifica le normative riguardanti i vari comparti ambientali (suolo, acqua, aria, risorse idriche, siti contaminati , etc.).

Decreto attuativo dell'art. 109, comma 2 lettera a), D.lgs. 152/2006 e ss.mm.ii.

Allegato Tecnico

2.6. Caratterizzazione biologica

2.6.1. CARATTERIZZAZIONE MICROBIOLOGICA DRAGAGGIO, IMMERSIONE IN MARE OLTRE LE 3 MN E RIPASCIMENTI COSTIERI

Attualmente non risulta possibile definire valori limite di carattere sanitario per le abbondanze di indicatori di contaminazione fecale e singoli microrganismi patogeni nei sedimenti e nelle sabbie.

Ripascimento: intervento per restituire e/o ripristinare i lidi costieri soggetti ad erosione.



Qualora i siti di dragaggio e/o di immersione oltre le 3 mn e/o di ripascimento siano situati **nei pressi di aree destinate all'acquacoltura o alla balneazione**, in queste ultime deve essere garantito il rispetto dei **requisiti di qualità** previsti nella normativa vigente per il comparto acque (**D.lgs 152/2006; Reg. CE 854/2004; D.lgs. 116/2008 e Decreto 30 marzo 2010 del Ministero della Salute**).

In caso di ripascimenti costieri, i sedimenti possono essere collocati nel sito di destinazione solo al di fuori della stagione balneare.



APAT-ICRAM (2007) *Manuale per la movimentazione dei sedimenti marini*

l'escavazione dei fondali e l'eventuale scarico in mare dei materiali di risulta costituisce un'attività di notevole rischio per la **diffusa presenza dei contaminanti contenuti nei sedimenti dei fondali**, soprattutto a causa delle attività di tipo industriale e commerciale che vengono svolte nelle aree portuali.

In passato, il materiale dragato veniva smaltito mediante immersione in mare.

Oggi bisogna considerare il materiale di risulta una **“risorsa”** da recuperare, piuttosto che un materiale di rifiuto.

APAT

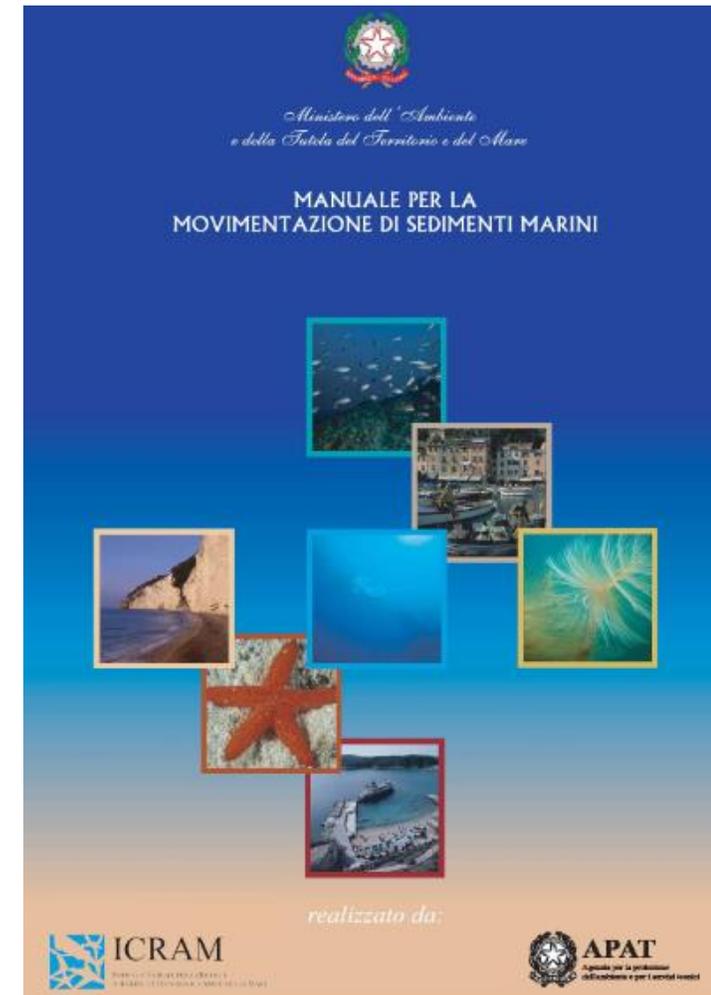
ICRAM

Tabella 2.1a – Parametri da ricercare per la caratterizzazione e classificazione dei sedimenti di aree portuali.

Tabella 2.1b – Parametri da ricercare per la caratterizzazione e classificazione dei sedimenti di aree marine fluviali o litoranee.

Tabella 2.1c – Parametri da ricercare per la caratterizzazione dei sedimenti di aree marine non costiere.

	PARAMETRO	SPECIFICHE
ANALISI MICROBIOLOGICHE	Coliformi	<i>Escherichia coli</i>
	Enterococchi	Fecali
	Salmonelle	
	Clostridi	Spore di clostridi solfito-riduttori
	Stafilococchi	
	Miceti (2)	



MINISTERO DELL'AMBIENTE E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO E DEL MARE
DECRETO 15 luglio 2016, n. 173.

**Regolamento recante modalità e criteri tecnici per l'autorizzazione
all'immersione in mare dei materiali di escavo di fondali marini.**

**CAPITOLO 2 - CARATTERIZZAZIONE E CLASSIFICAZIONE DEI
MATERIALI DELL'AREA DI ESCAVO DI FONDALI MARINI**

...

2.3. Caratterizzazione e classificazione ecotossicologica

2.3.1. Batteria di saggi biologici

2.3.2. Classificazione ecotossicologica

2.4. Caratterizzazione e classificazione chimica

2.4.1. Caratterizzazione chimica

2.4.2. Classificazione chimica dei materiali

2.5. Caratterizzazione fisica

2.6. Caratterizzazione biologica

2.6.1. Caratterizzazione microbiologica

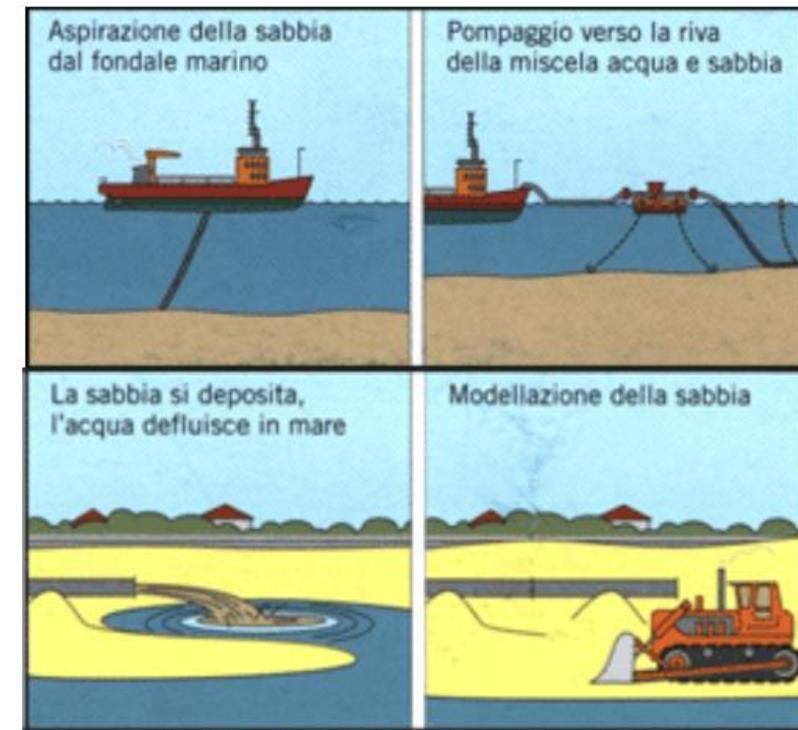
2.6.2. Analisi delle comunità bentoniche

→ Relativa a *Dragaggio, immersione in
mare oltre le 3 mn e ripascimenti costieri*

↓
Non specifica, tuttavia, i parametri microbiologici

Protocollo relativo ai criteri di campionamento e valutazione del materiale destinato a ripascimento stagionale degli arenili.

Il presente protocollo costituisce un indirizzo per il personale ARPAL ai fini della valutazione della **qualità del sedimento destinato a ripascimento di natura stagionale**; il documento interessa altresì i committenti dell'operazione, ai quali spetta la predisposizione delle indagini da effettuare sul materiale.



4.2.5 Parametri microbiologici

A tutt'oggi, non esistono in Italia riferimenti normativi né linee guida indicative per quanto riguarda i valori soglia per i parametri microbiologici.

4.2.5.1 Coliformi totali, coliformi fecali e streptococchi

Le caratteristiche biologiche dei sedimenti da utilizzarsi per i **ripascimenti** non sono stabilite da un'unica norma specifica: il tema è trattato da manuali realizzati da vari organi tecnici quali ISPRA (ex ICRAM ed ex APAT), ARPAT, ARPAL etc. e da norme che illustrano in termini generali la qualità dei sedimenti marini.

Le varie norme e manuali tecnici sono anche tra loro **contrastanti**.

Le normative vigenti prevedono la caratterizzazione dei principali **indicatori di contaminazione microbiologica** dei sedimenti allo scopo di fornire indicazioni in merito all'opportunità di mettere in atto **misure di contenimento** per questo tipo di contaminazione.

Esse, tuttavia, non prevedono valori di riferimento per ecosistemi costieri non interessati da balneazione.

I microrganismi di solito ricercati nei **campioni di sedimento** comprendono:

Coliformi totali,
Coliformi fecali,
Escherichia coli,
Streptococchi fecali
Clostridi solfito-riduttori (spore).

Salmonella spp.,
Staphylococcus spp.
(con particolare rilevanza per i ceppi patogeni).

Miceti.

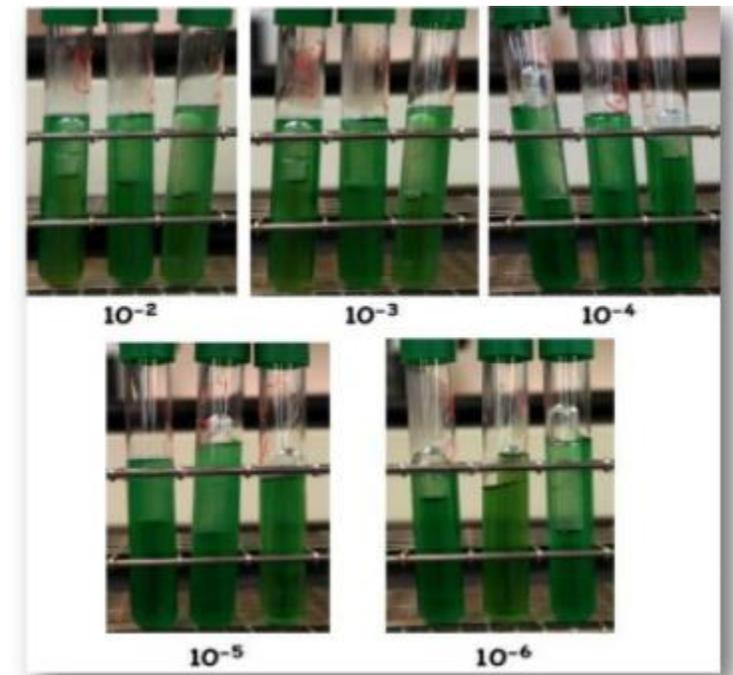
COLIFORMI TOTALI

- Batteri Gram negativi, a forma di bastoncino, aerobi-anaerobi facoltativi, non sporigeni.
- Capaci di fermentare il lattosio a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ (con produzione di gas) entro 48 ore in idonei terreni di coltura (brodo lattosato/Brodo lattosato bile verde brillante).
- Oltre ad essere presenti nell'intestino degli animali a sangue caldo, uomo compreso, sono ampiamente diffusi nell'ambiente. Appartengono tutti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*; i generi più conosciuti sono: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* e *Klebsiella*.
- In genere, non sono patogeni e vengono considerati "organismi indicatori". Per la loro costante presenza nell'ambiente, la loro validità come indicatori è stata spesso messa in dubbio!

COLIFORMI FECALI

- Rappresentati prevalentemente da *Escherichia coli* e da *Klebsiella pneumoniae*, sono la parte termotollerante dei coliformi totali.
- Il termine termotollerante è correlato alla capacità di queste specie di fermentare il lattosio a 44°C entro 24 ore.
- La divisione dei coliformi in totali o fecali non è basata su rigidi criteri scientifici ma solo sulle capacità di crescita in condizioni ambientali (temperatura) diverse. Sono stati evidenziati alcuni limiti nell'impiego dei coliformi come indicatori di contaminazione fecale.

In genere i coliformi non sono batteri patogeni, ma la loro presenza è associata a quella di batteri patogeni con cui condividono lo stesso habitat naturale (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio*, etc.) più difficilmente isolabili e presenti in proporzioni molto inferiori.



Solitamente, i coliformi si considerano indicatori di una **contaminazione fecale recente**.

STREPTOCOCCHI FECALI (ENTEROCOCCHI INTESTINALI)

- Cocchi Gram positivi, con tendenza a disporsi a coppie o in corte catene nei terreni liquidi, aerobi ed anaerobi facoltativi;
- Sono parte del microbiota intestinale degli animali, uomo compreso.
- Diversamente dai coliformi, gli streptococchi fecali non sono ubiquitari;
- Non si moltiplicano nelle acque contaminate da reflui;
- Il loro tempo di abbattimento nelle acque di mare è meno rapido di quello dei coliformi;
- La capacità di sopravvivenza nell'ambiente è simile a quella di alcuni batteri patogeni.



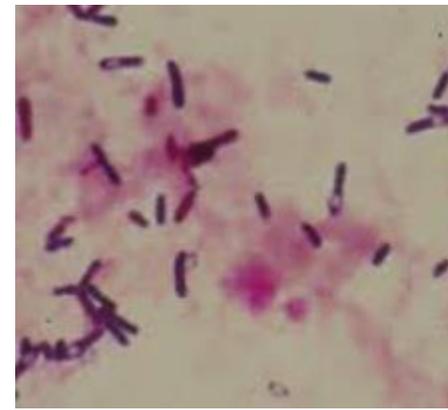
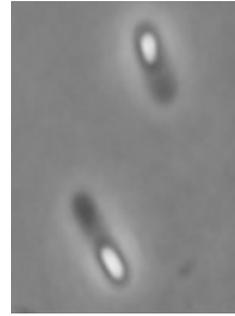
Crescono, entro 24-48 h, nei terreni di coltura Azide Dextrose Broth (con glucosio e sodio azide) ed EVA Broth (con glucosio etilvioletto ed azide sodica) alla temperatura di 37 °C.



Anche gli streptococchi fecali, vivendo nel tratto gastrointestinale degli animali, sono considerati (come i coliformi) indicatori di contaminazione fecale recente.

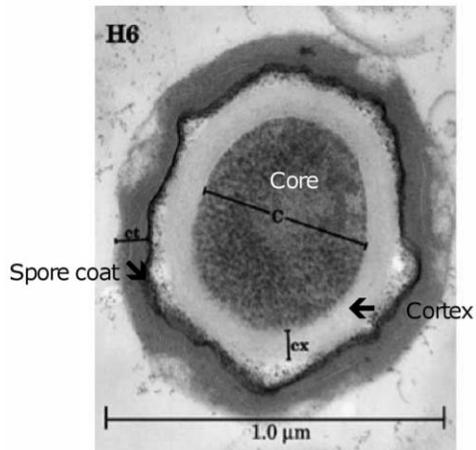
CLOSTRIDI SOLFITO RIDUTTORI

- Microrganismi anaerobi obbligati
- Bacilli Gram-positivi, in gran parte mobili per flagelli peritrichi e raramente capsulati.
- Riducono il solfito con produzione di solfuro.
- Producono endospore termoresistenti a localizzazione terminale o subterminale.
- Alcune specie sono saprofiti e vivono negli strati superficiali del suolo e dei sedimenti, altre sono patogene e causano sindromi particolarmente gravi.



Alcune specie vivono anche nell'intestino di alcuni animali, uomo compreso. Il loro numero nelle feci umane, rispetto ai coliformi e agli streptococchi, è inferiore in un rapporto 1/100 e 1/10.

Clostridium perfringens, componente del microbiota intestinale umano in concentrazioni variabili (10^2 - 10^7 UFC/g).



Endospore

- Resistenti a condizioni ambientali sfavorevoli;
- **Non germinano nell'ambiente;**
- Sopravvivendo a lungo, possono dare indicazioni su fenomeni di **contaminazione fecale pregressa.**

***C. perfringens* è considerato un affidabile indicatore di contaminazione in quanto specie di sicura origine fecale.**

Clostridi solfito riduttori

Nei **sedimenti marini** possono raggiungere concentrazioni fino a 10^4 UFC/g.
Valori più elevati (fino a 10^5 UFC/g) possono essere raggiunti in **sedimenti fluviali**.

Il microrganismo può essere considerato un valido indicatore di contaminazione fecale utile nella valutazione della qualità microbiologica di diverse matrici ambientali, soprattutto quando si deve valutare la qualità di acque reflue clorate o scarichi industriali letali per i microrganismi non sporigeni, e di sedimenti.

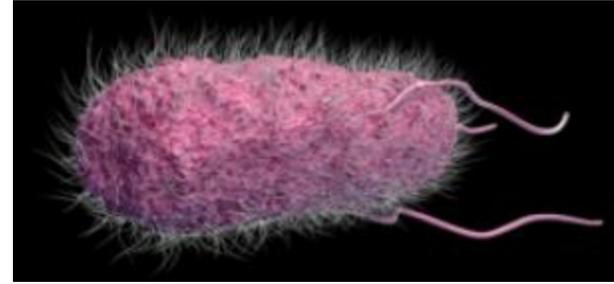


SALMONELLA SPP.

I batteri appartenenti al genere *Salmonella* sono parte della famiglia delle *Enterobacteriaceae*.

Le salmonelle sono classificate, in base a caratteristiche sierologiche, in oltre 2000 sierotipi.

La presenza di *Salmonella* nei sedimenti conferma, inequivocabilmente, l'esistenza di una **contaminazione fecale** (scarichi fognari, reflui non idoneamente depurati, ...).



Si tratta di **microrganismi patogeni**: l'infezione avviene per trasmissione oro-fecale, attraverso l'ingestione di acqua o alimenti contaminati. Nell'uomo può manifestarsi con gastroenteriti, febbre, setticemia (tifo).

Le salmonelle possono essere presenti nell'ambiente e, soprattutto nelle acque, dove presentano una resistenza maggiore alle variazioni ambientali, sopravvivendo più a lungo e con maggiore facilità.

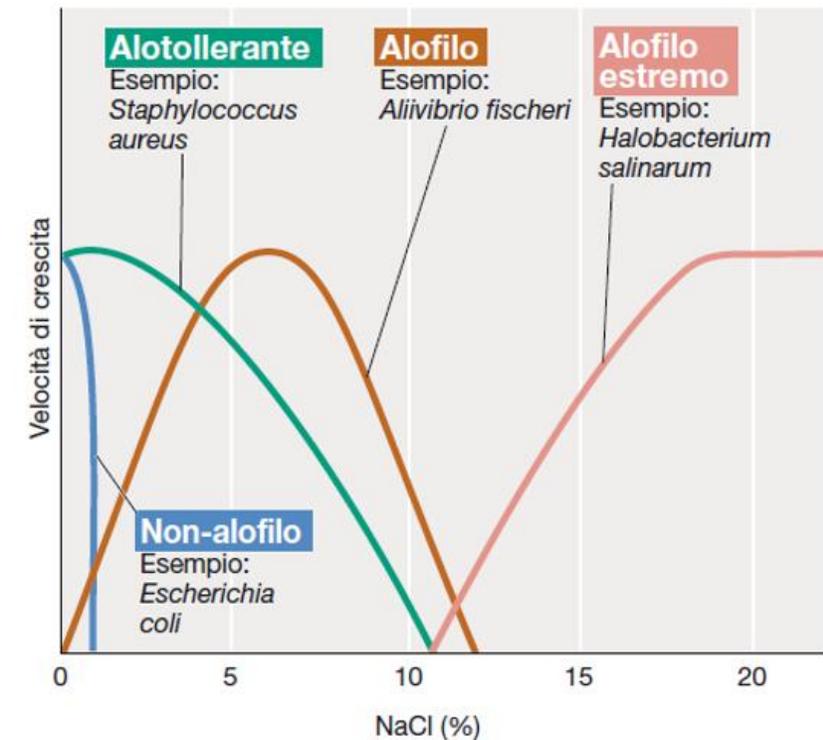
Nei sedimenti, tuttavia, sembrerebbe che tali organismi siano tra i patogeni più labili ed il tempo richiesto per il loro abbattimento sia relativamente breve.

STAFILOCOCCHI

- Cocchi Gram +, catalasi +;
- Molte specie del genere *Staphylococcus* sono saprofitiche (colonizzano cute, mucose tratto respiratorio superiore, ...);
- Largamente diffusi nell'ambiente: possono sopravvivere a svariate condizioni ambientali avverse (essiccamento, calore, concentrazioni saline, ...);
- Alcune specie (coagulasi +) possono comportarsi da patogeni;
- Possono vivere in associazione con altri organismi marini;
- Tollerano concentrazioni di NaCl fino a ~10%. →

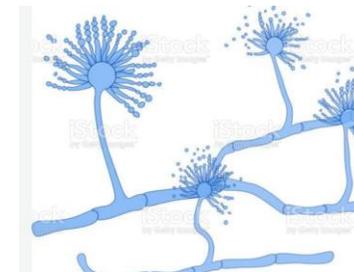
MICETI

- I miceti, o funghi, sono microrganismi (eucariotici) immobili ed eterotrofi (attivi degradatori della sostanza organica);
- Sono privi di clorofilla;
- Unicellulari o, più spesso, organizzati in strutture filamentose (ife) cenocitiche o settate;
- Possiedono una parete cellulare rigida;
- Si riproducono mediante produzione di spore sessuate o asessuate.
- Sono largamente diffusi negli ambienti naturali (ubiquitari): si trovano in tutte le matrici ambientali (suolo, acqua, aria);
- possono vivere come commensali di vari organismi vegetali ed animali.
- Alcune specie sono in grado di provocare diverse patologie in molti vegetali, lesioni a carico di cute e annessi cutanei (micosi) negli animali e nell'uomo.
- Se inalati, possono essere causa di allergie, asma e polmoniti.



Effetto della concentrazione di NaCl sulla crescita di alcuni batteri

Brook, Biologia dei microrganismi – 1 Microbiologia generale - Pearson



ENTEROVIRUS (genere di *Ribovirus* della famiglia dei *Picornaviridae*).

- Virus ad RNA, a polarità positiva (+), a localizzazione enterica;
- Giungono all'ambiente attraverso i reflui convogliati nei corpi idrici recettori (fiumi, laghi, mare);
- Possono sopravvivere per lungo tempo nell'ambiente; (acque di mare → fino a 130 giorni; suolo → fino a 125 giorni).
- Sono agenti patogeni in grado di infettare l'uomo a dosi molto basse.

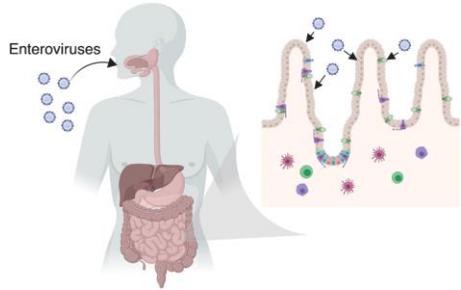
4.3.4.2.5. Parametri microbiologici

4.3.4.2.6. Coliformi totali, coliformi fecali e streptococchi

4.3.4.2.7. Spore di clostridi solfito riduttori

4.3.4.2.8. Ifomiceti

4.3.4.2.9. **Enterovirus**



La concentrazione virale nelle acque di superficie dipende da diversi fattori:

- trattamento dei reflui in impianti di depurazione,
- tipo di processo depurativo subito,
- natura e capacità di auto-depurazione del corpo idrico
- fattori chimico-fisici e biologici che caratterizzano l'ambiente.

Gli Enterovirus sono in grado di legarsi, in modo stabile, a materiale particolato in sospensione.



Tendenza a precipitare ed a concentrarsi nei sedimenti.

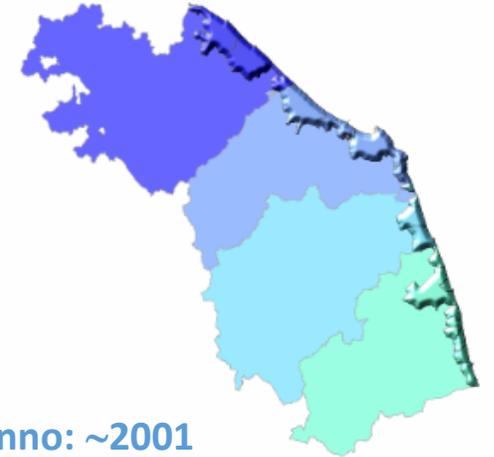
Diversi studi evidenziano che il materiale particolato protegga i virus adsorbiti dai fattori naturali di depurazione, preservandone l'infettività anche per lungo tempo.

I virus adsorbiti al materiale particolato possono essere ampiamente diffusi nell'ambiente, anche per molti chilometri, per effetto del movimento delle particelle solide risospese e trasportate dalle correnti.

REGIONE MARCHE

DIPARTIMENTO TERRITORIO E AMBIENTE

SERVIZIO PROGETTAZIONE OPERE PUBBLICHE DI INTERESSE REGIONALE, V.I.A. E GESTIONE INTEGRATA DELLE AREE COSTIERE



Anno: ~2001

PIANO DI GESTIONE INTEGRATA

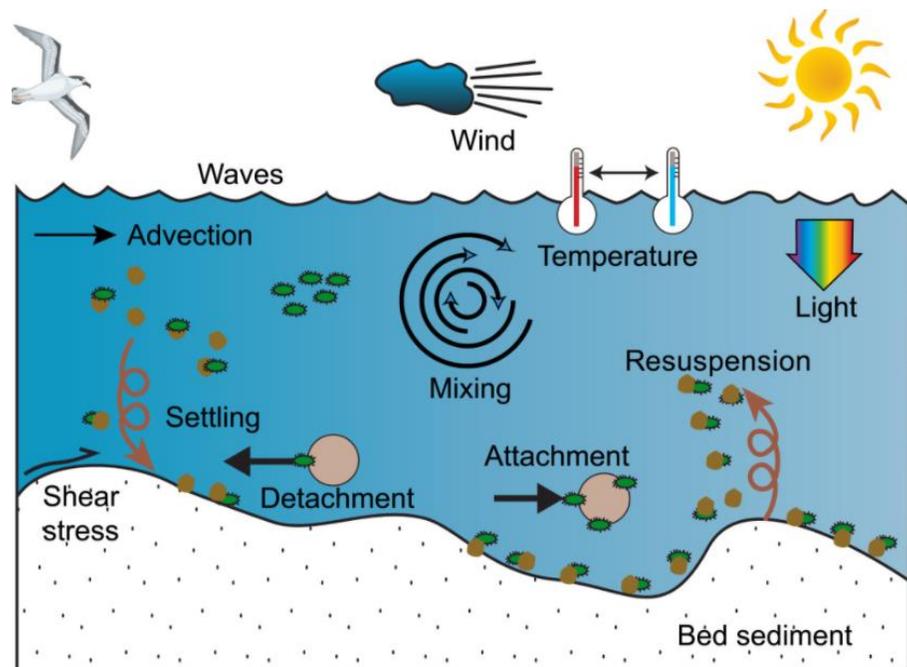
DELLE AREE COSTIERE

RELAZIONE GENERALE

La letteratura scientifica mette in evidenza la frequente **contaminazione dei sedimenti da parte di microrganismi patogeni.**



I sedimenti, oltre che **sistemi ecologici molto complessi**, si confermano, quindi, come **sito di accumulo e protezione dagli stress ambientali di microrganismi patogeni**, che possono ricontaminare la colonna d'acqua appena le condizioni ambientali tornano ad essere favorevoli.



La presenza di microrganismi patogeni (*Salmonella* spp., *Aeromonas* spp., *Vibrio* spp., ...) nei sedimenti può essere spiegata dalla capacità di questa matrice di ospitare e proteggere **microrganismi alloctoni** ed **autoctoni**, consentendo loro di moltiplicarsi e di superare gli stress ambientali.

EVENTUALI INTERVENTI DI RECUPERO DI ALCUNI AMBIENTI IDRICI CONTAMINATI NON POSSONO IGNORARE QUESTA MATRICE CONSERVATIVA, PENA LA VANIFICAZIONE DI OGNI SFORZO DI RIQUALIFICAZIONE AMBIENTALE.