

Con il patrocinio di A.I.S.A.  
Associazione Italiana  
Scienze Ambientali

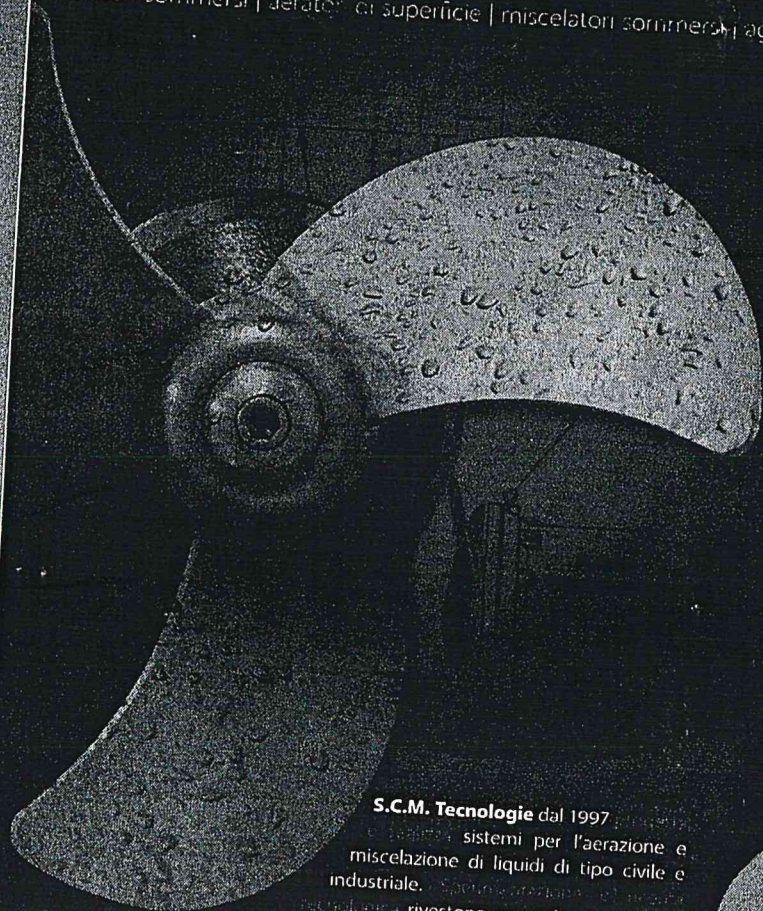
# ACQUA & ARIA

1  
FEBBRAIO/MARZO  
2014

Tecnologie e servizi a 360° per l'ambiente: suolo - rifiuti - energia

## EVOLVING TECHNOLOGY AERATION AND MIXING

- aeratori sommersi | aeratori di superficie | miscelatori sommersi | agitatori verticali | diffusori



**S.C.M. Tecnologie** dal 1997  
è leader nei sistemi per l'aerazione e  
miscelazione di liquidi di tipo civile e  
industriale.

**S.C.M. Tecnologie** rivestono un ruolo centrale per  
la continua evoluzione, con molteplici obiettivi: aumentare le prestazioni, ampliare  
la gamma e raggiungere nuovi campi di applicazione, introdurre sempre nuovi  
accorgimenti per facilitare l'installazione, la gestione, la manutenzione di queste  
apparecchiature importanti per l'ambiente.



[www.scmtec.com](http://www.scmtec.com)

# Studio comparativo tra il metodo Enterolert – DW Quanti - Tray e il metodo di filtrazione su membrana UNI EN ISO 7899- 2:2003 per l'enumerazione di Enterococchi intestinali in Acque destinate ad uso umano

M. Rea\* - S. Rea \*\*\* - A. Pressano\* - B. Ciampi\* - C. Tucci\* - M.Tammaro\*\*-  
M. Guida\*\*\*

\*ARPAC – Dipartimento Provinciale di Napoli – Dir. dott. Nicola. Adamo

Area Analitica – Laboratorio “Acque Uso Umano” – Dirigente dott. Clarice Tucci

\*\* Dirigente Biologo SIAN – ASL NAPOLI 2 Nord

\*\*\* Università degli Studi di Napoli Federico II - Dipartimento di Biologia.

## Introduzione

Per acque destinate al consumo umano si intende, come definito nel D.Lgs. 31/2001 e successive modificazioni:

- a) le acque trattate o non trattate, destinate ad uso potabile, per la preparazione di cibi e bevande, o per altri usi domestici, a prescindere dalla loro origine, siano esse fornite tramite una rete di distribuzione, mediante cisterne, in bottiglie o in contenitori;
- b) le acque utilizzate in un'impresa alimentare per la fabbricazione, il trattamento, la conservazione o l'immissione sul mercato di prodotti o di sostanze destinate al consumo umano, escluse quelle, individuate ai sensi dell'articolo 11, comma 1, lettera (e), la cui qualità non può avere conseguenze sulla salubrità del prodotto alimentare finale.

Per queste tipologie di acque il decreto identifica le misure di vigilanza, i parametri chimici, fisici e microbiologici da analizzare e i relativi valori di parametro. In alcuni casi la Regione o Provincia può stabilire deroghe ai valori di parametro entro i valori massimi ammissibili stabiliti dal Ministero della Salute, purché non presenti potenziale pericolo per la salute umana e sempre che l'approvvigionamento di acque destinate al consumo umano, con valori di parametro rientranti nei limiti previsti dal D.Lgs 31/2001, non possa essere assicurato con altro mezzo congruo. I limiti di parametro sono stabiliti in base alla tossicità cronica dei singoli contaminanti e quindi riferiti all'assunzione massima giornaliera su lunghi periodi.

Per l'attività di laboratorio le Aziende Sanitarie Locali (A.S.L.) si avvalgono delle Agenzie Regionali per la Protezione dell'Ambiente. I laboratori di ARPA Campania, effettuano analisi su campioni prelevati dal Personale Tecnico afferente ai Dipartimenti di Prevenzione e alle Unità Operative di Prevenzione Collettiva delle ASL, secondo i metodi analitici previsti dalla normativa vigente per i controlli di routine e di verifica. Inoltre il D.Lgs 31/2001 e s.m.i. identifica sanzioni oltre che per il gestore del servizio idrico, anche per i soggetti che distribuiscono direttamente o utilizzano l'acqua per produzioni alimentari a valle del punto di consegna, ovvero del contatore.

L'esame microbiologico delle acque potabili si basa essenzialmente sulla ricerca dei cosiddetti indicatori della contaminazione fecale (Coliformi totali, *Escherichia coli* ed Enterococchi intestinali). Per quanto riguarda gli Enterococchi intestinali studi recenti hanno dimostrato, sulla base di caratteristiche fisiologiche e di tecniche di ibridizzazione del DNA, tre generi diversi di cui due (Enterococcus e Streptococcus) comprenderebbero specie intestinali o di sicura origine fecale.

Gli Enterococchi sono cocchi Gram positivi, catalasi negativi, provvisti dell'antigene D, che possono trovarsi isolati, doppi o sotto forma di corte catene.

Per la salute dell'uomo sono molto nocivi e possono causare batteriemia, endocardite batterica, infezioni addominali e del tratto urinario (patologie più frequenti), diverticoli e meningiti (condizione patologica piuttosto rara).

La presenza di Enterococchi nelle acque destinate al consumo umano non è frequente ed è correlabile a sicura contaminazione di origine fecale, spesso dovuta ad infiltrazioni dall'esterno o a

sono state effettuate filtrando, mediante una pompa da vuoto, 100 mL di campione di acqua potabile pronta attraverso una membrana di acetato di cellulosa sterile, con porosità di 0,45  $\mu\text{m}$ . Tale membrana è stata poi trasferita con pinzette sterili, sulla superficie del terreno agarizzato Slanetz e Bartley. Successivamente le piastre di agar Slanetz e Bartley sono state incubate a  $36^{\circ}\text{C} \pm 2,0^{\circ}\text{C}$  per  $44 \pm 4$  ore . Dopo l'incubazione a  $36^{\circ}\text{C} \pm 2,0^{\circ}\text{C}$ , i filtri a membrane dell'agar Slanetz e Bartley , con crescita di colonie presuntive , sono stati trasferiti su piastre preriscaldate (  $44^{\circ}\text{C}$ ) di agar bile esculina azide e incubati per 2 ore a  $44^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  in conformità alla norma. Tutte le colonie che hanno prodotto una colorazione da marrone a nera sono state contate come colonie confermate appartenenti agli enterococchi (Fig.3 - 4).

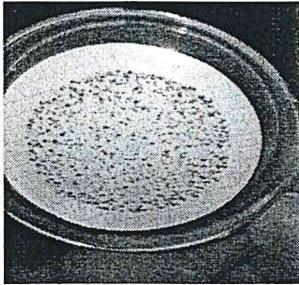


Fig.3-Colonie enterococciche presuntive su Slanetz-Bartley

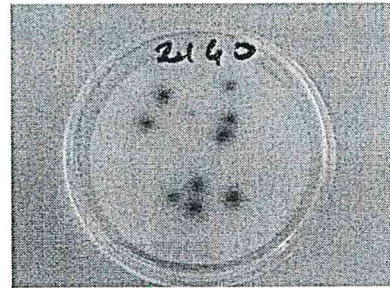


Fig.4-Colonie enterococciche confermate su B.E.A

Le analisi con il metodo Enterolert DW Quanti – tray sono state effettuate aggiungendo, a 100 mL di acqua potabile pronta ,il mezzo disidratato Enterolert DW, la soluzione viene quindi miscelata fino alla dissoluzione e decantata in una piastra di reazione a pozzetti multipli . La piastra viene sigillata e incubata per 24 – 28 a  $41^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  . Dopo incubazione a  $41^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  , si procede alla conta del numero di pozzetti verdi positivi; infatti, quando nel campione di acqua potabile esaminato sono presenti enterococchi ,il terreno colturale cambia colore, passando da blu a verde. Il numero di pozzetti positivi consente di ottenere il numero più probabile (MPN) di enterococchi presenti nel campione consultando l'apposita tabella MPN Quanty-Tray a 51 pozzetti.

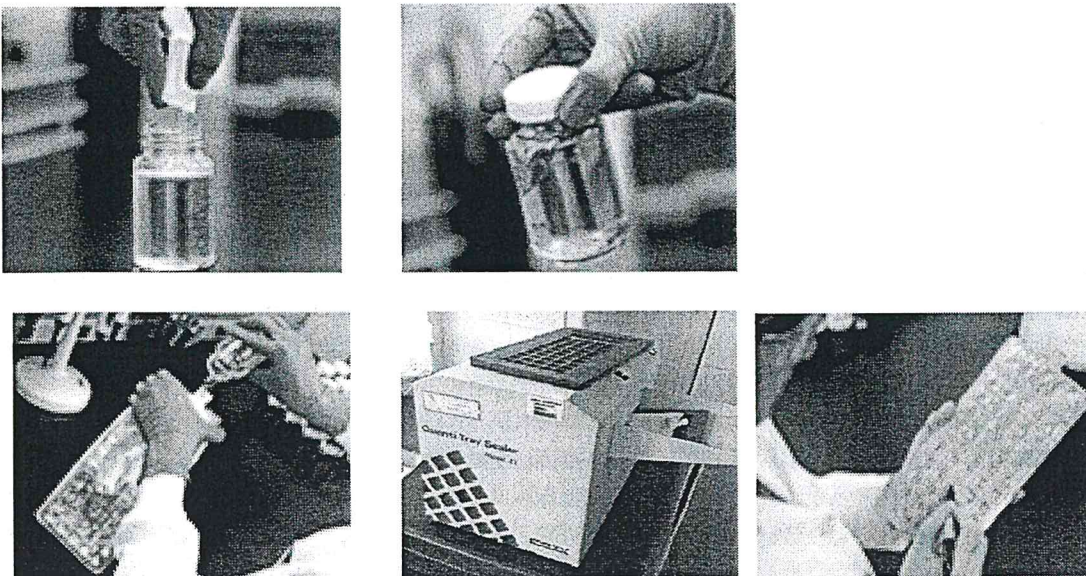


Fig 5.Sequenze procedurali del metodo Enterolert - DW

Tabella - 1. Analisi della differenza relativa media (metodo studiato – metodo di riferimento) dei risultati di campioni accoppiati relativi al metodo studiato (Enterolert-DW Quanti-Tray) e al metodo di riferimento (ISO 7899-2:2003).

	Differenza relativa media (%DR)	Incertezza estesa BASSA (XL)	Incertezza estesa ALTA (XH)	Deviazion e standard	Incertezza estesa (U)	Conclusioni
Numero totale dei campioni	18	14	22	32	4	Enterolert-DW più alto

Sono stati analizzati tutti i campioni in doppio con il metodo Enterolert-DW al fine di calcolare il valore del Kp. Per i campioni le cui due conte risultavano uguali, non è stato possibile calcolare tale fattore;

Tabella 2. Valore del Kp e limiti di confidenza.

Numero campioni	Replica	Positivi	Kp	Media (Cm)	IF	Limite inferiore	Limite superiore
1	A	130	0,76	124	±15	109	139
	B	118					
2	A	74	0,33	72	±5	67	77
	B	70					
3	A	74	0,33	72	±5	67	77
	B	70					
4	A	94	0,37	92	±13	79	105
	B	89					
5	A	165	1,14	155	±17	79	105
	B	145					
6	A	200	1,83	122	±15	107	137
	B	165					
7	A	130	0,76	124	±15	109	139
	B	118					
8	A	165	1,14	155	±17	79	105
	B	145					
9	A	101	0,43	148	±17	131	165
	B	95					
10	A	200,165	1,83	122	±	107	137
	B						
11	A	200,165	1,83	122	±	107	137
	B						
12	A	165,145	1,14	155	±17	79	105
	B						
13	A	200,165	1,83	122	±15	107	137
	B						
14	A	144,130	0,85	137	±16	121	153
	B						
15	A	130,118	0,76	124	±15	107	137
	B						
16	A	109,101	0,55	105	±14	91	119
	B						

Numero campioni	Replica	Positivi	Kp	Media (Cm)	IF	Limite inferiore	Limite superiore
41	A B	78,74	0,32	76	±12	64	88
42	A B	29,27	0,32	76	±12	64	88
43	A B	101,95	0,43	98	±14	84	112
44	A B	31,32	0,13	31,5	±8	23	39

Dall'osservazione dei dati si nota come tutti i valori calcolati del Kp siano inferiori al valore tabulato di Kp (1.96), da ciò si deduce che i conteggi sono accettabili .

Lo studio delle caratteristiche del metodo ha mostrato valori di sensibilità prossimi al 100%, un grado di correlazione col metodo di riferimento pari al 99%, una differenza relativa media con limiti di confidenza che rispettano i valori limiti espressi dalle norme.

## Considerazioni e conclusioni

L'elaborazione statistica dei dati ricavati dalle prove effettuate presso il nostro laboratorio ha dimostrato la validità del metodo DST (Enterolert – Dw). Inoltre il metodo presenta alcuni vantaggi rispetto al metodo di riferimento UNI EN ISO 7899-2:2003 , tra cui:

- **Facilità:** la procedura è semplice, il terreno colturale è facile da usare, l'enumerazione si basa sul numero più probabile (MPN), le confezioni a dosaggio unitario eliminano la necessità di preparare il terreno colturale e i reagenti non contengono sostanze tossiche;
- **Rapidità:** i risultati sono confermati in 24 ore, il controllo di qualità è semplice e il reagente si scioglie nel campione in pochi minuti;
- **Accuratezza:** mostra maggiore accuratezza rispetto a ISO 7899-2 su tutti i campioni, l'arricchimento del liquido garantisce il recupero ottimizzato, elimina l'interpretazione personale di risultati determinati con i metodi tradizionali.