

INTRODUZIONE DEL METODO COLILERT ED ENTEROLERT PER UN'ANALISI MICROBIOLOGICA RAPIDA DELLE ACQUE

Il Laboratorio nazionale per la salute, l'ambiente e gli alimenti - NLZOH di Nova Gorica è stato incluso nell'algoritmo decisionale per la protezione delle risorse d'acqua potabile in casi di emergenza sul territorio della Regione statistica di Gorizia - il Goriziano sloveno.

Una diagnosi di laboratorio rapida della contaminazione microbiologica delle acque potabili e di quelle superficiali è indispensabile in casi di catastrofi naturali e di altre disgrazie quando la qualità delle risorse d'acqua viene minacciata. Presso il Dipartimento per le analisi microbiologiche dei campioni di alimentari, acque e di altri campioni ambientali abbiamo perciò, nel quadro del progetto GEP, introdotto i metodi rapidi Colilert e Enterolert.

Il campionamento è stato effettuato su 38 campioni di acque potabili prelevate da selezionati sistemi idrici - acque non preparate - e su 31 campioni di acque superficiali nel territorio della Regione statistica di Gorizia. I campioni prelevati sono stati sottoposti alla prova microbiologica con metodi rapidi e con metodi di riferimento. È stato effettuato anche un confronto statistico di ambedue i metodi basandoci sulla differenza relativa media a norma dello Standard ISO 17994.

Durata del progetto
2.11.2011 - 2.11.2014

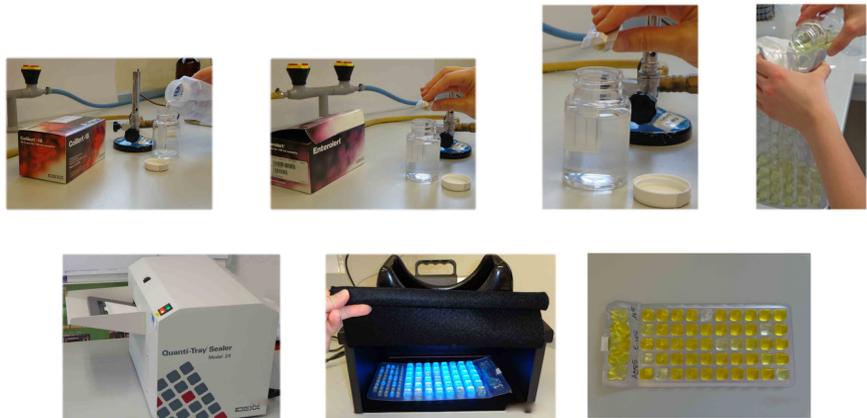
METODI RAPIDI COLILERT-18 e ENTEROLERT

Questi metodi, con i quali viene determinata la presenza di *E.coli*, di batteri coliformi e di enterococchi mediante l'idrolisi del substrato diagnostico batterico fluorogene e cromogene, si basano sulla tecnologia a substrato definita e patentata (DST) e vengono classificati tra i metodi MPN (Most Probable Number). Ad un certo volume del campione viene aggiunto il reagente, il tutto viene mescolato bene e poi versato nella vaschetta Quanti-tray, quest'ultima poi viene saldata ed incubata.

I metodi rapidi introducono una nuova definizione dei batteri coliformi, dei *E.coli* e dei enterococchi:

I batteri coliformi sono enterobatteri che esprime l'enzima β -D-galattosidasi.
L'escherichia coli è un enterobatterio che esprime ambedue gli enzimi, β -D-galattosidasi e β -D-glucuronidasi.
Gli enterococchi esprimono l'enzima β -glucosidasi.

Procedimento dei metodi rapidi (Figure da 1-7), foto: archivio NLZOH lokacija Nova Gorica



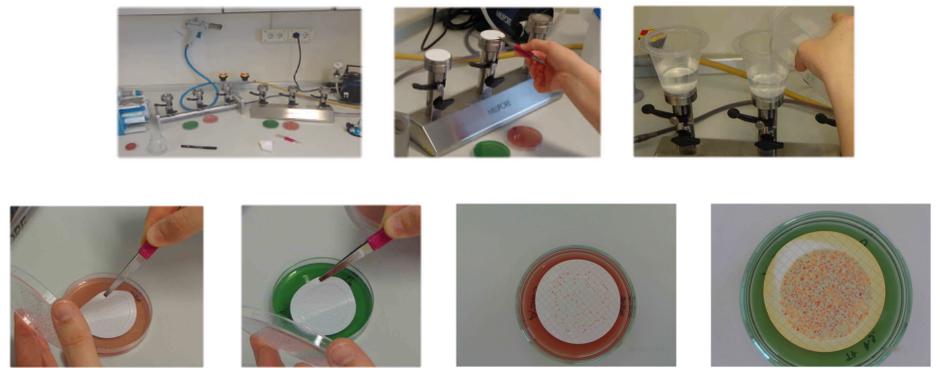
I METODI DI RIFERIMENTO ISO

si basano sulla filtrazione a membrana di un determinato volume del campione, sull'incubazione del filtro sul terreno colturale selettivo e sull'identificazione biochimica delle colonie tipiche.

ISO DEFINIZIONE: SIST EN ISO 9308-1:2001/AC:2009 (test standard), SIST EN ISO 7899-2:2000

La Direttiva sulle acque potabili dell'Unione Europea determina i metodi di prova per la determinazione dei parametri degli *E.coli*, dei batteri coliformi e degli enterococchi.
I batteri coliformi sono batteri capaci di formare colonie aerobicamente su un terreno colturale selettivo e differenziale contenente lattosio con produzione di acido. Questi batteri sono ossidasi negativi.
Gli *E. coli* sono batteri coliformi in grado di produrre l'indolo dal triptofano e l'enzima β -glucuronidasi.
Gli enterococchi sono batteri che riducono il 2,3,5-trifenil tetrazolio cloruro - colorante incolore al formazano rosso su terreno colturale membrana-filtro Enterococcus selective agar according to Slanetz and Bartley ed idrolizzano l'esculina su terreno Bile Esculin Azide Agar.

Procedimento dei metodi di riferimento (Figure da 8-14), foto: archivio NLZOH lokacija Nova Gorica

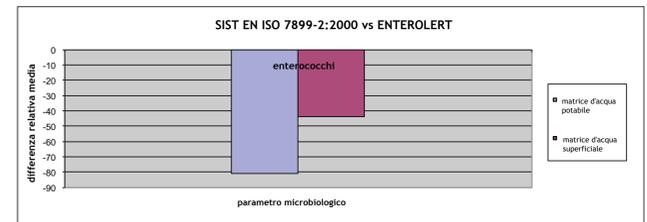


RISULTATI DEL CONFRONTO di AMBEDUE i METODI secondo lo Standard ISO 17994:2004

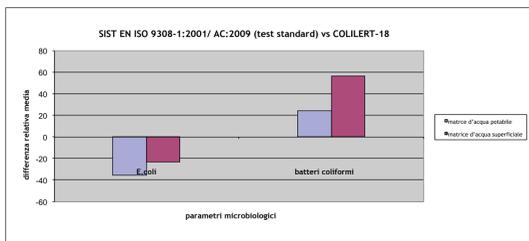
I metodi equivalgono quantitativamente quando verrà definita quale adeguata la media della differenza relativa dei numeri confermati da ambedue i metodi. La differenza relativa media è la media delle differenze tra due risultati ottenuti con il metodo di riferimento ed il metodo paragonato.

Confrontando i metodi SIST EN ISO 9308-1:2001; SIST EN ISO 9308-1:2001/AC:2009 (test standard) e Colilert è stata calcolata al parametro *Escherichia coli* nella matrice d'acqua potabile una differenza relativa media di -36,08 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo di riferimento sono migliori per il 36 %. Nella matrice d'acqua superficiale è stata calcolata una differenza relativa media di -23,72 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo di riferimento sono migliori per il 23 %. Con il metodo di riferimento si ottiene nel campione d'acqua potabile oppure in quello d'acqua superficiale un numero più alto di *Escherichia coli* che con il metodo rapido.

Confrontando i metodi SIST EN ISO 9308-1:2001; SIST EN ISO 9308-1:2001/AC:2009 (test standard) e Colilert è stata calcolata al parametro batteri coliformi nella matrice d'acqua potabile una differenza relativa media di 24,03 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo Colilert sono migliori per il 24 %. Nella matrice d'acqua superficiale è stata calcolata una differenza relativa media di 56,16 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo Colilert sono migliori per il 56 %. Con il metodo rapido si ottiene nel campione d'acqua potabile oppure in quello d'acqua superficiale un numero più alto di batteri coliformi rispetto al metodo di riferimento.



Dal parametro enterococchi nella matrice dell'acqua potabile, paragonando i metodi SIST EN ISO 7899-2:2000 ed ENTEROLERT, è stata constatata una differenza relativa media di -81,05 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo di riferimento sono migliori per il 81 %. Nella matrice d'acqua superficiale è stata calcolata la differenza relativa media di -43,64 %, il che significa che i risultati ottenuti con il metodo di riferimento sono migliori per il 44 %.



CONCLUSIONI

Con il metodo di riferimento viene confermato un numero più alto di *Escherichia coli* nel campione d'acqua potabile oppure in quello d'acqua superficiale rispetto al metodo rapido. Con il metodo rapido si verifica la presenza di batteri coliformi nel campione d'acqua potabile oppure in quello d'acqua superficiale più alta rispetto al metodo di riferimento. Nel campione d'acqua potabile oppure in quello d'acqua superficiale sottoposto al metodo di riferimento invece viene accertata la presenza di più enterococchi rispetto al metodo rapido.

Basandoci sui risultati ottenuti si può concludere che il metodo rapido è adeguato per la diagnostica dei campioni in situazioni d'emergenza quando viene minacciata la qualità delle risorse d'acqua potabile e con ciò la salute degli utenti e quando la capacità di reagire prontamente è d'importanza vitale.

PARTNER PROGETTUALI

LP Nacionalni inštitut za javno zdravje, PP1 Inštitut za raziskovanje krasa ZRC SAZU, PP2 Nacionalni laboratorija zdravje, okolje in hrano, PP4 Uprava RS za zaščito in reševanje, PP5 Dipartimento di Matematica e Geoscienze - Università degli Studi di Trieste, PP6 Dipartimento di Scienze della Vita - Università degli Studi di Trieste, PP7 Protezione Civile della Regione Friuli Venezia Giulia, PP8 Dipartimento di Fisica e Scienze della Terra - Università degli Studi di Ferrara, PP9 Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-forestali - Università degli Studi di Padova

