

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Rischio microbiologico
e qualità delle sabbie marine costiere:
due campagne di monitoraggio a confronto**

A cura di

Laura Mancini (a), Stefania Marcheggiani (a),
Elisabetta Cara (a) e Lucia Venturi (b)

*(a) Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,
Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Legambiente, Roma*

ISSN 1123-3117

**Rapporti ISTISAN
06/31**

Istituto Superiore di Sanità

Rischio microbiologico e qualità delle sabbie marine costiere: due campagne di monitoraggio a confronto.

A cura di Laura Mancini, Stefania Marcheggiani, Elisabetta Cara e Lucia Venturi

2006, iii, 26 p. Rapporti ISTISAN 06/31

I livelli di contaminazione microbiologica delle sabbie sono generalmente più elevati rispetto a quelli delle acque marine, a causa di fenomeni di accumulo degli inquinanti. Sia gli ambienti delle sabbie che delle acque possono rappresentare habitat ideali per un vasto numero di microrganismi come batteri, miceti e virus. Numerose specie, considerate come potenzialmente patogene, possono pertanto rappresentare un fattore di rischio sanitario determinante per la salute pubblica; tale problematica è particolarmente significativa per le spiagge soggette ad elevate pressioni antropiche. Pochi sono stati gli studi effettuati per valutare questo aspetto e finalizzati allo sviluppo di linee guida per la prevenzione e il controllo di diverse patologie. Obiettivo del presente lavoro è di definire la biodiversità microbica in campioni di sabbia e di acqua prelevati nelle spiagge italiane durante la stagione balneare. Una parte dei dati presi in considerazione sono stati raccolti nel corso della campagna di monitoraggio delle acque di balneazione (Goletta Verde 1999), mentre l'altra parte dei dati, presi dal Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'Istituto Superiore di Sanità, risale al 2001.

Parole chiave: Sabbia, Contaminazioni, Monitoraggio, Funghi e batteri

Istituto Superiore di Sanità

Microbiological risk related to marine seasands quality: comparison of two campaigns.

Edited by Laura Mancini, Stefania Marcheggiani, Elisabetta Cara and Lucia Venturi

2006, iii, 26 p. Rapporti ISTISAN 06/31 (in Italian)

Microbiological contamination levels of sands are generally higher than those recorded in seawaters, as a consequence of accumulation phenomena. Sand and water environment can be ideal habitats for a large number of micro-organisms, such as bacteria, fungi and viruses. Thus, several species, potentially pathogenic, can represent a risk for public health. This problem is particularly significant for highly anthropized beaches. Only few studies have been carried out to assess this risk, in order to develop guidelines for the prevention and control of different pathologies. The aim of this study is the description of microbial diversity in sand and water samples collected in Italian beaches during the bathing season. A part of the samples comes from a monitoring study carried out by Goletta Verde in 1999, while other samples were collected by the Istituto Superiore di Sanità (the National Institute of Health in Italy) (Department of Environment and primary prevention) in 2001.

Key words: Sand, Contaminations, Monitoring, Fungi and bacteria

Per informazioni su questo documento scrivere a: laura.mancini@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2006

Hanno collaborato alla stesura e redazione del presente rapporto i seguenti autori:

Istituto Superiore di Sanità (Roma)

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria

Antonella Anselmo
Francesca Anna Aulicino
Milena Bucca
Elisabetta Cara
Anna Maria D'Angelo
Valentina Della Bella
Paolo Formichetti
Alessandro Giuliani
Marcello Iaconelli
Stefania Loberti
Laura Mancini
Stefania Marcheggiani
Elio Pierdominici

Dipartimento di Tecnologie e Salute

Giovanni Alfredo Zapponi

Legambiente (Roma)

Lucia Venturi

INDICE

Sabbie e acque costiere marine e pericoli di infezione	1
Batteri e loro patogenicità	2
Miceti e loro patogenicità	3
 Salute delle coste italiane: campagne di monitoraggio	6
Monitoraggio di Goletta Verde	6
Metodi di campionamento e analisi microbiologica	7
Sabbie	7
Acque	7
Monitoraggio del litorale romano	8
Metodi di campionamento e analisi microbiologiche	8
Sabbie	8
 Campagne di monitoraggio: dati a confronto	10
Monitoraggio di Goletta Verde	10
Monitoraggio del litorale romano	15
 Discussione e conclusioni	16
 Bibliografia	18
 Appendice	
Valori di stafilococchi, coliformi e streptococchi fecali nelle acque e nelle sabbie e confronto con valori dei funghi negli arenili nei siti di campionamento	21

SABBIE E ACQUE COSTIERE MARINE E PERICOLI DI INFEZIONE

La spiaggia rappresenta un sedimento situato tra l'acqua e la terra; per sedimento si intende una matrice costituita da sabbia, limo, e argilla. Lo scheletro di sabbia a sua volta può essere distinto in sabbia fine, ghiaia o roccia. Un sedimento la cui componente principale è la sabbia, costituisce la spiaggia. Da un punto di vista puramente turistico e ricreativo la spiaggia composta da sabbia è la più frequentata dai bagnanti durante la stagione estiva.

Si verifica spesso, durante l'anno, che le spiagge siano soggette ad inondazioni e per questo motivo aumenta il rischio di contaminazione da parte di alcuni patogeni. La principale fonte di immissione di microrganismi patogeni nelle spiagge è rappresentata dagli escrementi animali e dagli scarichi urbani. I fattori correlabili alla sopravvivenza e alla diffusione dei microrganismi patogeni di origine fecale sulle sabbie delle spiagge sono numerosi. Tali fattori includono la natura degli arenili, i fenomeni di marea, l'immissione di acque reflue, la stagionalità, la presenza di animali e il numero di frequentatori.

Tuttavia, il rischio di contrarre infezioni associato al contatto con la sabbia è correlato alla presenza di acqua o umidità della sabbia stessa (*World Health Organization*, 2003). Infatti nelle spiagge bagnate dall'acqua, i microrganismi hanno tempi di sopravvivenza maggiori a seguito dell'apporto di sostanze nutritive presenti nell'acqua di mare (Papadakis *et al.*, 1997).

Desta grande preoccupazione questa problematica proprio perché le spiagge possono diventare dei serbatoi di vettori di infezione (Roses Codinach *et al.*, 1988). La componente batterica è per lo più rappresentata dai microrganismi di origine fecale coliformi totali, coliformi termotolleranti, ed *Escherichia coli*, enterococchi intestinali, clostridi e batteriofagi. Tra i batteri, *Clostridium perfringens* e *Campylobacter jejuni* sembrano essere particolarmente resistenti nell'ambiente, mentre *Staphylococcus* spp. è predominante sugli altri microrganismi isolati nella sabbia (Dowidart & Abdel-Monem, 1990), essendo correlato alle attività umane e alle alte densità di bagnanti (Papadakis *et al.*, 1997).

Studi recenti hanno dimostrato che l'infezione microbiologica è maggiormente diffusa nella sabbia piuttosto che nell'acqua adiacente, e che la sabbia stessa risulta essere un porto passivo per la contaminazione cumulativa. (Oliveira & Mendes, 1991; Oliveira & Mendes, 1992).

Il movimento dell'acqua causa erosione, trasporto e deposizione di tutti i sedimenti della spiaggia e quindi la redistribuzione dei microrganismi nell'ambiente circostante.

La presenza di coliformi totali, coliformi fecali, *E. coli* e streptococchi fecali nelle acque adiacenti le spiagge rappresenta un buon punto di partenza nello studio delle sabbie come vettori di malattie.

Molto spesso, associati ai batteri, nelle sabbie si trovano diversi generi di funghi, come saprofiti e patogeni opportunisti (Hoog *et al.* 2000). I funghi possono sopravvivere dai 25 ai 360 giorni nell'ambiente, attraverso la capacità di trasformarsi in forma resistente o sporigena; inoltre essi sono la componente con maggiore diversità specifica negli arenili, tra cui alcune specie potenzialmente patogene come *Candida albicans*.

L'eventuale propagazione dell'infezione attraverso il contagio da persona a persona, soprattutto in spiagge affollate è solo un'ipotesi non dimostrabile da evidenze significative (WHO, 1998; Mancini *et al.*, 2004). Esistono, invece, relativamente poche informazioni riguardo i virus nelle sabbie, la cui presenza è legata soprattutto ai mutamenti climatici stagionali (Nestor *et al.* 1984). Gli studi finora effettuati per valutare il potenziale rischio sanitario derivato dall'esposizione agli arenili (Nestor *et al.*, 1984; Mendes *et al.*, 1997), non hanno fornito alcuna evidenza epidemiologica (WHO, 1998).

Risulta evidente una relazione significativa tra la contaminazione delle spiagge e le acque marine adiacenti da parte di funghi e batteri, anche se generalmente la sabbia presenta maggiore concentrazione batterica dell'acqua (Aulicino *et al.*, 1985).

Batteri e loro patogenicità

Un certo numero di generi e di specie di batteri che si possono incontrare attraverso il contatto con la sabbia sono potenziali agenti patogeni. Tra questi, alcuni organismi di origine fecale sono utilizzati come indicatori dello stato di contaminazione nelle acque e di conseguenza nelle sabbie.

La Tabella 1 riporta le specie e i generi di batteri maggiormente diffusi nelle sabbie marine costiere.

Tabella 1. Specie e generi di batteri isolati nelle sabbie marine costiere

Genere/Specie	Riferimenti bibliografici
<i>Campylobacter jejuni</i>	Ghinserberg <i>et al.</i> , 1994
<i>Clostridium perfringens</i>	Roses Codinachs <i>et al.</i> , 1988
<i>P. aeruginosa</i>	Ghinserberg <i>et al.</i> , 1994; Mendes <i>et al.</i> , 1993
<i>Pseudomonas</i> spp	Ghinserberg <i>et al.</i> , 1994
<i>S. aureus</i>	Prado <i>et al.</i> , 1994; Popadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>S. epidermidis</i>	Prado <i>et al.</i> , 1994; Bonadonna <i>et al.</i> , 1993
<i>Shigella</i> spp.	Dabrowski, 1982
<i>Staphylococcus</i> spp.	Dowidart and Abdel-Monen, 1990; Prado <i>et al.</i> , 1994
<i>V. harvey</i>	WHO, 1998
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Aldova, 1989

La presenza di bacilli coliformi totali, bacilli coliformi termotolleranti, *E. coli* ed enterococchi nelle sabbie delle spiagge, e il loro rapporto – sia nella sabbia che nell'acqua – hanno interessato un campo di ricerca molto ampio, con dei risultati apparentemente contraddittori. Ad esempio, dallo studio dei campioni di superficie della sabbia a Marsiglia e Adge (in Francia), è emerso che i conteggi degli enterococchi intestinali, probabilmente provenienti dagli animali, erano superiori ai conteggi di altri indici (*Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France*, 1990).

Anche nelle sabbie di Taranto sono stati isolati coliformi tolleranti ed enterococchi intestinali (Signorile *et al.*, 1992); mentre i numeri più bassi di organismi fecali indicatori sono stati registrati nelle zone costiere di Tel Aviv, Israele e a Barcellona, Spagna.

In particolare, l'origine della presenza di *Staphylococcus* spp. nelle sabbie delle spiagge è generalmente da attribuirsi alle attività umane essendo stata evidenziata una diretta correlazione con il numero dei bagnanti che affollano le spiagge durante la stagione estiva. Inoltre l'abbondanza di *S. aureus* è direttamente proporzionale alla presenza dei lieviti di origine umana (Papadakis *et al.*, 1997).

Gli stafilococchi sono dei batteri di forma sferica del diametro di 0,5-1,5 micron, che nella maggior parte dei casi si presentano sotto forma di ammassi irregolari. Sono Gram positivi e anaerobi facoltativi. Pur non essendo sporigeni, gli stafilococchi mostrano una notevole resistenza a condizioni ambientali sfavorevoli, a tale proposito va ricordata la loro elevata

alofilia che li rende capaci di svilupparsi anche in presenza di concentrazioni elevate di NaCl al 10% e tra temperature comprese fra i 18 e i 40°C, quindi ben adattati in ambienti costieri.

Dal confronto effettuato tra i dati relativi alle correlazioni tra la presenza dei coliformi totali, coliformi termotolleranti, *E. coli*, enterococchi intestinali nelle sabbie e la loro corrispondente presenza nelle acque di mare antistanti, sono emersi risultati non sempre coincidenti. Tuttavia, in accordo con numerosi studi è emerso che *Staphylococcus* spp. è sempre predominante sugli altri batteri (Dowidart & Abdel-Monem, 1990).

In un lavoro pubblicato nel 1985, è stato trovato che l'indice di contaminazione batterica delle sabbie era sempre maggiore rispetto a quella presente nelle relative acque costiere (Aulicino *et al.*, 1985). Il medesimo risultato è stato riscontrato in studi su *Staphylococcus* spp. relativi alle coste Italiane (Mancini *et al.*, 2004), inoltre la densità di *Staphylococcus* spp. in sabbie appartenenti a zone costiere chiuse, era superiore rispetto alla densità rilevata nelle sabbie di zone a mare aperto (Bonadonna *et al.*, 1993).

Tra i batteri di origine enterica *Clostridium perfringens* potrebbe essere considerato un buon indicatore di contaminazione fecale nelle sabbie della zona interdittale delle coste del Regno Unito (Bonadonna *et al.*, 1993). In questo caso è stato dimostrato che i sedimenti hanno la funzione di ricettacolo per *Campylobacter* contribuendo ad aumentare la carica batterica superficiale delle acque (Obiri-Danso & Jones, 1997).

Alcune popolazioni sono principalmente associate con la pelle, con le ghiandole della pelle e con le membrane mucose degli animali a sangue freddo. Il *Campylobacter* è un altro microorganismo di origine enterica ritrovato nei sedimenti sabbiosi secondo della specie o della sottospecie particolare. Alcuni organismi possono essere isolati da una varietà di prodotti animali quali carne, latte, formaggio e da fonti ambientali come suoli, sabbie, polvere, aria o acqua naturale, altre specie sono patogeni opportunisti dell'uomo e degli animali. Soprattutto l'uomo è continuamente esposto al rischio di contaminazione, in quanto di norma la maggioranza degli individui adulti ospita stafilococchi potenzialmente patogeni sulla cute, e soprattutto a livello naso-faringeo. Alcune delle maggiori infezioni determinate dallo Stafilococco sono: foruncoli, carbonchi, impetigine, meningiti, mastiti, enterocoliti, vari ascessi ecc. (Bergey's Manual) (Garrity, 2005).

Miceti e loro patogenicità

I funghi responsabili di micosi nell'uomo si possono distinguere in tre gruppi sulla base della loro patogenicità:

- *Miceti patogeni primari*

In grado di invadere e svilupparsi nei tessuti di un ospite sano che non mostra alcuna predisposizione apparente all'infezione. Gli organismi infettanti sono presenti nell'ambiente occupando nicchie ecologiche ristrette e possono essere contratti per via aerea. Le infezioni da essi causate non sono trasmissibili da uomo a uomo e spesso sono asintomatiche. Le malattie, quando si manifestano, possono coinvolgere i polmoni e altri organi interni.

- *Miceti normalmente saprofiti ambientali*

Causano infezioni solo in individui immunodepressi e vengono definiti patogeni opportunisti (*Aspergillus*, *Candida*).

– *Miceti dermatofiti*

Sono parassiti obbligati e sono in grado di invadere un ospite sano. La patogenicità dei miceti si realizza quando riescono a penetrare in distretti anatomici diversi da quelli con cui vengono abitualmente in contatto; essi devono essere termotolleranti e in grado di utilizzare tutti i nutrienti disponibili. Possono indurre, reazioni allergiche e di ipersensibilità. Tali patologie si contraggono per inalazione o per contatto. Sono note anche le tossicosi alimentari provocate da aflatossine, sterigmatocistina e dall'acido penicillico.

Le micosi superficiali, i cui agenti responsabili sono i dermatofiti del genere *Microsporum*, *Trichophyton* e *Cladosporium*, possono causare patologie (tigne, dermatofitosi, ecc.) in vari distretti del corpo umano. Alcune specie sono geofile (*M. gypseum*, *T. terrestre*), mentre altre sono zoofile (*T. mentagrophytes*, *M. canis*) e possono causare infezioni anche nell'uomo. Esistono infine alcune specie patogene antropofile, tra cui *T. rubrum*.

In particolare *T. mentagrophytes* e *T. rubrum* sono specie associate alle infezioni cutanee e rappresentano rispettivamente gli agenti più comuni di dermatomicosi in Europa e nel mondo (Hoog *et al.*, 2000).

Le micosi sistemiche coinvolgono organi interni e possono essere causate sia da patogeni primari (*Blastomyces dermatitis*) che da patogeni opportunisti (*Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Mucor*).

Le micosi subcutanee, come la cromomicosi, sono tutte causate da saprofiti del suolo o della vegetazione tipici dei climi caldi. Le infezioni acquisite a causa di trapianti sono di solito croniche restando generalmente localizzate; l'infezione può anche diffondersi nei tessuti adiacenti attraverso i canali linfatici. La distinzione non è tuttavia sempre così netta.

L'incidenza di micosi provocate da miceti patogeni e opportunisti è in crescita rispetto al passato. Tra le infezioni nosocomiali, le candidosi sono aumentate del 300% tra il 1980 e il 1990 a causa dell'acquisizione dell'antibiotico-resistenza da parte di numerose specie.

La diffusione dei miceti segue il ciclo dell'acqua ed è destinata a crescere in funzione dell'aumento della pressione antropica e conseguentemente del carico organico.

La capacità di adesione delle singole cellule fungine al suolo è in genere ridotta mentre è maggiore per spore e conidi grazie alla loro idrofobicità di superficie; questa tuttavia aumenta quando si sviluppa il micelio.

Le infezioni fungine rimangono una delle principali cause di mortalità nei pazienti immunodepressi. Anche se *Candida* e *Aspergillus* rimangono i generi più comuni, altri generi come ad esempio *Alternaria*, stanno emergendo come patogeni opportunisti.

Studi effettuati su campioni di arenile di spiagge delle coste spagnole hanno consentito di individuare 16 specie di funghi alcune delle quali potenzialmente patogene; e la maggior parte delle specie isolate appartenevano ai generi *Penicillium*, *Aspergillus* e *Cladosporium* (Izquierdo *et al.*, 1986).

Ulteriori studi epidemiologici, relativi a due spiagge spagnole della regione di Malaga, hanno dimostrato l'esistenza di una correlazione significativa tra la presenza di microrganismi di origine fecale e quella di funghi dermatofiti (Borrego *et al.*, 1991).

In Tabella 2 sono elencate, invece, le specie e i generi di funghi che sono stati isolati nelle sabbie marine costiere italiane.

Tabella 2. Specie e generi di miceti isolati nelle sabbie marine costiere

Genere/ Specie	Riferimenti bibliografici
<i>A. fumigatus</i>	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986
<i>A. niger</i>	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>A. ochraceus</i>	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986
<i>Acremonium</i> sp.	Larrondo & Calvo, 1989
<i>Alternaria</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Larrondo & Calvo, 1989
<i>Aspergillus candidans</i>	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986
<i>Aspergillus</i> spp.	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986; Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Larrondo & Calvo, 1989
<i>C. guilliermondii</i>	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>C. krusei</i>	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>C. langeronii</i>	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>C. parapsilosis</i>	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>C. puilliermondi</i>	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>C. rugosa</i>	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>C. tropicalis</i>	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>Candida albicans</i>	Bernard <i>et al.</i> , 1988; Boiron <i>et al.</i> , 1983; Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>Candida</i> spp.	Bernard <i>et al.</i> , 1988
<i>Cephalosporium</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988
<i>Chrysosporium</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988
<i>Cladosporium</i> spp.	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986; Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Larrondo & Calvo, 1989
<i>Fusarium</i> sp.	Larrondo & Calvo, 1989; Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>Helmitosporum</i> sp.	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>Microsporum nanum</i>	WHO, 1998
<i>Monila</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988
<i>Mucor</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>Penicillium</i> spp	Izquierdo <i>et al.</i> , 1986; Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988; Larrondo & Calvo, 1989; Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>Pitirosporium orbiculare</i>	Papadakis <i>et al.</i> , 1997
<i>T. metagrophytes</i>	WHO, 1998
<i>Toluropsis</i> sp.	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>Trichophyton rubrum</i>	WHO, 1998
<i>Trichospora cutaneum</i>	Boiron <i>et al.</i> , 1983
<i>Verticillium</i> sp.	Roses Codinach <i>et al.</i> , 1988

SALUTE DELLE COSTE ITALIANE: CAMPAGNE DI MONITORAGGIO

L'obiettivo di questo lavoro è quello di definire la biodiversità microbica e fungina nelle sabbie e nelle acque delle coste marine italiane, e stabilire qual è la relazione tra la diffusione delle infezioni da parte di funghi e batteri durante il periodo di massimo affollamento delle spiagge.

Campioni di acqua e sabbia sono stati prelevati durante la campagna di monitoraggio di Goletta Verde del 1999 (campagna di Legambiente); mentre dal Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) sono stati analizzati solo campioni di sabbia prelevati dal litorale romano nel 2001.

L'indagine di Goletta Verde e quella effettuata lungo il litorale tirrenico hanno mostrato che la più alta densità delle specie di stafilococco, si riscontra nelle zone caratterizzate da frangiflutti, piuttosto che nelle sabbie degli spazi aperti.

Monitoraggio di Goletta Verde

Durante la campagna Goletta Verde 1999 di Legambiente, campagna di monitoraggio delle acque di balneazione, si è tentato di dare un quadro generale sulla salute delle nostre coste. I campioni di sabbia e acqua sono stati prelevati lungo il versante tirrenico e lungo quello adriatico, arrivando fino alla Sicilia, alla Sardegna e alle isole minori, interessando 15 regioni (Figura 1).



Figura 1. Localizzazione geografica dei siti di prelievo

Metodi di campionamento e analisi microbiologica

Sabbie

Il campionamento è stato effettuato raccogliendo lo strato superficiale asciutto di sabbia, mediante un contenitore sterile da 150 cc ad una distanza di circa 30 metri dalla riva. Durante il trasporto in laboratorio i campioni prelevati sono accuratamente conservati a 4°C, come previsto dai metodi standard (*American Public Health Association et al.*, 1998). La diluizione del campione viene eseguita con acqua distillata sterile (autoclave a 121°C per circa 20 min), nella proporzione di 1:10.

Dal campione sono stati prelevati 5 g di sabbia i quali sono stati successivamente trasferiti in una beuta sterile contenente 45 mL di H₂O. Attraverso il metodo delle membrane filtranti, su cellulosa, con pori del diametro di 0,45 µ è stata effettuata la filtrazione del campione; e veniva successivamente eseguito il trasferimento asettico di quest'ultime su piastra Petri contenente il terreno disidratato Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid). Il terreno di coltura è stato preparato aggiungendo un integratore a base di cloramfenicolo al fine di inibire la crescita batterica. Le piastre venivano incubate a 25°C per cinque giorni.

La lettura dei risultati, per quanto riguarda i batteri, è stata effettuata a livello macroscopico, valutando i tempi di crescita e la colorazione delle colonie, mentre la classificazione delle diverse specie di miceti, mediante un microscopio ottico è stata determinante per studiare la morfologia, le dimensioni e la colorazione delle ife e delle spore. La classificazione delle diverse specie è stata ottenuta anche con l'ausilio di atlanti. Le colonie rinvenute sono state espresse in Unità Formanti Colonia (UFC)/100 g.

Acque

Negli stessi siti sono stati prelevati campioni di acqua per la determinazione dei coliformi fecali e dei coliformi totali, due dei tre parametri microbiologici identificabili nel DPR 470/1982 (Italia, 1982), e degli *stafilococchi*.

I campioni di acqua sono stati prelevati ad un'altezza di 1,30 m dal fondo del mare, utilizzando contenitori sterili e conservati alla temperatura di ±4°C durante il trasporto in laboratorio.

L'analisi microbiologica del campione è stata effettuata entro le successive 24 h come previsto dai metodi standard.

Sono stati filtrati volumi di 10 mL di acqua applicando il metodo delle membrane filtranti per l'isolamento dei coliformi fecali, streptococchi fecali e stafilococchi. Tale tecnica prevede diluizioni seriali del campione con acqua sterile (Autoclave 121°C per 20 min). Aliquote di ogni campione vengono filtrate utilizzando filtri di nitrocellulosa da 45 µm che vengono posti in piastre Petri contenenti rispettivamente il terreno Teepol (Sartorius) per il conteggio delle colonie dei coliformi totali e fecali, e il terreno Baird-Parker (Oxoid) per l'analisi quantitativa degli stafilococchi. Le piastre per l'identificazione dei coliformi fecali sono state incubate a 44°C per 36/48 ore mentre quelle per gli stafilococchi sono state incubate a 37°C per 24 ore. I risultati delle analisi sono stati espressi in UFC/100 mL.

Le analisi chimico-fisiche delle acque (Ossigeno, Conducibilità, Salinità, pH e Temperatura) sono state eseguite mediante sonde multiparametriche (VWR International).

In aggiunta alle analisi microbiologiche e a quelle chimico-fisiche sono stati presi in considerazione parametri riguardanti:

- aspetto visivo;
- carico antropico;
- colore dell'acqua;

- direzione del vento;
- sedimento;
- situazione meteorologica;
- tipologia di spiaggia.

Infine l'analisi dei dati è stata effettuata mediante il software statistico SYSTAT versione 9.0.

Monitoraggio del litorale romano

Nel mese di luglio 2001 sono stati effettuati i campionamenti su cinque spiagge lungo il litorale laziale (Figura 2) allo scopo di confrontare i risultati ottenuti con quelli forniti da Legambiente nella campagna Goletta Verde 1999.

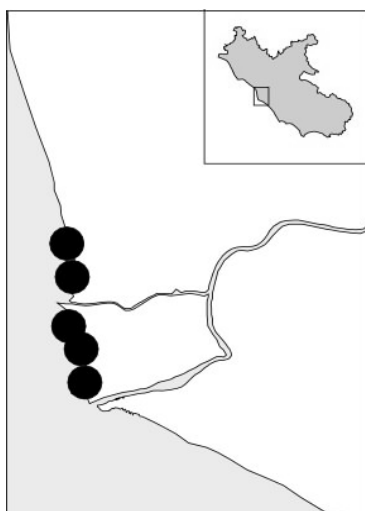


Figura 2. Localizzazione geografica dei siti di prelievo individuati sul litorale romano

Metodi di campionamento e analisi microbiologiche

Sabbie

I campioni sono stati raccolti giornalmente, alle ore 9.00, alle 14.00 e alle 18.00, per una settimana.

Delle cinque stazioni individuate per i campionamenti tre erano localizzate in spiagge libere e due presso stabilimenti balneari. Ad ogni prelievo è stato annotato il grado di pulizia e di affollamento delle spiagge. Il campionamento è stato effettuato raccogliendo lo strato superficiale asciutto di sabbia, con un contenitore sterile da 150 cc, ad una distanza di circa 30 metri dalla riva. Ogni campione è stato conservato a 4°C come previsto dai metodi standard (APHA, 1998).

Al momento dell'analisi il campione è stato diluito con acqua distillata (sterilizzata in autoclave in bottiglie di vetro a 121°C per circa 20 min), nella proporzione di 1:10 (5 g di sabbia

in 45 mL di H₂O) e filtrato, con il metodo delle membrane filtranti, su membrane di cellulosa con pori del diametro di 0,45 µ, trasferite poi asetticamente su piastra Petri contenente il terreno disidratato Baird-Parker (Oxoid) addizionato di emulsione di uovo e tellurito per la ricerca degli stafilococchi. Infine le piastre per la identificazione degli stafilococchi sono state incubate a 37°C per 24 ore. Le colonie rinvenute sono state espresse in UFC/100 mL.

Anche in questo caso l'analisi dei dati è stata effettuata mediante il software statistico SYSTAT versione 9.0.

CAMPAGNE DI MONITORAGGIO: DATI A CONFRONTO

L'importanza del confronto tra i dati forniti dalle due campagne di monitoraggio è determinante al fine di fornire informazioni riguardo ai microrganismi con cui l'uomo può venire in contatto, soprattutto quando si frequentano ambienti particolarmente affollati. È noto che quando funghi e batteri raggiungono i distretti anatomici dell'uomo possono indurre gravi allergie e reazioni di ipersensibilità: studi epidemiologici sugli indicatori di fecalizzazione (coliformi totali, coliformi fecali, *E. coli* ed enterococchi) hanno dimostrato una correlazione significativa tra contaminazione e relative patologie (WHO, 1998; Pruss, 1998).

I dati ottenuti sono stati elaborati al fine di produrre dei grafici esplicativi della distribuzione dei generi di miceti e batteri presenti nelle sabbie e nelle acque più rappresentativi e valutare la significatività statistica di tale distribuzione.

È stato anche valutato l'indice di correlazione tra inquinamento delle acque di balneazione (misurato attraverso la concentrazione di batteri fecali) e/o la presenza di stafilococchi nella sabbia. Infine lo stesso campione è stato saggiato per la determinazione tassonomica dei funghi.

Monitoraggio di Goletta Verde

Andando ad analizzare la distribuzione globale degli stafilococchi nelle acque e nelle sabbie delle regioni monitorate, emerge che, dal numero UFC/100 mL per ciascuna regione, la Toscana è la regione che presenta una maggiore concentrazione di stafilococchi soprattutto nelle sabbie; al contrario la Basilicata in cui il numero delle UFC/100 mL non è significativo. Il resto delle regioni mantiene un livello non superiore alle 5000 UFC/100 mL, con una media di circa 1982 UFC/100 mL. In 8 delle 15 regioni monitorate il numero degli stafilococchi rinvenuti nelle sabbie risulta di gran lunga superiore a quello ritrovato nelle acque (Figura 3).

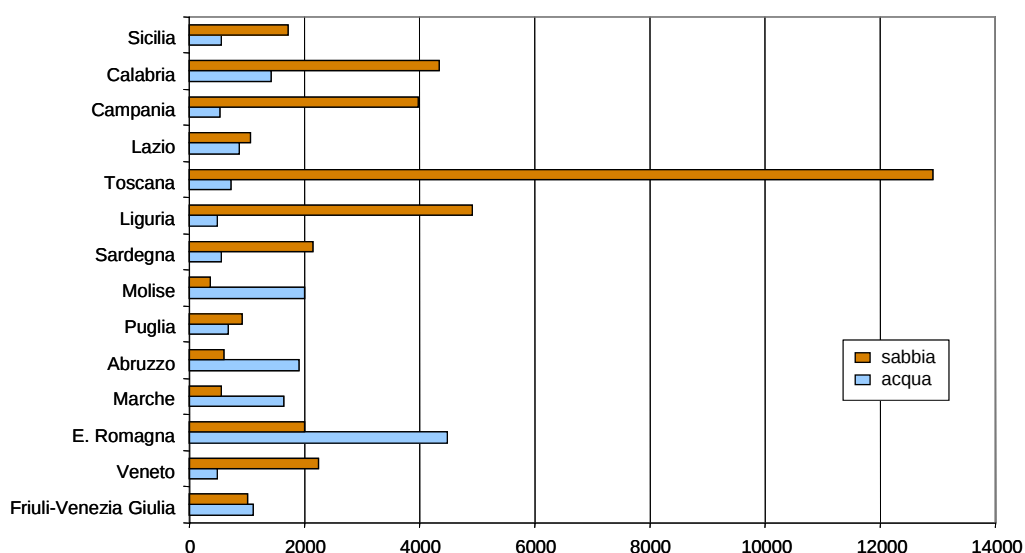


Figura 3. Distribuzione comparativa degli stafilococchi nelle acque e nelle sabbie delle 15 regioni monitorate

Per quanto riguarda i funghi invece, le differenze di colonizzazione non sono così marcate come per gli stafilococchi; infatti, la distribuzione di stafilococchi e funghi non ha evidenziato alcuna relazione. La presenza e la concentrazione di diversi generi di miceti nei punti di campionamento sono state calcolate per ottenere un valore totale per ogni regione e stimare la percentuale di ogni singolo genere così come è riportato in Figura 4.

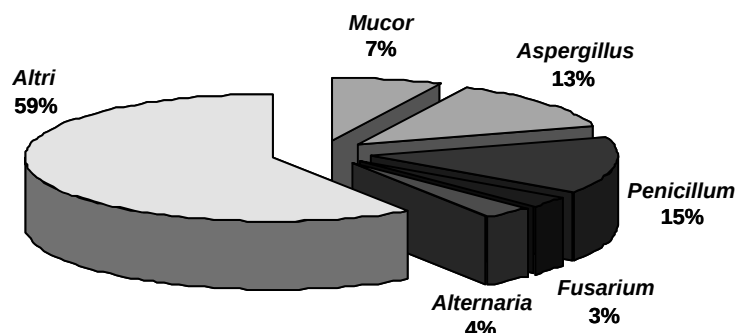


Figura 4. Percentuali dei miceti nelle sabbie degli arenili delle regioni monitorate

Analizzando il grafico in Figura 4, il genere prevalente è *Penicillium* seguito da *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria* e *Fusarium*. I dati regionali totali per ogni genere sono illustrati in Tabella 3.

Tabella 3. Percentuali relative di generi di funghi isolati dagli arenili delle regioni monitorate

Regione	<i>Mucor</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Pennicillium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Alternaria</i>	Altri
Abruzzo	1,3	26,0	24,7	2,6	6,5	39,0
Basilicata	0,0	3,7	0,0	0,0	0,0	96,3
Calabria	0,0	52,6	0,0	11,6	1,1	34,7
Campania	0,0	3,9	0,0	0,0	1,1	94,9
Emilia Romagna	35,1	0,0	49,5	0,0	5,0	10,4
Friuli-Venezia Giulia	33,3	0,0	0,0	0,0	0,0	66,7
Lazio	0,0	12,6	0,0	1,7	6,3	79,3
Liguria	13,0	4,3	8,7	0,0	0,0	73,9
Marche	2,6	12,2	0,0	10,4	21,7	53,0
Molise	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
Puglia	4,6	28,5	0,8	11,5	3,8	50,8
Sardegna	3,1	0,0	30,6	0,0	0,0	66,3
Sicilia	2,7	12,8	0,7	1,3	0,0	82,6
Toscana	0,5	20,0	52,1	0,9	0,5	26,0
Veneto	27,9	2,3	23,3	0,0	0,0	46,5

In due regioni, Emilia Romagna e Toscana, la percentuale di *Penicillium* ritrovata nelle sabbie risulta più elevata di quella dell'insieme di tutti i generi minori, anche se risulta però presente, in buona percentuale, soltanto in alcune regioni quali Veneto, Emilia Romagna, Abruzzo, Sardegna, Liguria e Toscana. Il genere *Aspergillus* è, invece, distribuito in più regioni, ma in percentuali minori. Il genere *Mucor* risulta abbondante in Emilia Romagna, Veneto e Friuli, mentre è presente, in basse percentuali nelle altre regioni, tranne in Basilicata, Molise, Lazio, Campania e Calabria. Da notare i generi *Fusarium* e *Alternaria*, i quali mostrano lo stesso andamento in tutte le regioni tranne in Emilia Romagna, Campania e Sicilia.

In Appendice sono riportati i valori medi di stafilococchi nelle acque e stafilococchi nelle sabbie e i valori assoluti dei funghi totali isolati dai campioni di arenile (Tabella A1) e i valori dei coliformi fecali, streptococchi fecali e i valori totali dei funghi presenti in ciascuna regione (Tabella A2).

Infine sono stati correlati i valori assoluti e medi dei seguenti parametri: coliformi fecali, streptococchi fecali, rapporto tra le concentrazioni degli stafilococchi nelle spiagge e nel mare, *Aspergillus*, *Candida* per ciascuna località monitorata con i relativi indici di affollamento (Tabella 4).

Tabella 4. Coliformi fecali, streptococchi fecali, stafilococchi nelle spiagge e nel mare, *Aspergillus*, *Candida* e relativi indici di affollamento in siti selezionati di alcune regioni italiane

Regione	A*	Funghi totali (UFC/100 g)	Candida	Aspergillus	Coliformi fecali (UFC/100 mL)	Streptococchi fecali (UFC/100 mL)	Stafilococchi	
							acqua	spiaggia
Veneto								
#1	2	1900	800	100	10	10	180	900
Marche								
#1	2	300	0	300	200	100	220	100
#2	1	1100	0	1000	10	10	2500	300
#3	2	1100	0	100	10	20	1400	200
Abruzzo								
#1	1	1900	0	1900	140	80	1800	1000
#2	1	800	0	100	300	300	530	30
Puglia								
#1	3	500	0	400	10	10	190	700
#2	3	400	0	100	30	10	300	600
#3	2	1900	0	700	30	10	150	1000
#4	3	3400	0	2500	10	10	20	200
Basilicata								
#1	2	200	0	100	20	40		
Liguria								
#1	2	200	0	100	60	10	80	200
#2	1	500	100		20	10	100	15000
Toscana								
#1	1	11000	0	2000	10	10	74	1000
#2	1	400	0	100	100	10	200	400
#3	2	200	0	100	100	30	1000	5000
#4	1	200	0	100	20	20	1000	10000
#5	2	1200	0	1000	70	10	2200	18000
#6	2	2400	0	1000	20	10	140	15000
#7	3	1000	1000		200	80	1500	1000
Lazio								
#1	2	2200	0	1000	300	60	900	100
#2	1	1400	0	1200	50	10	400	200
Campania								
#1	1	700	0	100	150	50	500	4000
#2	2	100	0	100	130	55	900	850
#3	1	1500	0	100	100	10	300	11000
#4	1	600	0	400	60	10	350	1500
Calabria								
#1	2	7000	1000	5000	100	40	850	6000
Sicilia								
#1	3	2400	0	700	10	10	–	–
#2	2	1600	0	700	10	10	–	–
#3	2	1800	0	500	10	10	80	700

*A (Affollamento): (1) elevato; (2) medio; (3) modesto.

Come si può notare dai valori riportati nella Tabella 4, la maggiore distribuzione di funghi e batteri è stata riscontrata soprattutto nelle regioni che presentano un valore elevato di affollamento quali Abruzzo, Liguria, Toscana, Lazio, Campania e Marche. È interessante notare che tra i funghi il genere *Aspergillus* segue lo stesso trend degli stafilococchi presenti sia nelle acque che nelle sabbie. Appare evidente che le zone che mostrano una concentrazione elevata di funghi e batteri, sono quelle in cui si riscontra anche il maggiore carico antropico.

L'indagine statistica si è conclusa con confronto tra le analisi delle principali componenti chimico-fisiche e quelle microbiologiche, correlando l'aspetto visivo dell'acqua con il relativo grado di inquinamento.

Per questa analisi sono stati scelti 6 Fattori (componenti principali) per fornire un quadro complessivo sulle condizioni dei siti esaminati.

Le variabili principali che definiscono il Fattore 1 sono: i coliformi fecali e gli streptococchi fecali, la salinità (con segno opposto, mari più salati sono meno inquinati). Dall'analisi della varianza risulta che i valori negativi corrispondono a bassi livelli di inquinamento, mentre quelli positivi sono indicativi di acque inquinate.

Il Fattore 2 mette in relazione gli stafilococchi dell'acqua di mare con la conducibilità dell'acqua; è interessante notare come non siano connessi ai coliformi e agli streptococchi. Questo è coerente con la loro differente origine.

Il Fattore 3 mostra i valori dei coefficienti di correlazione relativi a pH, conducibilità e ossigeno disciolto.

Il Fattore 4 comprende solo la tipologia della spiaggia in cui le relative caratteristiche igieniche e strutturali non sono associate a nessuna altra variabile.

È evidente poi come gli stafilococchi nel mare non siano nella stessa componente degli stafilococchi della sabbia, essendo questi ultimi legati al carico antropico (Fattore 5).

Il Fattore 6 indica come gli stafilococchi delle sabbie siano sensibili al tipo di sedimento.

In Tabella 5 sono riportati i profili dei coefficienti di correlazione tra variabili e componenti.

Tabella 5. Coefficienti di correlazione osservati tra variabili e componenti (in grassetto i valori significativi)

Parametri	Fattore 1	Fattore 2	Fattore 3	Fattore 4	Fattore 5	Fattore 6
Aspetto visivo	0,507	-0,132	0,078	0,402	0,163	0,036
Sedimento	-0,113	0,129	0,073	-0,393	-0,455	0,617
Carico antropico	-0,481	0,271	-0,067	-0,179	0,547	-0,126
Tipologia spiaggia	0,059	-0,462	0,141	0,592	-0,004	0,206
Temperatura	-0,265	0,450	0,051	0,326	-0,180	-0,420
pH	0,169	0,209	0,621	0,317	-0,321	-0,235
Conducibilità	-0,279	0,596	-0,549	0,272	-0,075	0,099
Salinità	-0,860	0,095	-0,229	0,240	-0,087	0,053
Ossigeno	-0,070	0,451	0,618	-0,099	0,114	0,313
Foce	0,150	-0,285	0,123	-0,337	0,379	-0,240
Coliformi fecali acqua	0,820	0,485	-0,247	-0,020	0,039	0,018
Streptococchi fecali mare	0,823	0,467	-0,245	0,010	0,023	0,040
Stafilococchi mare	0,196	-0,645	-0,404	0,104	-0,138	0,111
Stafilococchi spiaggia	-0,061	0,125	0,087	0,387	0,548	0,500

Come appare chiaramente dalla Tabella 5, la componente maggiormente significativa è il Fattore 1 il quale descrive essenzialmente l'inquinamento fognario.

Il Fattore 1 si presta pertanto come una valida misura globale del livello qualitativo delle acque (Tabella 6).

Tabella 6. Valori in ordine crescente del Fattore 1 nei vari siti esaminati

Località	Fattore 1	Località	Fattore 1
San Teodoro	-0,93166	Roccella Ionica	-0,25196
Campo nell'Elba	-0,83947	Cagliari/capoterra	-0,23897
Porto Cesareo	-0,83398	Pesaro/Pzle Trieste	-0,23838
Palermo/Mondello	-0,83073	Bivona	-0,22867
S.Vito lo Capo	-0,81487	Lerici	-0,22145
Castellana marina	-0,81012	Bova Marina	-0,21309
Stintino	-0,78737	Rodi Garganico	-0,19722
Torre Canne	-0,76275	Riccione/Viale Battisti	-0,18786
Erice	-0,75896	Civitanova Marche	-0,16024
Nardò	-0,74267	Paola	-0,13921
Marina di Camerota	-0,71247	Gizzeria Lido	-0,13387
Porto Rotondo	-0,70585	Fregene	-0,12611
Cefalù	-0,70417	Marina di Pisciotta	-0,11912
Otranto/Laghi Alimini	-0,69888	Senigallia/rotonda	-0,09596
Maddalena	-0,69862	Sapri	-0,09531
Santa Teresa di Gallura	-0,68553	Orbetello/Feniglia	-0,08691
Mola di Bari	-0,67911	Tirrenia	-0,07102
Lido di Metaponto	-0,66895	Misano Adriatico	-0,07025
Barcellona	-0,66678	Vasto Marina	-0,06325
Caprera/Cala Garibaldi	-0,65857	Marina di Cecina	-0,04000
Monopoli	-0,65427	Marina di Sarzana	-0,02498
Castellabate	-0,65172	San Benedetto del Tronto	0,14427
Costaverde	-0,64323	Pratica di Mare	0,14495
Arzachena	-0,63663	Lesina	0,15607
Fiascherino	-0,62466	Brindisi/Apani	0,15941
Pulsano	-0,61081	Policoro	0,18767
Paraggi	-0,60584	Cupra marittima	0,19994
Bogliasco	-0,59807	Gabicce Mare/Hotel Venus	0,25237
Gaeta	-0,59592	Cervia	0,31326
Sassari	-0,59355	Scalea	0,31802
Palmi	-0,59025	Savona	0,34051
Castiglione della Pescaia	-0,57703	Termoli	0,36035
Capoliveri	-0,56648	Sabaudia	0,39009
Marina di Campo	-0,54608	scaricatore Pradella	0,40520
Villasimius	-0,52648	Ortona/Lido Riccio	0,43811
Terracina	-0,51024	Bellaria/Rio Pircio	0,46484
Cavo	-0,50630	Tortoreto lido	0,54740
Otranto	-0,47677	Venezia Lido/Alberone	0,56003
Scicli	-0,42483	Pescara/Rotonda riva nord	0,63657
Ancona/sottopasso torrette	-0,41387	Lido di Classe	0,68966
S. Severa	-0,41032	Marina Romea	0,69240
Giglio/Cannelle	-0,39343	Isole lido/Playa Grande	0,73656
Cavi di Lavagna	-0,38651	Montenero di Bisaccia	0,73825
Rosignano Marittima	-0,37463	Roseto	0,86381
Portixeddu	-0,37350	Montesilvano	0,91217
Pescia Romana	-0,36811	Giulianova	0,98323
Arbatax	-0,33648	Lignano Sabbia D'oro	1,02202
Scanzano Ionico	-0,33358	Comacchio	1,07114
Caprera/spiaggia 2 mari	-0,32741	Foce Musone	1,07454
Alberese	-0,31535	M, di Ravenna/Riva verde	1,12919
Porto S. Elpidio	-0,31205	Chioggia/Isola Verde	1,23967
Vieste	-0,31166	Alba adriatica	1,36651
Sestri Levante	-0,31032	Pescara/Via Balilla	1,80561
Fano/Camping Luna verde	-0,30414	Cortellazzo / foce Piave	2,09672
Cagliari/Poetto	-0,28275	Reggio Calabria	2,23922
Gianicola	-0,27825	Foce Potenza	2,70775
Porto San Giorgio	-0,27520	Porto Tolle/ foce Po	7,59066

Monitoraggio del litorale romano

I dati relativi al litorale romano sono stati elaborati confrontando per ciascun giorno di campionamento la variazione di concentrazione nelle cinque stazioni monitorate alle ore 9.00, alle 14.00 e alle 18.00 (Figura 5).

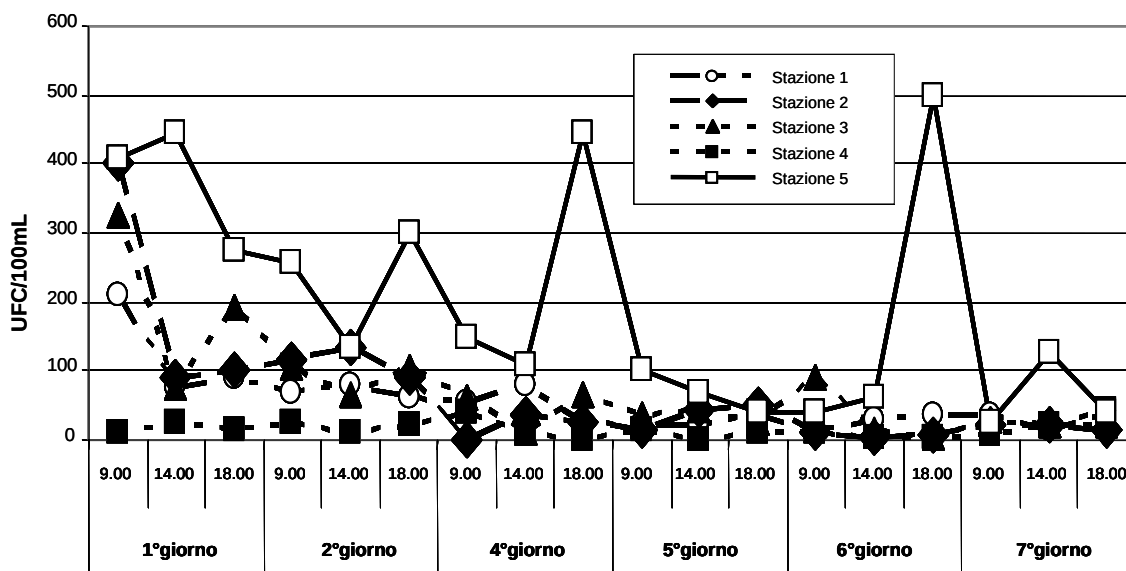


Figura 5. Andamento temporale della distribuzione degli stafilococchi nelle sabbie delle spiagge

Dall'osservazione dei risultati ottenuti, non si evince alcuna correlazione tra la variazione di concentrazione microbica nei 3 diversi orari di campionamento nelle 5 stazioni monitorate. Si osserva invece come la concentrazione di stafilococchi sia strettamente correlata all'affollamento della spiaggia e alla mancata pulizia e cura dello stesso arenile. La stazione 5, caratteristica per l'elevata frequentazione e la scarsa pulizia, risulta essere quella con una maggiore carica di stafilococchi durante tutta la settimana di monitoraggio. Per contro la stazione 4, situata presso uno stabilimento e mantenuta pulita, risulta essere quella con carica microbica più bassa. Si è osservato, infine, come la concentrazione di stafilococchi dopo il terzo giorno, in cui si è verificato un evento piovoso, e per tale motivo è stato impossibile raccogliere i campioni, sia diminuita in maniera significativa in tutte le stazioni.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Con il monitoraggio realizzato sulle coste italiane, è stato possibile ottenere un quadro generale della situazione riscontrata all'atto del prelievo. Dall'analisi dei risultati appare evidente come la distribuzione dei *taxa* micotici nelle sabbie, specialmente di alcune spiagge italiane, sia particolarmente uniforme e ubiquitaria.

Infatti, ad eccezione della Liguria e del Friuli-Venezia Giulia, nelle altre regioni monitorate, e in particolare in Emilia Romagna, Toscana, Lazio, Campania, Calabria e Sicilia, la distribuzione dei diversi generi di funghi appare rilevante. Il Lazio in particolare mostra la concentrazione maggiore, superiore ai $2,5 \times 10^3$ UFC/100g seguito dalla Emilia Romagna e Toscana con un valori di concentrazione rispettivamente intorno ai $2,5 \times 10^3$ UFC/100g e 2×10^3 UFC/100g. Non diversa risulta la situazione riscontrata nelle altre regioni. È da evidenziare, inoltre anche l'elevata presenza di stafilococchi in queste sabbie, direttamente connessa all'affollamento, conseguenza di una alta frequentazione delle spiagge.

Le sabbie della Toscana, della Liguria, Campania e Calabria si allineano tra loro su valori intorno a 4×10^3 UFC/100 mL, mentre Emilia Romagna, Veneto, Sardegna e Sicilia si allineano intorno a 2×10^3 UFC/100 mL. Meno rilevante appare invece la condizione delle sabbie del Molise, Marche, Puglia, Friuli-Venezia Giulia, Abruzzo e Lazio dove la concentrazione degli stafilococchi è risultata inferiore a 2×10^3 UFC/100 mL.

La presenza dei miceti e degli stafilococchi nelle sabbie delle spiagge non è strettamente correlata al rischio di contaminazione per la popolazione esposta (Izquierdo *et al.*, 1986), anche se l'esistenza di ferite sul corpo e l'esposizione di individui immunodepressi faciliti il contagio. Una corretta prevenzione al contagio di potenziali patogeni presenti sulle spiagge, può essere basata su controlli periodici riguardanti lo stato igienico delle spiagge nonché una regolamentazione nella frequentazione degli animali. Inoltre molti autori considerano fondamentale una frequente pulizia della sabbia mediante interventi meccanici, alternati all'utilizzo di prodotti chimici di disinfezione (pur tenendo conto dei possibili effetti ecotossicologici). Inoltre, un fattore fondamentale da non sottovalutare, è la densità di affollamento dei bagnanti, che tuttavia necessita di ulteriori studi di approfondimento.

L'elevata presenza di stafilococchi sulle spiagge indica un potenziale rischio per la diffusione delle malattie a seguito del quale viene rafforzata la tesi più volte avvalorata in letteratura riguardo l'opportunità di inserire questo parametro tra quelli già presenti per i controlli igienico-sanitari sulle acque di balneazione. Con questo lavoro si è voluto contribuire a valutare l'entità del fenomeno della contaminazione delle spiagge relative alle coste Italiane, ad opera di miceti e batteri, ai fini di una determinazione tassonomica e possibili correlazioni tra i diversi *taxa* in presenza di specifiche condizioni ambientali nelle diverse regioni Italiane.

In particolare nei risultati del monitoraggio degli stafilococchi nelle sabbie della costa laziale, si evince chiaramente una stretta correlazione tra la concentrazione degli stafilococchi e l'affollamento delle spiagge.

Dal quadro conclusivo ottenuto, si evince quindi che le sabbie delle spiagge rappresentano insieme ai relativi fattori biotici e abiotici, un complesso ecosistema ancora non completamente conosciuto; inoltre vista la non trascurabile importanza sanitaria del fenomeno, risulterebbero auspicabili ulteriori studi epidemiologici sulla valutazione del rischio di contagio di infezioni al fine di individuarne i fattori attraverso i quali ottenere una riduzione delle relative patologie oltre ad effettuare un adeguato piano nella prevenzione delle stesse patologie.

Un altro aspetto non di meno significativo di codesta indagine, è stato quello di dare ulteriori contributi alla nuova direttiva CE sulle acque di balneazione. Infatti, la direttiva comunitaria di

riferimento sulle acque di balneazione al momento delle campagne di monitoraggio era la 76/60/CEE che risale a 30 anni fa e fissa i criteri minimi di qualità ai quali devono rispondere le acque di balneazione. Eppure la sua importanza continua ad essere evidente ad ogni stagione balneare, visto che tutela le persone dall'inquinamento accidentale e cronico delle zone di balneazione europee e delle aree circostanti. Da quando la direttiva è entrata in vigore, comunque, la qualità delle acque di balneazione è notevolmente migliorata.

Tuttavia l'evoluzione scientifica e tecnologica ha imposto alla Commissione di riesaminare e aggiornare la propria legislazione, infatti, nel 2006 è stata pubblicata la nuova direttiva che rappresenta una pietra miliare per la razionalizzazione della normativa ambientale comunitaria nel settore delle acque. Tale normativa è finalizzata a preservare, proteggere e migliorare la salute umana, per questo motivo viene applicata a qualsiasi parte di acque superficiali in cui l'autorità competente prevede che un consistente numero di persone pratichi la balneazione. I cambiamenti principali della nuova direttiva riguardano una riduzione del numero di parametri da monitorare e l'introduzione di nuovi strumenti più efficaci.

BIBLIOGRAFIA

- American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. *Standard files methods for examination of water and waste-water*. 20th ed. Washington DC: APHA; 1998.
- Aulicino FA, Volterra L, Donati G. Faecal contamination of shore-line sands. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale* 1985;61(10):1469-76.
- Bernard P, Gueho E, Pesando D. *Recherche de dermatophytes et de moisissures pathogènes dans les sables des plages, 1986-87*. Athens: United Nations Environment Programme, Mediterranean Action Plan, Mediterranean Marine Pollution Monitoring and Research Programme; 1988. (MED POL Research Project Final Report).
- Boiron P, Agis F, Nguyen VH. Study of yeast flora of medical interest on the beach of Saint Anne in Guadeloupe. *Bullettin de la Société de Pathologie Exotique et de ses Filiales* 1983;76(4):351-6.
- Bonadonna L, de Mattia M, Liberti R, Volterra L. Presenza e distribuzione di stafilococchi in ambienti marini. *L'Igiene Moderna* 1993;99:706-14.
- Borrego JJ, Romero P, Marino F. *Epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga*. Athens: United Nations Environment Programme, Mediterranean Action Plan; 1991. (MAP Technical Reports Series No. 53).
- Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. *Qualité microbiologique des sables: essai d'un nouveau procédé de désinfection*. Paris : Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France; 1990.
- Dabrowski J. Isolation of *Shigella* genus bacteria from beach sand and water of the bay of Gdansk. *Bulletin of the Institute of Maritime and Tropical Medicine of Gdynia* 1982;33(1-2):49-53.
- Dowidart A, Abdel-Monen MH. Effect of chemical pollutants on bacterial counts in El-Temsah Lake area, Ismailia, Egypt. *Journal of the Egyptian Public Health Association* 1990;65(3-4):305-28.
- Dunsmore JD, Thomson RC, Bates IA. Prevalence and survival of *Toxocara canis* eggs in the urban environment of Perth, Australia. *Veterinary Parasitology* 1984;16(3-4):303-11.
- Garrity GM (Ed.). *Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. The Proteobacteria (in three parts)* (Vol. 2). New York: Springer; 2005.
- Ghinsberg RC, Leibowitz P, Witkin H, Mates A, Seimberg Y, Bar DL, Nitzan Y, Rogol M. Monitoring of selected bacteria and fungi in sand and seawater along the Tel-Aviv coast. *Microbios* 1994;77(310):29-40.
- Hoog GS de, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures; 2000.
- Italia. Decreto legislativo 8 giugno 1982, n 470. Attuazione della direttiva (CEE) n. 76/160 relativa alla qualità delle acque di balneazione. *Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 203, 26 luglio 1982.
- Unione Europea. Direttiva del Parlamento Europeo e del Consiglio relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione e che abroga la direttiva 76/160/CEE . Strasburgo, 15 febbraio 2006.
- Izquierdo J, Piera G, Aledany MC, Lucena F. *Estudio de la flora fungica de la arena de la playa de Barcelona*. Athens: United Nations Environment Programme, Mediterranean Action Plan, Mediterranean Marine Pollution Monitoring and Research Programme; 1986. (MED POL Research Project Final Report).
- Larrondo JV, Calvo MA. Fungal density in the sands of the Mediterranean coast beaches. *Mycopathologia* 1989;108(3):293-94.
- Mancini L, D'Angelo A, Pierdominici E, Anselmo L, Fazio L, Formichetti P, Iaconelli M, Pennelli B. Microbiological quality of Italian sea sands. *Microchemical Journal* 2004;79:257-61.

- Mendes B, Nascimento MJ, Oliveira JS. Preliminary characterisation and proposal of microbiological quality standard of sand beaches. *Water Science and Technology* 1993;27(3-4):453-56.
- Mendes B, Urbano P, Alves C, Lapa N, Norais J, Nascimento J, Oliveira JFS. Sanitary quality of sands from beaches of Azores islands. *Water Science and Technology* 1997;35(11-12):147-50.
- Nestor I, Costin-Lazar L, Sovrea D, Ionescu N. Detection of enteroviruses in sea water and beach sand. *Zetr Bakter Mikr Hyg ABT* 1984;178(5-6):527-34.
- Obiri-Danso K, Jones K. Seasonality of thermophilic *Campylobacter* and faecal indicators in sediments from the intertidal zone of Morecambe Bay. In: *Proceedings of the 9th International Workshop on Campylobacter, Helicobacter and Related Organisms*. Cape Town, 15-19 September 1997.
- Oliveira JS, Mendes BS Poluicao das prais e zonas litorais: Medidas cauteriales e normas de qualidade. In: *Reuniao o Sobre a Sobre a Gestau Municipal e a Gestau da Agua*. Cascais, Portuguese Association of Water Resources (APRH)/Municipality Service of Water and Sanification (SMAS); 1991.
- Oliveira JS, Mendes BS Qualidade da Agua do Litoral Portugues. In: *1^o Congresso da Agua Vol. 2* Lisbon, Portuguese Association of Water Resources (APRH); 1992. p. 155-79.
- Oshiro R, Fujioka R. Sand, soil and pigeon droppings: sources of indicator bacteria in the water of Hanauma Bay, Oahu, Hawaii. *Water Science and Technology* 1995;31(5-6):251-54.
- Papadakis JA, Mavridou A, Richardson SC, Lambiri M, Marcellou U. Bather related microbial and yeast population in sand and seawater. *Water Research* 1997;31(4):799-804.
- Prado B, Bernal P, Contreras M, Savedra M, del Moral A, Joyas M. Numerical taxonomy of staphylococci isolated from water and beach sand from Valparaiso and Viña del Mar, Chile. *Rev. Iberoam de Microbiol* 1994;36(2):71-7.
- Pruss A. Review of epidemiological studies on health effects from exposure to recreational water. *International Journal of Epidemiology* 1998;27:1-9.
- Roses Codinach M, Isern Vins AM, Ferrer Escobar MD, Fernandez Perez F. Microbiological contamination of sand from the Barcellona city beaches. *Revista de Sanidad e Higiene Publica* 1988;62(5-8):1537-44.
- Signorile G, Montagna MT, Sena G, Cavallo RA. Bacteriological surveys in waters and sands of Taranto coastal areas. *L'Igiene Moderna* 1992;98(3):475-83.
- World Health Organization. *Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1, Coastal and fresh waters*. Geneva: WHO; 2003.

APPENDICE
Valori di stafilococchi, coliformi
e streptococchi fecali nelle acque e nelle sabbie
e confronto con i valori dei funghi negli arenili
nei siti di campionamento

Tabella A1. Valori di coliformi fecali e streptococchi fecali nelle acque e valori assoluti dei funghi isolati negli arenili delle regioni italiane per sito di monitoraggio*

Regione	CF (UFC/100mL)	SF (UFC/100mL)	Funghi totale (UFC/100 g)	Funghi media (UFC/100 g) per regione
Friuli-V.Giulia (1)	10	10	300	300
FR12	10	10	300	
Veneto (5)	3420	1290	4300	860
V6	10	10	1000	
V8	10	10	1900	
V10	100	20	100	
V13	300	50	100	
V16	3000	1200	1200	
E. Romagna (10)	250	100	20200	2020
E2	10	10	100	
E6	30	10	100	
E7	10	10	1000	
E9	20	10	2000	
E12	20	10	600	
E 15	30	10	100	
E18	30	10	4100	
E20	10	10	2100	
E21	10	10	10000	
E22	80	10	100	
Marche (11)	780	420	11502	1046
M1	10	10	2100	
M2	10	10	100	
M4	30	10	100	
M6	10	10	1100	
M8	200	100	300	
M9	420	200	1700	
M10	10	10	1100	
M12	20	20	1200	
M13	10	10	1700	
M15	10	20	1100	
M18	50	20	1002	
Abruzzo (9)	1490	770	7700	856
A2	500	160	100	
A3	110	30	500	
A5	200	70	100	
A7	70	30	300	
A10	140	80	1900	
A12	300	300	800	
A13	60	70	1400	
A16	100	20	400	
A18	10	10	2200	

segue

*I singoli punti di campionamento sono indicati con le sigle utilizzate nel corso delle campagne

continua

Regione	CF (UFC/100mL)	SF (UFC/100mL)	Funghi totale (UFC/100 g)	Funghi media (UFC/100 g) per regione
Puglia (16)	280	200	13000	813
P10	10	10	500	
P9	30	10	400	
P11	20	30	200	
P12	50	10	300	
P14	20	10	400	
P16	10	10	100	
P18	10	10	200	
P21	10	10	100	
P29	10	30	1500	
P30	30	10	1900	
P35	10	10	200	
P36	10	10	3400	
P40	10	10	0	
P43	10	10	300	
P45	10	10	3400	
P46	30	10	100	
Basilicata (3)	530	200	2700	900
BA2	500	150	1300	
BA5	10	10	1200	
BA7	20	40	200	
Molise (2)	40	20	1900	950
MO2	30	10	900	
MO5	10	10	1000	
Sardegna (14)	470	190	9800	700
SA1	100	60	2800	
SA4	10	10	200	
SA7	10	10	0	
SA15	50	10	0	
SA17	10	10	5000	
SA19	10	10	0	
SA22	30	10	100	
SA24	80	10	0	
SA25	100	10	0	
SA29	10	10	100	
SA30	10	10	200	
SA39	10	10	100	
SA40	20	10	0	
SA44	20	10	1300	
Liguria (8)	200	80	2300	288
L13	60	10	200	
L18	70	10	100	
L23	10	10	300	
L26	10	10	100	
L27	10	10	1100	
L37	10	10	0	
L38	10	10	0	
L40	20	10	500	

segue

continua

Regione	CF (UFC/100mL)	SF (UFC/100mL)	Funghi totale (UFC/100 g)	Funghi media (UFC/100 g) per regione
Toscana (13)	710	240	11000	1654
T2	10	10	11000	
T5	100	10	400	
T10	50	10	2300	
T13	100	30	200	
T15	20	20	200	
T21	10	20	1000	
T23	30	10	1000	
T26	10	10	100	
T28	70	10	1200	
T35	80	10	0	
T37	20	10	2400	
T42	10	10	700	
T48	200	80	1000	
Lazio (7)	570	190	17400	2486
LA	70	10	700	
LA4	100	80	4000	
LA7	30	10	4000	
LA13	300	60	2200	
LA18	50	10	1400	
LA21	10	10	4000	
LA24	10	10	1100	
Campania (12)	1135	315	17800	1483
C2	10	10	0	
C3	30	10	0	
C6	150	50	700	
C8	30	10	0	
C15	130	55	100	
C18	65	10	700	
C26a	200	100	100	
C33	150	10	100	
C40	100	10	1500	
C42	200	30	14000	
C44	10	10	0	
C47	60	10	600	
Calabria (8)	2400	1020	9500	1188
CA4	10	10	1100	
CA10	1200	390	0	
CA13	100	40	7000	
CA19	10	10	0	
CA21	1000	540	1000	
CA2	30	10	0	
CA6	10	10	0	
CA8	40	10	400	
Sicilia (10)	350	140	14700	1633
S2	10	20	200	
S4	180	40	7000	
S13	10	10	2400	
S15	10	10	1600	
S19	20	10	1400	
S20	10	10		
S23	10	10	100	
S33	10	10	1800	
S43	80	10	100	
S49	10	10	100	

Tabella A2. Valori di stafilococchi nelle acque e valori assoluti dei funghi isolati negli arenili delle regioni italiane

Regione (n. siti monitorati)	Stafilococchi media acqua	Stafilococchi media sabbia	Funghi totale (UFC/100 g)	Funghi media (UFC/100 g)
Friuli-Venezia Giulia (1)	1100	1000	300	300
Veneto (5)	476	2240	4300	860
E. Romagna (10)	4470	2000	20200	2020
Marche (11)	1628	545	11502	1046
Abruzzo (9)	1914	593	7700	856
Puglia (16)	665	909	13000	813
Basilicata (3)	-	-	2700	900
Molise (2)	2000	350	1900	950
Sardegna (14)	551	2000	9800	700
Liguria (8)	487	4913	2300	288
Toscana (13)	714	12918	11000	1654
Lazio (7)	863	1057	17400	2486
Campania (12)	538	3988	17800	1483
Calabria (8)	1426	4329	9500	1188
Sicilia (10)	543	1700	14700	1633

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, settembre 2006 (n. 3) 13° Suppl.