

STUDIO BASELINE SULLA QUALITÀ MICROBIOLOGICA E CHIMICO-FISICA DELL'ACQUA DI ABBEVERATA IN ALLEVAMENTI SUINI IN VENETO

MICROBIOLOGICAL AND CHEMICAL-PHYSICAL QUALITY OF WELL WATER IN SWINE FARMS: A BASELINE SURVEY IN VENETO

GIACOMELLI M.¹, DRIGO M.², PASOTTO D.², PICCIRILLO A.¹, MENANDRO ML.²,
RIBAUDO G.³, ZAGOTTO G.³ e MONTESISSA C.¹

¹*Dipartimento di Biomedicina Comparata e Alimentazione (BCA),
Università degli Studi di Padova;*

²*Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute (MAPS),
Università degli Studi di Padova;*

³*Dipartimento Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche,
Università degli Studi di Padova.*

Parole chiave: acqua di abbeverata, qualità chimico-fisica, qualità microbiologica

Keywords: animal watering, chemical-physical quality, microbiological quality

Riassunto

L'acqua è uno dei nutrienti fondamentali e frequentemente per l'abbeverata degli animali viene impiegata acqua di pozzo. Mentre i parametri di qualità dell'acqua per il consumo umano sono strettamente regolati, non esistono specifici requisiti biologici e chimico-fisici per le acque utilizzate per l'abbeverata in allevamento. Per questo motivo è stato condotto in 20 aziende suinicole della Regione del Veneto uno studio *baseline* di valutazione della qualità microbiologica e chimico-fisica dell'acqua utilizzata in allevamento. I campioni sono stati raccolti due volte in un anno, in estate ed inverno, in 3 punti differenti del sistema di distribuzione. Ogni campione è stato analizzato per durezza, contenuto ammoniacale, sostanze organiche complessivamente disciolte e quantificazione degli anioni e cationi. La carica batterica totale a 22 °C e 37 °C, presenza e numerazione di *Enterococcus* spp. e *E. coli*, e la presenza di *Campylobacter* spp. sono stati i parametri microbiologici valutati. La qualità chimico-fisica dell'acqua di abbeverata è risultata frequentemente entro i limiti richiesti per l'acqua potabile. Anche la qualità microbiologica è risultata complessivamente di alto livello al pozzo, con contaminazioni contenute a livello del punto di abbeverata. Questi risultati serviranno per altri studi rivolti a determinare la solubilità e stabilità di farmaci somministrati tramite l'acqua di abbeverata per comprendere l'influenza della sua qualità quando usata come veicolo di medicazione.

Abstract

Water is an essential nutrient for livestock and groundwater is frequently used for animal watering. While the quality of water for human consumption is strictly regulated, no specific requirements exist regarding biological, chemical and physical parameters of water for livestock supply. Therefore, a baseline study involving 20 swine farms was conducted in the Veneto Region to evaluate some chemical, physical and microbiological properties of drinking water for livestock. Water samples were collected 2 times per year, in summer and winter, at 3 different points of the water distribution system. Each sample was evaluated for water hardness, ammonia content and organic and inorganic oxygen demand. Cationic and anionic species were also quantified. Total

bacterial count at 22 °C and 37 °C, presence and enumeration of *Enterococcus* spp. and *E. coli*, and presence of *Campylobacter* spp. were evaluated as microbiological parameters. Results of chemical and physical analyses showed that the quality profile of water for livestock consumption is frequently within the limit of tap water for human use. Similarly, the microbiological quality of well water was found to be high, with limited contaminations detected in samples collected from the nipples. These findings lay the foundations for further studies aimed at determining the solubility and stability of drugs delivered to livestock via medicated water, to understand the influence of water quality when used as medication vehicle.

INTRODUZIONE

In seguito alla recente normativa sul benessere animale, l'acqua di abbeverata degli animali in allevamento dovrebbe essere monitorata sia per assicurarne la disponibilità, sia per garantirne la qualità, prerequisito della salute e del benessere degli animali allevati. Per diversi motivi, non ultimi quelli economici, molti allevamenti suinicoli si riforniscono tramite pozzi da acqua di falda e pochi sono quelli allacciati alla rete idrica. L'acqua destinata all'abbeverata deve comunque essere di buona qualità (D.lgs. 53/2004), perché in caso contrario acque non idonee possono comportare problemi sanitari, riduzione delle prestazioni produttive, alterazione della qualità dei prodotti e danni alle attrezzature (Enne *et al.*, 2006). Negli ultimi anni è stato fatto uno sforzo notevole per migliorare il controllo dei contaminanti chimici e biologici nell'alimentazione animale, ma resta una sostanziale carenza scientifica riguardo le contaminazioni dell'acqua di abbeverata che può essere un importante veicolo di tossici agli animali e di conseguenza agli alimenti da essi prodotti. I batteri presenti nei reflui degli allevamenti possono contaminare le acque di superficie allo stesso modo dei residui di pesticidi utilizzati come fitofarmaci nelle coltivazioni adiacenti gli allevamenti (Rossi e Gastaldo, 2005).

Sebbene in UE non siano previste norme specifiche relative alle caratteristiche di qualità dell'acqua di bevanda degli animali, la Direttiva 98/58/EC stabiliva, già dal 1998, che a tutti gli animali allevati dovesse essere garantita acqua di qualità (Enne *et al.*, 2006). In Italia, le caratteristiche di qualità dell'acqua per animali vengono riferite a quelle riportate nel D.lgs. 31/2001 che regola le acque per uso umano e riporta le specifiche di "indicatori" quali colore, odore, sapore, torbidità, durezza, ma anche numerosi altri parametri microbiologici e chimici. Un'acqua di qualità è quindi un requisito fondamentale e non va dimenticato che in alcune tipologie di allevamento, compreso quello suinicolo, l'acqua gioca un ruolo importante quale veicolo per la medicazione degli animali. L'alterazione dei parametri chimico-fisici e microbiologici può influenzare la solubilità e la stabilità in soluzione dei farmaci impiegati e quindi l'efficacia della terapia (Enne *et al.*, 2006). Per questo motivo, nell'ambito di un progetto finanziato dall'Ateneo di Padova nel 2011 (Prot. CPDA113807), con lo scopo di monitorare la qualità dell'acqua di pozzo in almeno 20 allevamenti suinicoli del Veneto, oltre alla durezza, al pH e alla salinità dell'acqua, sono stati valutati numerosi parametri chimici, tra cui la presenza di anioni indici di inquinamento agricolo quali nitrati e solfati, quella di cationi indicatori di inquinamento industriale quali cadmio, piombo e arsenico e infine di materiale organico disciolto che insieme ai cationi può interferire anche con la solubilità dei farmaci e la loro stabilità in soluzione (Bonato, 2007). È stata valutata anche la qualità microbiologica dell'acqua analizzando i seguenti parametri: cariche batteriche totali a 22 °C e 37 °C e presenza ed enumerazione di *E. coli* ed enterococchi quali indicatori di inquinamento fecale. Il conteggio delle colonie batteriche a 22 °C è un indicatore di scarso significato sanitario, ma è utile per valutare l'efficacia del trattamento dell'acqua, o per valutare la pulizia e l'integrità del sistema di distribuzione. Un incremento nel conteggio delle colonie batteriche a 37 °C può rappresentare un segnale precoce d'inquinamento antropico e la loro presenza cospicua può essere responsabile

di malattie come gastroenteriti e infezioni della cute e delle mucose, particolarmente in animali con compromissione del sistema immunitario (Bonato, 2007). Infine, poiché i suini sono un *reservoir* di batteri del genere *Campylobacter*, in particolare di *C. coli* ma anche di *C. jejuni*, con prevalenze comprese tra il 50% e il 100% (Weijtens *et al.*, 1997; Fosse *et al.*, 2008; EFSA-ECDC, 2013) e poiché *Campylobacter* è considerato tra i maggiori rischi biologici trasmissibili ai consumatori tramite la carne suina (Fosse *et al.*, 2008), oltre ai classici parametri microbiologici è stato valutato il ruolo dell'acqua di abbeverata quale fonte di infezione da *Campylobacter* anche per l'allevamento suino. Gli studi svolti al riguardo nei suini sono molto scarsi, ma l'infezione degli animali sembra avvenire per via orizzontale dall'ambiente di allevamento (Weijtens *et al.*, 2000) e la somministrazione di acqua di pozzo contaminata è stata implicata nell'introduzione di *Campylobacter* in allevamenti avicoli (Zimmer *et al.*, 2003; Pérez-Boto *et al.*, 2010).

MATERIALI E METODI

Campionamento: allo studio hanno partecipato 20 allevamenti di suini della Regione del Veneto (province di Padova, Treviso, Vicenza e Verona), riforniti con acqua di pozzo quale unica fonte per l'abbeverata degli animali. In ogni azienda sono stati raccolti campioni di acqua in tre punti: dal pozzo (punto A), da un punto intermedio della linea di distribuzione, solitamente in corrispondenza di un sistema di medicazione dell'acqua se già presente, o comunque in un punto adatto alla sua installazione (punto B) e dal punto di abbeverata (punto C). I campionamenti sono stati svolti due volte nell'anno solare 2012, in corrispondenza della stagione estiva e di quella invernale. Tutti i campioni sono stati prelevati in contenitori sterili e trasportati al laboratorio a temperatura di refrigerazione e immediatamente processati per l'analisi microbiologica, conservati in frigo e processati entro 48 ore per le analisi chimico-fisiche.

Esami microbiologici: le analisi microbiologiche sono state compiute su campioni da un litro di acqua, prelevati nel punto A e nel punto C, sottoposti ad analisi per la definizione della carica batterica totale a 22 °C e a 37 °C; inoltre, è stata effettuata la ricerca e numerazione di *Enterococcus* spp. e di *E. coli*. Non esistendo una normativa specifica per le acque di abbeverata, nel presente lavoro si è scelto di effettuare le analisi nel rispetto delle procedure ISO stabilite dalla Direttiva Europea 98/83/CE sulle acque destinate al consumo umano e recepite in Italia dal D.Lgs. n. 31/01 (rispettivamente ISO 6222, ISO 7899-2 e ISO 9308-1). Per la preparazione delle diluizioni decimali seriali utilizzate per la determinazione della carica microbica totale a 22 °C e a 37 °C si è fatto riferimento all'ISO 6887-1, mentre per l'applicazione pratica della tecnica delle membrane filtranti si è fatto riferimento alla procedura dettata dall'ISO 8199.

Ricerca di *Campylobacter* spp.: la ricerca di *Campylobacter* spp. è stata svolta in campioni di 2 litri di acqua prelevati ai punti A e C. Ciascun campione, diviso in due aliquote da 1 litro, è stato analizzato con due diverse metodiche per il rilievo di *Campylobacter* spp.: isolamento in coltura e *real-time* PCR.

Per l'isolamento in coltura di *Campylobacter* spp. i campioni sono stati processati seguendo i principi della metodica standard per il rilievo di *Campylobacter* termotolleranti dall'acqua (ISO 17995), alla quale sono state apportate lievi modifiche (SCA, 2002; Williams *et al.*, 2012). I campioni di acqua sono stati sottoposti a filtrazione attraverso una membrana sterile con pori del diametro di 0,2 µm (Sartorius, Goettingen, Germania) tramite un sistema di pompa a vuoto. Successivamente, ciascuna membrana singolarmente è stata inoculata in 50 ml di brodo di arricchimento selettivo Exeter (Mast Diagnostics, Merseyside, UK), e il campione ottenuto incubato a 41,5 °C in condizioni di microaerofilia. Dopo 48 ore di incubazione, un'aliquota (200 µl) di ciascuna brodocoltura è stata seminata su Karmali agar (OXOID, Basingstoke, UK),

previa filtrazione passiva secondo la procedura descritta da Giacomelli *et al.* (2012). Le piastre sono state incubate per 48 ore a 41,5 °C in microaerofilia e quindi esaminate per la ricerca delle colonie tipiche di *Campylobacter* spp. Le colonie sospette sono state sottoposte a *multiplex end-point* PCR per l'identificazione di genere e specie, secondo il protocollo di Yamazaki-Matsune *et al.* (2007).

Per la *real-time* PCR ciascuna aliquota è stata filtrata attraverso membrane sterili con pori del diametro di 0,2 µm (Sartorius). I filtri sono stati posti in provette con 5 ml di acqua deionizzata sterile e agitati vigorosamente. Un'aliquota di 3 ml della soluzione così ottenuta è stata centrifugata a 5.000 rpm per 10 minuti, mentre i rimanenti 2 ml sono stati conservati a -20 °C. Il pellet è stato risospeso in 200 µl di PBS e sottoposto a estrazione del DNA utilizzando l'High Pure Template Preparation Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Il DNA estratto è stato sottoposto a un saggio di *multiplex real-time* PCR con sonde Taqman® e primer specifici per *C. jejuni* e *C. coli*, come descritto da Toplak *et al.* (2012).

Analisi chimico/fisiche: al momento del prelievo dal pozzo per ogni campione è stata registrata la profondità del pozzo di prelievo, la temperatura dell'acqua, il pH, la conducibilità e la salinità mediante sonda YSI Model 85 (YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, USA). Tutti i campioni prelevati sono stati sottoposti ad analisi con il metodo di Kubel per la valutazione delle sostanze organiche complessivamente disciolte, con il metodo di Nessler per titolare l'Ammoniaca, mediante cromatografia ionica per determinare gli anioni Cloruri, Nitriti, Nitrati, Fosfati, Solfati (LOQ 0,1 mg/L) e con spettrometria di massa a plasma accoppiato induttivamente (ICP) per la valutazione di Alluminio, Arsenico, Boro, Bario, Calcio, Cadmio, Cobalto, Cromo, Rame, Ferro, Potassio, Magnesio, Manganese, Molibdeno, Sodio, Nichel, Piombo, Antimonio, Selenio, Silicio, Titanio, Vanadio, Piombo, Stagno, Zolfo, Mercurio, Zinco (LOQ 0,01 mg/L). La modalità di trattamento dei campioni e tutti i metodi analitici riportati per il controllo dei parametri di qualità chimici sono conformi a quanto riportato dal D.lgs. 152/2006 (Istituto Superiore di Sanità, 2007).

RISULTATI E DISCUSSIONE

Parametri microbiologici: la carica batterica totale a 37 °C e 22 °C rilevata ai punti A ha dimostrato valori quasi sempre più bassi dei valori limite stabiliti per l'acqua potabile a uso umano (rispettivamente < 20ufc/ml e < 100 ufc/ml). Nei punti C invece si sono rilevati frequentemente valori superiori a tale limite e più elevati nei campionamenti estivi rispetto a quelli invernali. In tutti i campionamenti effettuati è stato riscontrato solo un caso di presenza sia di enterococchi che di *E. coli* al punto A. Questa non conformità, indice di inquinamento fecale, è stata registrata in inverno in un contesto caratterizzato da intensa piovosità nel periodo precedente il campionamento che, associato all'orografia del territorio, ha comportato un inquinamento della falda che ha imposto inoltre un'ordinanza comunale di divieto dell'uso dell'acqua della falda per il consumo umano. Va segnalato inoltre che la profondità del pozzo era attorno ai 50 metri; le misure non conformi rispetto ai limiti di riferimento si sono registrate nei pozzi più superficiali ovvero entro i 60 metri di profondità (Figura 1).

Ricerca di *Campylobacter* spp.: entrambe le metodiche utilizzate hanno rilevato *Campylobacter* raramente. In particolare, nella stagione estiva il microrganismo è stato riscontrato soltanto nel campione prelevato al punto C dell'allevamento VR17, dal quale sono stati isolati ceppi di *C. coli*, mentre la *real-time* PCR ha rilevato la presenza contemporanea di *C. coli* e *C. jejuni* nello stesso campione. Un numero maggiore, seppur limitato, di positività è stato invece riscontrato nella stagione invernale, con differenze tra l'esito dell'isolamento in coltura e della *real-time* PCR. La prima metodica ha rilevato tre campioni positivi in due allevamenti (punto C dell'allevamento

PD08, entrambi i punti nell'allevamento TV10), con isolamento di microrganismi appartenenti alla specie *C. coli*. La *real-time* PCR invece ha confermato la positività dell'allevamento TV10 ed ha rilevato *Campylobacter* in ulteriori 10 campioni di acqua provenienti da 6 aziende: punto A dell'allevamento VR17, entrambi i punti di prelievo negli allevamenti VI12, TV13, TV18, TV19, e punto C dell'allevamento TV11. Nello specifico, negli allevamenti TV10, TV11, VI12, TV13 e al punto A di TV19 è stato rilevato solo *C. coli*, mentre negli altri campioni positivi sono stati riscontrati sia *C. jejuni*, sia *C. coli*. La scarsa frequenza con la quale *Campylobacter* è stato riscontrato nell'acqua di abbeverata suggerisce che questa non sia un'importante fonte d'introduzione di questo microrganismo negli allevamenti suinicoli. In particolare, *Campylobacter* è stato isolato molto raramente in coltura, mentre un numero maggiore di positività è stato rilevato dall'analisi in *real-time* PCR. Questo riscontro evidenzia il noto limite delle metodiche di isolamento di *Campylobacter* dall'acqua, che possono esitare in sottostima della presenza del microrganismo e risultati falsamente negativi. Ciò dipende dall'estrema suscettibilità di *Campylobacter*, la cui vitalità, e di conseguenza possibilità di isolamento in coltura, si riduce rapidamente in seguito a variazioni anche minime delle condizioni chimico-fisiche del substrato nel quale si trova. Inoltre, nell'acqua *Campylobacter* può essere presente anche nella cosiddetta forma "vitale ma non coltivabile" (*viable but not-culturable*, VBNC), la quale comporta dei cambiamenti fisiologici e morfologici che gli permettono di sopravvivere anche in condizioni avverse (Rollins e Colwell, 1986) e che non è rilevabile tramite coltura batterica. Per questi motivi, nel presente studio si è scelto di sommare alla procedura di isolamento in coltura una metodica di biologia molecolare quale la *real-time* PCR, la quale, avendo come target in DNA del microrganismo, è in grado di rilevarne la presenza anche in condizioni di non coltivabilità. I risultati ottenuti confermano l'importanza dell'impiego di metodiche alternative a quelle classiche per la ricerca di *Campylobacter* nell'acqua.

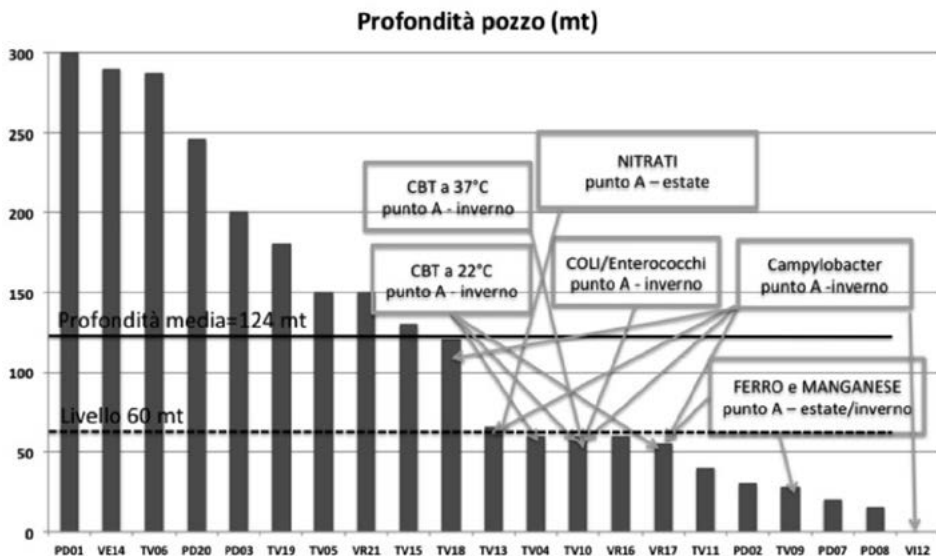


Figura 1. Profondità dei pozzi e parametri superiori al limite di riferimento al punto A.
Figure 1. Depth of wells and parameters higher than reference limit at point A.

Analisi chimico/fisiche: le tecniche analitiche adottate ci hanno permesso di indagare e quantificare, per i 120 campioni di acqua prelevati dagli allevamenti suini, in estate ed in inverno, le concentrazioni di NH_3 e di sostanza organica disciolta, di Al, As, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Si, Ti, V, P, S, Sn, Hg, Zn, come degli anioni Cl^- , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} . Complessivamente sono stati registrati solo 30 risultati anomali su 4500 dati analitici.

La salinità è un parametro molto importante da considerare per l'abbeverata degli animali; essa è equivalente ai solidi totali disciolti (STD), i quali vengono espressi come milligrammi di residuo fisso per litro di acqua dopo essiccamento a 180 °C. I campioni di acqua prelevati dai 20 pozzi presentavano una *range* di salinità compreso tra 200 mg/L e 400 mg/L. Questi sono considerati valori limite per l'acqua di bevanda, anche se i primi effetti negativi sull'organismo sono evidenti con STD superiore a 3.000 mg/l (Rossi e Gastaldo, 2005; Enne *et al.*, 2006).

Con l'eccezione di PD20 e TV09, tutti i campioni al punto A presentavano una durezza (contenuto di sali di calcio, magnesio e ioni disciolti come carbonati, bicarbonati, solfati, nitrati e cloruri) compresa tra 30 °F e 50 °F, pari a un contenuto di 300-500 mg/l di CaCO_3 . In funzione anche di altri fattori, come il pH e la presenza di bicarbonato, l'acqua con una durezza superiore a 200 mg/l può causare depositi e incrostazioni di carbonato di calcio nei sistemi di distribuzione e sulle superfici di contatto, e interferire con la dissoluzione e l'assorbimento di Tetraciclina (Enne *et al.*, 2006; Bonato, 2007).

Per quanto riguarda il pH, tutti i campioni al punto A rientravano in un *range* di accettabilità, pari a valori compresi fra 6,5 e 8,5. In generale acque con pH al di fuori di questo *range* possono contribuire a una scadente conversione dell'alimento e a una minore ingestione di acqua e alimento, all'insorgenza di turbe del metabolismo e della fertilità, diarrea, oltre alla precipitazione di alcuni farmaci somministrati con l'acqua, con possibilità di tempi di sospensione prolungati e di presenza di residui di medicinali nelle carcasse (Rossi e Gastaldo, 2005; Enne *et al.*, 2006). Inoltre, anche se il pH è soltanto uno dei vari fattori che determinano il grado di corrosione, in generale più basso è il pH, più alta è la capacità di corrosione dell'acqua. Acque particolarmente acide (pH < 5-5,5) possono provocare negli animali problemi all'apparato urinario e digestivo, fenomeni di demineralizzazione e fragilità scheletrica e corrosione dei materiali dei tubi di trasporto (Enne *et al.*, 2006).

La positività per ammoniaca è stata rilevata in un solo campione (TV09, punto C), che presentava anche una quantità elevata di materia organica, dati spesso correlati alla contaminazione da allevamenti intensivi. Tuttavia, una contaminazione con ammoniaca può anche derivare da impianti e condutture di cemento (per rilascio), oppure può essere una conseguenza della disinfezione con clorammina o dell'acidificazione dell'acqua di bevanda (Bonato, 2007).

In 2 allevamenti (TV04 e VR17) i campioni al punto A presentano valori di ferro > 1mg/l e di manganese > 0,05mg/l, il primo nel solo periodo invernale, mentre il secondo in entrambe le stagioni. Il ferro è un contaminante naturale, ma in genere la sua concentrazione non supera gli 0,3 mg/l. In conseguenza al suo impiego come coagulante (per depurazione di acqua) il ferro può aumentare nell'acqua trattata e distribuita, così come in seguito al suo rilascio dalle tubature dei sistemi di distribuzione per corrosione delle stesse (TV09 e TV03, punto C). Concentrazioni superiori a 2 mg/l possono ridurre il flusso idrico nelle tubature per fenomeni di flocculazione e accelerare il processo di degradazione di antibatterici come gli Aminoglicosidi; mentre a 5 mg/l il ferro può inattivare le Tetraciclina (Bonato, 2007). Il manganese si trova naturalmente in molte fonti d'acqua superficiali e profonde, in sospensione o disciolto, con concentrazioni che variano da 0,001 a 0,6

mg/l. A concentrazioni superiori a 0,1 mg/l (TV04, TV05 e VR17, punto A) il manganese conferisce all'acqua un sapore sgradevole, mentre a partire dalla concentrazione di 0,02 mg/l può dar luogo alla formazione di depositi scuri nelle condutture e alterare la colorazione dell'acqua. Inoltre, in presenza di microrganismi in grado di concentrare il manganese, possono insorgere problemi di sapore, odore e torbidità dell'acqua di bevanda (Bonato, 2007).

Nelle acque superficiali la concentrazione di nitrati (NO_3^-) è in genere ridotta (0-18 mg/l), ma può raggiungere livelli più elevati in caso di contaminazione con acque di dilavamento di discariche di rifiuti, o con reflui di origine agricola, umana, animale e industriale. Le concentrazioni fluttuano con andamento stagionale e possono aumentare quando nei fiumi vengono fatte confluire acque ricche di nitrati (Bonato, 2007). Nel periodo estivo due campioni (TV05 e TV13) al punto A e ben tre (PD02, PD03, TV10) al punto B presentavano concentrazioni tra 80 e 100 mg/l, ben superiori al limite di legge (50 mg/l), ma molto al disotto dei valori di tossicità riportati per le specie allevate. La presenza di attività agricole può causare facilmente un aumento della quantità di nitrati fino a raggiungere diverse centinaia di mg/l. Infatti, l'incremento nell'uso di fertilizzanti, la produzione e lo smaltimento dei reflui animali e i cambiamenti nell'uso del territorio rappresentano i principali fattori responsabili del progressivo aumento dei livelli di nitrati nelle acque (Bonato, 2007). Anche se i suini sono relativamente tolleranti a questi composti, nitrati in concentrazione superiore a 300 mg/l possono causare tossicità nei suinetti (Rossi e Gastaldo, 2005). Nelle acque sotterranee in genere la concentrazione di nitrati è intorno a 4-9 mg/l e per i nitriti è 0,3 mg/l e tale concentrazione dipende in larga misura dal tipo di suolo e dalla situazione geologica; Spesso i livelli di nitrato/nitrito nelle acque profonde sono più elevati di quelli delle acque superficiali: le condizioni anaerobiche comportano la riduzione del nitrato a nitrito e la sua conseguente persistenza, mentre la formazione di nitriti nelle acque distribuite e cariche di nitrati deriva dall'attività microbica ed è intermittente (Rossi e Gastaldo, 2005). Nei campioni di acqua saggiati la presenza di nitriti è risultata nei limiti previsti per legge.

Per quanto riguarda l'arsenico, nelle acque naturali esso è generalmente presente a concentrazione variabile da 0,001 a 0,002 mg/l, ma in alcune aree i livelli possono essere naturalmente più elevati. L'arsenico raggiunge le fonti d'acqua (anche quelle profonde) principalmente per dissoluzione dai minerali e dalle rocce, ma anche dai reflui industriali e per deposizione atmosferica (Bonato, 2007). In tutti i campioni testati nel presente studio l'arsenico era al di sotto del limite di legge di 0,01 mg/l.

CONCLUSIONI

Complessivamente i dati chimico-fisici e microbiologici mostrano che le maggiori contaminazioni sono presenti nei pozzi più superficiali (entro i 60 metri di profondità) e, seppur con qualche eccezione, i dati sono abbastanza incoraggianti, poiché le acque dei pozzi campionati mostrano profili di qualità sovrapponibili a quelli dell'acqua per l'uso umano.

Nella seconda parte del progetto, ora in corso, si vuole valutare, con il contributo di tecniche quali HPLC, LC-MS ed NMR, la solubilità e la stabilità, dopo dissoluzione nei campioni dei pozzi con acqua "peggiore", di alcuni antibatterici scelti tra quelli più spesso impiegati negli allevamenti suini per la medicazione dell'acqua. Le caratteristiche chimico-fisiche acquistano primaria importanza quando si devono considerare trattamenti via acqua medicata con farmaci in soluzione nell'acqua di bevanda. I parametri chimico-

fisici condizionano proprietà quali velocità di dissoluzione, solubilità e stabilità del farmaco, con ricadute sulla biodisponibilità dei medicinali veterinari. Aminoglicosidi, Tetracicline, Macrolidi, Sulfamidici e Beta-lattamine in soluzione possono essere particolarmente sensibili alle alterazioni del pH, alla presenza di inquinanti come metalli, sostanze organiche e anche ai batteri se presenti in grandi quantità. Per questo motivo i dati di solubilità e stabilità, ottenuti nelle condizioni di “scenario peggiore”, ci permetteranno di valutare la reale biodisponibilità dei preparati veterinari autorizzati in suinicoltura per acqua medicata, allo scopo di fornire informazioni per un corretto dosaggio dei farmaci con gli evidenti conseguenti benefici di salute per l’animale, per l’uomo e per l’ambiente.

BIBLIOGRAFIA

1. Bonato A. (2007) “Acqua e salute - Indicazioni tratte dalle linee guida dell’OMS sulla qualità dell’acqua destinata al consumo umano”. A cura della Regione del Veneto. www.regione.veneto.it
2. Enne G., Greppi G., Serratori M. (2006) “Il ruolo dell’acqua nell’allevamento animale”. *Italian J Agron.* 3, 519-527.
3. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control (2013) “The European Union summary report on trend and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011”. *EFSA Journal.* 11, 3129.
4. Fosse J., Seegers H., Magras C. (2008) “Foodborne zoonoses due to meat: a quantitative approach for a comparative risk assessment applied to pig slaughtering in Europe”. *Vet Res.* 39, 1.
5. Giacomelli M., Andrighetto C., Lombardi A., Martini M., Piccirillo A. (2012) “A longitudinal study on thermophilic *Campylobacter* spp. in commercial turkey flocks in Northern Italy: occurrence and genetic diversity”. *Avian Dis.* 56, 693-700.
6. Istituto Superiore di Sanità (2007) “Metodi analitici di riferimento per le acque destinate al consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001. Metodi chimici”. *Rapporti ISTISAN 07/31.* <http://www.iss.it/binary/aqua/cont/Rapp%20Ist%2007%2031.1193412143.pdf>
7. Pérez-Boto D., García-Pena F.J., Abad-Moreno J.C., Hurtado-Pizarro M.D., Pérez-Cobo I., Echeita M.A. (2010) “Drinking water as the source of *Campylobacter coli* infection in grandparent heavy breeders”. *Avian Pathol.* 39: 483-487.
8. Rollins D.M., Colwell R.R. (1986) “Viable but nonculturable stage of *Campylobacter jejuni* and its role in survival in the natural aquatic environment”. *Appl Environ Microbiol.* 52, 531-538.
9. Rossi P., Gastaldo A. (2005) “Un’abbeverata di qualità per animali in perfetta salute”. *Agricoltura.* Luglio/agosto, 141-143.
10. Standing Committee of Analysts (2002) “The microbiology of drinking water – part 10 – Methods for the isolation of *Yersinia*, *Vibrio* and *Campylobacter* by selective enrichment”, Nottingham, UK, The Environment Agency. <http://www.environment-agency.gov.uk/static/documents/Research/mdwpart10.pdf>
11. Toplak N., Kovač M., Piskernik S., Možina S.S., Jeršek B. (2012) “Detection and quantification of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* using real-time multiplex PCR”. *J Appl Microbiol.* 112,752-764.
12. Weijtens M.J., van der Plas J., Bijker P.G., Urlings H.A., Koster D., van Logtestijn J.G., Huis in’t Veld J.H. (1997) “The transmission of campylobacter in piggeries; an epidemiological study”. *J Appl Microbiol.* 83, 693-698.

13. Weijtens M.J., Urlings H.A., Van der Plas J. (2000) "Establishing a campylobacter-free pig population through a top-down approach". *Lett Appl Microbiol.* 30, 479-484.
14. Williams L.K., Sait L.C., Cogan T.A., Jørgensen F., Grogono-Thomas R., Humphrey T.J. (2012) "Enrichment culture can bias the isolation of *Campylobacter* subtypes". *Epidemiol Infect.* 140:1227-1235.
15. Yamazaki-Matsune W., Taguchi M., Seto K., Kawahara R., Kawatsu K., Kumeda Y., Kitazato M., Nukina M., Misawa N., Tsukamoto T. (2007) "Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis*". *J Med Microbiol.* 56, 1467-1473.
16. Zimmer M., Barnhart H., Idris U., Lee M.D. (2003) "Detection of *Campylobacter jejuni* strains in the water lines of a commercial broiler house and their relationship to the strains that colonized the chickens". *Avian Dis.* 47, 101-107.