

VALUTAZIONE DELL'IMPATTO DELLE PRECIPITAZIONI SULLA CONTAMINAZIONE FECALE DELLE VONGOLE (*CHAMELEA GALLINA*) RACCOLTE NEL DISTRETTO DI SAN BENEDETTO DEL TRONTO (AP)

*Assessment of wet weather impact on clam (*Chamelea gallina*) faecal contamination in the district of San Benedetto del Tronto (Italy)*

Ciccarelli Cesare*, Semeraro Angela Marisa, Aliventi Alessandra, Di Trani Vittoria, Capocasa Piero

*Corresponding author. Tel: (+39) 0735 7937474; Fax: (+39) 0735 793529.

E-mail: cesare.ciccarelli@sanita.marche.it

Servizio Veterinario di Igiene degli Alimenti di Origine Animale, ASUR Marche, Area Vasta n. 5, San Benedetto del Tronto, Italia

ABSTRACT

Since 1998 clams (*Chamelea gallina*) from the production areas of the district of San Benedetto del Tronto (South Marche - Italy) have been periodically monitored to check the microbiological quality by the detection of the faecal indicator *E. coli* (MPN method). Results have been inconstant. They were not directly related to contamination sources identified by means of a Sanitary Survey. This one included a desk-based study of the physical, geographic, demographic and urban features of the district above and a shoreline survey to confirm or update previously identified sources. With regard to this, several authors found out that meteoric events, in particular rainfalls, increase faecal loading in marine coastal water. This study investigated the impact of rainfalls on *E. coli* values in clams from the district of San Benedetto del Tronto according to the sampling plan from 2002 to 2011. The study focused on rainfalls occurred until 4 days before mollusc sampling and set up *E. coli* values into satisfactory and unsatisfactory levels compared to the food safety limit of 230 MPN/100 g. Data were processed by a statistical tool, the Fisher's exact test. Results revealed the association between precipitations and exceeding values of *E. coli* in clams collected from coastal waters of most populous areas to be statistically significant.

Keywords: Clams, *Chamelea gallina*, *Escherichia coli*, Sanitary survey, Seafood.

INTRODUZIONE

I banchi naturali di vongole (*Chamelea gallina*), presenti nel distretto di San Benedetto del Tronto (AP) ed oggetto di un'intensa attività di raccolta ai fini alimentari, sono stati sottoposti a monitoraggio nei confronti di *E. coli* già dal 1998. A partire dal 2002 il piano di monitoraggio ha assunto l'attuale fisionomia prevedendo due siti di campionamento per ciascuna zona classificata: uno sulla batimetria di 3-6 metri ed un altro sito sulla batimetria di 6-9 metri.

L'indagine Sanitaria, eseguita su questo tratto di costa attraverso uno studio delle caratteristiche fisiche, geografiche, demografiche ed urbanistiche e la verifica di tali informazioni sul campo, mediante l'ispezione della linea costiera, ha permesso di esclu-

dere la presenza di rilevanti fonti di contaminazione fecale, di origine umana ed animale, non sottoposte a trattamento di depurazione; ha inoltre messo in evidenza come il livello di urbanizzazione e di densità abitativa, a livello dei comuni costieri, diventi più elevato procedendo da nord verso sud, mentre insediamenti zootecnici ed animali selvatici non sono presenti in maniera significativa.

Tuttavia i risultati del monitoraggio nei confronti di *Escherichia coli*, pur in un quadro non particolarmente allarmante, hanno mostrato una variabilità non direttamente riconducibile al quadro delle informazioni assunte sulle fonti di contaminazione presenti.

Per poter spiegare tale situazione è stato ipotizzato che le oscillazioni dei valori di *E. coli* siano

direttamente collegate agli eventi pluviometrici verificatisi nei giorni precedenti la raccolta dei campioni. Diversi autori (Legnani *et al.*, 2002; Ritter *et al.*, 2002; CIESM, 2007; Riou *et al.*, 2007; Kay *et al.*, 2008) hanno sottolineato l'importanza dell'impatto delle condizioni meteorologiche, ed in particolare delle precipitazioni, sul livello di contaminazione di origine fecale in determinate aree marine costiere.

Le piogge possono contribuire all'incremento della contaminazione attraverso diverse vie: p.e. per dilavamento di suoli contaminati o scorrendo in sistemi di raccolta delle acque bianche a loro volta contaminati (Ritter *et al.*, 2002); quando i sistemi di raccolta delle acque bianche e nere sono promiscui possono provocare l'attivazione di sfioratori di piena lungo il sistema di collettazione, provocando sversamenti di liquami fognari non trattati, oppure possono provocare malfunzionamento degli impianti di depurazione (Riou *et al.*, 2007). Scopo del presente lavoro è dimostrare, mediante strumenti statistici, l'esistenza di un collegamento tra gli eventi pluviometrici ed i valori di *E. coli*, riscontrati nel corso del monitoraggio dei banchi naturali di vongole presenti nel distretto di S. Benedetto del Tronto.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in considerazione i risultati del monitoraggio nei confronti di *E. coli*, eseguito dal 2002 al 2011, nelle zone di produzione classificate come riportate nella Figura 1.

Il monitoraggio è stato eseguito mediante il prelievo di campioni in mare, seguendo uno specifico protocollo mirato a garantire la rappresentatività del campione e la riduzione delle contaminazioni accidentali.

I campioni sono stati raccolti in siti di campionamento predeterminati, due per ogni zona classificata: il primo (I°), sulla linea batimetrica tra 3 e 6 metri a circa 0,6-0,7 km dalla riva, mentre il secondo (II°) sulla linea batimetrica tra 6 e 9 metri a circa 1,2-1,3 km dalla riva. La frequenza di campionamento, inizialmente quadrimestrale, è stata successivamente incrementata fino a diventare bimestrale: la frequenza complessiva finale è stata all'incirca trimestrale.

L'esame microbiologico è stato eseguito dalla sezione di Fermo dell'I.Z.S. Umbria e Marche con il metodo MPN previsto dalla normativa vigente.

Riguardo alle precipitazioni, sulla base delle indicazioni sui tassi di mortalità di *E. coli* riportate da alcuni autori (Winfield *et al.*, 2003; Salmore *et al.*, 2006; Kim e Hur, 2010) che stimano il periodo di vitalità in ambiente marino in circa tre giorni, sono stati presi in considerazione gli eventi pluviometrici verificatisi nei quattro giorni precedenti il campionamento. I dati sono stati ricavati da quelli pubblicati dall'Agenzia Servizi per il settore Agroalimentare delle Marche (ASSAM), ac-

quisendo i dati dei pluviometri associabili a ciascuna zona presa in esame.

In considerazione della scarsità di dati disponibile è stato utilizzato il metodo delle probabilità esatte di Fischer (Test Esatto di Fischer), test non parametrico basato su tabelle 2X2.

Le Tabelle sono state preparate, per ciascun sito di campionamento e per la seguente gamma di valori di precipitazioni: 2 mm, 4 mm, 6 mm, 8 mm, 10 mm. Sulle colonne sono stati disposti i risultati per *E. coli*, classificati in "conformi" se ≤ 230 MPN/100 g e "non conformi" se >230 MPN/100 g, sulla base del criterio di sicurezza individuato dalla normativa vigente.

In orizzontale sono stati disposti gli eventi pluviometrici verificatisi nei 4 giorni precedenti il campionamento, classificati come "con precipitazioni" se il valore di uno dei giorni è stato maggiore o uguale al valore prefissato e "senza precipitazioni" nell'altro caso.

Nella Tabella 1 sono riportati i risultati di tale classificazione precisando che, con (a) è indicato il numero di non conformità con precipitazioni uguali o superiori al valore prefissato, con (b) le non conformità con precipitazioni inferiori al valore prefissato, con (c) i risultati conformi e precipitazioni uguali o superiori al valore prefissato, con (d) i risultati conformi e precipitazioni inferiori al valore prefissato e con N la numerosità campionaria.

RISULTATI

I valori ottenuti con il Test Esatto di Fischer e corrispondenti al valore di probabilità (P) dell'ipotesi nulla H_0 sono riassunti nella Tabella 2. Per una più agevole lettura i valori che permettono di rifiutare l'ipotesi nulla H_0 sono seguiti da * se molto significativi per $P \leq 0,01$, e da ** se significativi per $P \leq 0,05$.

Appare evidente come per le zone 19.01 e 19.02 tutti i risultati ottenuti non permettano di rifiutare l'ipotesi nulla e quindi non sia dimostrabile una relazione tra precipitazioni e non conformità riscontrate. Invece per le zone 19.03, 19.04 e 19.05 questa relazione appare significativa per entrambi i siti di campionamento: per il sito (I°) ad un livello di precipitazioni via via crescente man mano che si scende verso sud e per il sito (II°) già ad un basso livello di precipitazioni (2 mm).

Inoltre per queste tre zone è dimostrabile anche una relazione estremamente significativa in determinati casi: già a 4 mm per I°-19.05 e II°-19.04 e a 8 mm per II°-19.03.

Per la zona R è dimostrata una relazione significativa per il sito I° e precipitazioni ≥ 6 mm.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I dati disponibili hanno permesso di riconoscere chiaramente, per alcuni dei siti oggetto di campionamento, una relazione positiva tra le precipita-

zioni, nei 4 giorni precedenti la raccolta, e le non conformità per *E. coli* nei campioni di vongole (*Chamelea gallina*). In alcuni casi la relazione è risultata estremamente significativa ($P \leq 0,01$). Tale risultato appare sostanzialmente in linea con quanto già riportato da altri autori pur se per altre specie di molluschi. Inoltre sono evidenziabili alcuni aspetti peculiari: la relazione non è stata dimostrata per le zone caratterizzate da un basso livello di pressione antropica e zootecnica; al contrario la relazione è chiaramente evidente nelle zone con più elevato livello di urbanizzazione e più alta densità abitativa. Tale risultato, anche sulla base di quanto riportato da altri autori (Ritter *et al.*, 2002), potrebbe essere legato non tanto alla pressione antropica diretta, ma ad una fragilità del sistema di raccolta e convogliamento delle acque meteoriche che causerebbe, con le precipitazioni, malfunzionamenti nei sistemi di raccolta e depurazione dei liquami.

I risultati ottenuti, oltre a mostrare come il Test Esatto di Fischer possa costituire un metodo di riferimento per indagini di questo tipo, possono rappresentare un contributo significativo sia per l'indagine epidemiologica, che segue necessariamente il riscontro di non conformità nel corso del monitoraggio, sia per l'interpretazione dei risultati del monitoraggio stesso durante le periodiche verifiche per l'aggiornamento della classificazione delle zone di produzione.

BIBLIOGRAFIA

1. CIESM 2007. Marine sciences and public health – some major issue. Ciesm Workshop

- Monographs n°31 2007. Available from: www.ciesm.org/online/monographs/geneva07.pdf
2. Kay D., Kershaw S., Lee R., Wyer M.D., Watkins J., Francis C. 2008. Results of field investigations into the impact of intermittent sewage discharge on the microbial quality of wild mussels (*Mytilus edulis*) in a tidal estuary. *Water Res.* 42:3033-3046.
3. Kim G., Hur J. 2010. Mortality rates of pathogen indicator microorganisms discharged from point and non point sources in a urban area. *J. Environ. Sci.* 22:929-933.
4. Legnani P.P., Leoni E., Villa G.C. 2002. Microbial monitoring of mussels and clams collected from the shellfish growing areas in Rimini Province. *Ann. Ig.* 14:105-113.
5. Riou P., Le Saux J.C., Dumas F., Caprais M.P., Le Guyader S.F., Pommepuy M. 2007. Microbial impact of small tributaries on water and shellfish quality in shallow coastal water. *Water Res.* 41:2774-2786.
6. Ritter L., Solomon K., Sibley P., Hall K., Keen P., Mattu G., Linton B. 2002. Sources, pathways and relative risks of contaminants in surface water and groundwater: a perspective prepared for the Walkerton inquiry. *J. Toxicol. Environ. Health A* 65:1-142.
7. Salmore A.K., Hollis E.J., McLellan S.L. 2006. Delineation of a chemical and biological signature for stormwater pollution in a urban river. *J. Water Health* 4:247-262.
8. Winfield M.D., Groisman E.A. 2003. Role of Nonhost Environment in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microb.* 69:3687-3694.

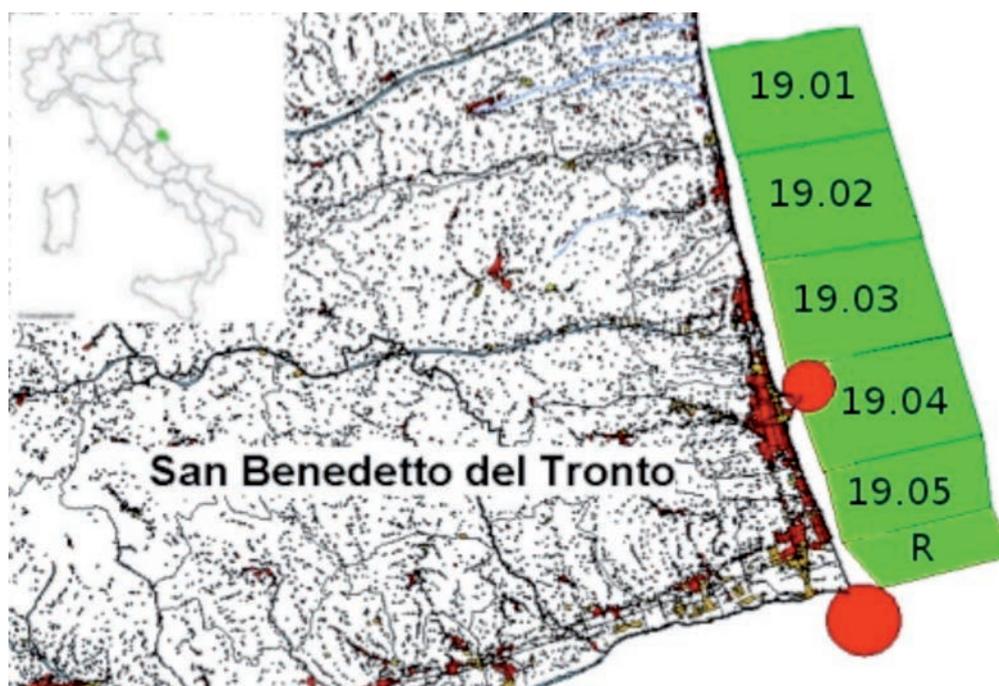


Figura 1. Localizzazione delle zone di produzione classificate.

Tabella 1. Riepilogo dei dati numerici utilizzati per la costruzione delle tabelle 2X2.

sito	zona	precipitazioni																			
		≥2 mm				≥4 mm				≥6 mm				≥8 mm				≥10 mm			
		a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
I°	19.01	3	3	10	30	3	3	9	31	2	4	6	34	2	4	5	35	2	4	4	36
	19.02	0	2	13	26	0	2	11	28	0	2	6	33	0	2	4	35	0	2	3	36
	19.03	4	4	14	26	4	4	10	30	4	4	6	34	4	4	5	35	3	5	4	36
	19.04	7	4	11	24	7	4	8	27	4	7	7	28	3	8	6	29	2	9	5	30
	19.05	4	0	13	24	4	0	10	27	3	1	7	30	2	2	6	31	1	3	5	32
	R		6	4	7	17	5	5	5	19	5	5	3	21	4	6	3	21	3	7	2
II°	19.01	1	1	12	31	1	1	11	32	1	1	7	36	1	1	6	43	1	1	5	38
	19.02	0	3	13	24	0	3	11	26	0	3	6	31	0	3	4	37	0	3	3	34
	19.03	6	3	12	29	5	4	9	32	5	4	5	36	5	4	4	41	3	6	4	37
	19.04	5	1	13	29	5	1	10	32	3	3	8	34	3	3	6	42	2	4	5	37
	19.05	5	1	12	24	4	2	10	26	3	3	7	29	3	3	5	36	2	4	4	32
	R		5	2	8	14	4	3	6	16	3	4	5	17	2	5	5	22	2	5	3

a, campioni con non conformità e precipitazioni uguali o superiori al valore prefissato; b, campioni con non conformità e precipitazioni inferiori al valore prefissato; c, campioni conformi e precipitazioni uguali o superiori al valore prefissato; d, campioni conformi e precipitazioni inferiori al valore prefissato.

Tabella 2. Valori di P ottenuti con l'applicazione del Test Esatto di Fischer.

sito	zona	precipitazioni				
		≥2 mm	≥4 mm	≥6 mm	≥8 mm	≥10 mm
I°	19.01	0,1666	0,1405	0,2207	0,1844	0,1464
	19.02	0,4610	0,5305	0,7256	0,8122	0,8573
	19.03	0,2222	0,1230	0,0471**	0,0307	0,0695
	19.04	0,0611	0,0175**	0,1663	0,2431	0,3336
	19.05	0,0235**	0,0099*	0,0388	0,1460	0,3878
	R		0,0783	0,0817	0,0314**	0,0790
II°	19.01	0,4202	0,4000	0,2990	0,2416	0,2364
	19.02	0,2961	0,3698	0,6057	0,7460	0,7864
	19.03	0,0412**	0,0565	0,0110	0,0038*	0,0852
	19.04	0,0225**	0,0085*	0,1045	0,0512	0,1733
	19.05	0,0306**	0,0721	0,1135	0,0527	0,1684
	R		0,0990	0,1304	0,2147	0,3151

*, se molto significativi per $P \leq 0,01$; **, se significativi per $P \leq 0,05$.