

Analisi della presenza e della persistenza di patogeni umani in compost e biochar

Walter Chitarra* - Massimo Pugliese*** - Maria Lodovica Gullino*** - Angelo Garibaldi*

*Centro di Competenza per l'Innovazione in Campo Agroambientale AGROINNOVA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

**Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari DISAFA - Università degli Studi di Torino - Grugliasco (TO)

Recentemente sono stati pubblicati numerosi lavori che evidenziano alcuni dei principali fattori di rischio associati alla diffusione dei ceppi di *Escherichia coli* produttori di Shiga-tossine (STEC), di *Salmonella* spp. e di *Listeria monocytogenes*. L'origine della contaminazione sembra essere legata all'utilizzo di alcune tipologie di alimenti per bovini come il pellettato, le farine di soia e l'insilato derivati da vegetali irrigati o fertilizzati con acqua e letame contaminato. Negli ultimi due anni si è verificato un numero relativamente alto di episodi epidemici di elevata gravità legati a questi batteri, primo tra tutti il focolaio in Germania del luglio 2011. Quest'ultimo episodio è stato associato al consumo di germogli vegetali crudi contaminati da un ceppo enteroaggregativo (EAEC) di *E. coli* che aveva acquisito la capacità di produrre la Shiga-tossina attraverso un trasferimento di materiale genetico di tipo orizzontale. Dalla letteratura emerge comunque la necessità di effettuare ulteriori studi per chiarire quali siano i meccanismi di virulenza di questi batteri, le loro interazioni con l'ospite ed i fattori di rischio che aumentano la probabilità della loro presenza nell'ambiente. Al momento, infatti, vi è parecchia confusione riguardo ad alcuni di questi aspetti. Le cause della presenza di tali microrganismi patogeni sui prodotti di quarta gamma e nei suoli, sono attribuibili alla mancanza d'igiene, all'uso di ammendanti organici contaminati (ad es. compost) e alle acque di scolo contaminate utilizzate per l'irrigazione nelle colture in pieno campo (Gagliardi and Karns, 2002).

La tecnica del compostaggio prevede la trasformazione di scarti organici, come ad esempio la frazione umida dei rifiuti solidi urbani (FORSU), in un ammendante di qualità per le colture agricole. Questo settore è in forte espansione negli ultimi anni particolarmente in Piemonte, regione molto attiva nella gestione eco-sostenibile dei rifiuti. Alla luce di quanto citato e vista la provenienza del materiale di partenza, un'adeguata analisi si rende necessaria per valutare l'eventuale presenza di patogeni umani e la conseguente diffusione nonché dell'eventuale capacità repressiva. Questo al fine di migliorare la qualità e limitare i rischi per il consumatore anche nel rispetto della legislazione che prevede, per i compost, l'assenza di *Salmonella enteritidis*, e una ridotta carica di coliformi. *L. monocytogenes*, invece, non presenta limiti di legge imposti. Il biochar è, invece, un carbone vegetale che si ottiene dalla pirolisi di diversi tipi di biomassa vegetale. Di particolare interesse è la sua

produzione da residui/sottoprodotti agricoli: patate, stoppie di mais o grano, lolla di riso, mallo di mandorle, fogliame secco, ecc. La pirolisi permette di ottenere il syngas con un potere calorifico pari al GPL che può essere utilizzato in processi produttivi che richiedano energia termica (ad esempio per la produzione di energia elettrica), e biochar o carbone vegetale. L'alta porosità di quest'ultimo aumenta la ritenzione idrica e quella degli elementi nutritivi che rimangono più a lungo disponibili per le piante; migliora inoltre la struttura del terreno e le sue proprietà diminuendo il fabbisogno di acqua e fertilizzanti.

Lo studio condotto ha avuto lo scopo di valutare le possibili interazioni dei HPOP (*Human Pathogens on Plants*) tra compost (Fig. 20; pag. 53) e biochar, la microflora presente e la persistenza nel tempo.

In questo lavoro, risultati preliminari sono stati ottenuti mediante l'analisi di campioni provenienti da diversi tipi di compost e biochar per la ricerca e l'identificazione dei HPOP avvalendosi di tecniche molecolari (Real time PCR, qPCR) e microbiologiche. I campioni sono stati quindi trattati mediante arricchimento su brodi selettivi e, a seguito dell'estrazione di DNA direttamente dal brodo di arricchimento, è stata eseguita la qPCR, tecnica molto sensibile che si avvale di sonde specifiche per l'identificazione degli HPOP. In caso di positività, si è proceduto con le analisi di vitalità in piastra, su terreni di crescita selettivi, ed eventuale conta della carica microbica presente.

Le prime osservazioni sui campioni analizzati (biochar e compost) mostrano l'assenza di *S. enteritidis* in tutte le matrici osservate, mentre alcuni campioni sono risultati positivi a *L. monocytogenes* e agli *E. coli* STEC in alcuni casi vitali nei terreni agarizzati selettivi. I Coliformi totali sono spesso risultati al di sopra dei limiti legali.

Il lavoro è in corso di svolgimento e prevede la contaminazione artificiale degli HPOP tramite acqua contaminata e l'analisi della persistenza nel tempo. In seguito si osserverà l'eventuale contaminazione delle piante coltivate in tali substrati da parte dei microrganismi enterici, lo studio dell'interazione con la microflora del compost e delle piante tramite PCR-DGGE.

Ringraziamenti

Lavoro svolto con un contributo dell'Unione Europea (7th Framework Programme of RTD, Theme 2 - Food, Agriculture and Fisheries, and Biotechnology), nell'ambito del progetto REFERTIL (c.n. 289785)

Lavori citati

GAGLIARDI J. V., KARNs J. S. (2002) – Persistence of *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on plant root. *Environmental Microbiology* 4 (2), 89-86