

Lavoro di Maturità
di chimica

**Inquinamento delle acque da
residui farmaceutici**



Di Sabrina Müller
Anno 2009/2010
Professori: Zenoni Gianmarco, Brenn Emilio

Indice

PREFAZIONE	4
INTRODUZIONE	5
1. CAUSE INQUINAMENTO MICROBIOLOGICO	6
1.1.Fonti di contaminazione	6
1.2.Resistenza in acqua	7
2. RISCHI PER L'UOMO E PER GLI ORGANISMI ACQUATICI	9
2.1.Rischi per l'uomo	9
2.2.Organismi acquatici	9
2.2.1.Antibiotici	9
2.2.1.1.Amoxicillina	10
2.2.1.2.Tetraciclina	12
2.2.2.Farmaci antitumorali	12
2.2.3.Interferenti endocrini	13
2.2.3.1.Vitellogenina	14
3. STUDI E SOLUZIONI PER RIDURRE L'INQUINAMENTO DA MICROINQUINANTI	17
3.1.Studi internazionali.....	17
3.1.1.Studi europei.....	17
3.1.2.Studi extra europei.....	20
3.2.Studi nazionali - Strategie MicroPoll.....	20
3.3.Possibili interventi.....	21
3.3.1.La green pharmacy.....	21
3.3.2.L'EMEA e l'era dei nuovi farmaci	22
3.3.3.Depuratori più efficienti	22
3.3.4.Smaltimento corretto.....	22
4. PARTE SPERIMENTALE.....	24
4.1.Introduzione lavoro	24
4.2.Metodi.....	24
4.2.1.MALDI-TOF	24
4.2.2.Antibiogramma	25
4.3.Prelievi e analisi	29
4.3.1.Prelievi.....	29
4.3.1.1.Gorduno	30
4.3.1.2.Maggia	31
4.3.1.3.Bignasco.....	31
4.3.1.4.Lavorgo	31
4.3.1.5.Rodi	32
4.4.Analisi	32
4.5.Considerazioni.....	35
4.5.1.Acqua in Entrata e Acqua in Uscita.....	35
4.5.2.Differenza di resistenza per lo stesso antibiotico tra le diverse famiglie di batteri	36

4.5.3. Risultati con tutte le famiglie per la Ciprofloxacina.....	38
4.5.4. Risultati solo con gli Aeromonas.....	40
4.5.4.1. Ampicillina	41
4.5.4.2. Tetraciclina	42
4.5.4.3. Bactrim.....	43
4.5.4.4. Augmentin.....	44
4.5.4.5. Polimixina.....	45
4.6. Conclusione parte sperimentale	46
CONCLUSIONE.....	47
BIBLIOGRAFIA.....	48

Prefazione

Il soggetto del mio lavoro di maturità è l'inquinamento delle acque da residui farmaceutici.

Dalla presentazione dei vari temi che potevamo scegliere per svolgere i nostri lavori di maturità questo m'ha subito incuriosita, perché è un tema non da molto tempo scoperto e non se ne parla molto, benché ha effetti molto gravi sugli organismi acquatici.

Il mio LAM è diviso in due parti principali, la prima di teoria e la seconda sperimentale.

Nella prima parte parlerò delle cause e dei rischi di quest'inquinamento e delle possibili soluzioni per risolverlo. Mi soffermerò soprattutto sui vari tipi di farmaci e sui problemi che causano agli organismi acquatici e non.

Nella seconda parte spiegherò il mio lavoro sperimentale. Ho analizzato la resistenza dei batteri provenienti da diverse fonti e li ho paragonati tra loro. Questo lavoro l'ho svolto presso il laboratorio cantonale di microbiologia durante due settimane di stage.

Introduzione

I farmaci, oltre a essere agenti per terapie e per la prevenzione di malattie, sono anche degli inquinanti ambientali.

Le fonti dell'inquinamento da farmaci sono molteplici e la principale fonte sono i pazienti stessi. Molti farmaci che assumiamo, dopo aver svolto la loro azione nel nostro corpo, vengono escreti assieme alle urine o alle feci come tali, senza essere metabolizzati, oppure come metaboliti attivi.

Assieme alle acque fognarie raggiungono gli impianti di depurazione dove questo tipo di inquinamento non viene frenato, perché gli impianti del giorno d'oggi non sono in grado di smaltirlo. I principi attivi non vengono quindi rimossi o distrutti dai depuratori e le acque depurate, ancora ricche di farmaci, portano questo carico d'inquinanti fino ai fiumi e laghi.

Una volta nell'ambiente un farmaco, a seconda delle sue caratteristiche, viene degradato, oppure può persistere a lungo, accumulandosi.

Ci sono molte idee e proposte per riuscire a ridurre questo tipo d'inquinamento. L'EMEA ha proposto una serie di linee-guida e altre proposte arrivano dalla *green pharmacy*. Inoltre ci sono dei progetti per migliorare i sistemi di depurazione aggiungendo ulteriori fasi di depurazione. Però tutto questo richiede tempi ed investimenti considerevoli.

Nel frattempo, l'educazione di medici e pazienti, per lo smaltimento appropriato e per l'uso corretto dei farmaci, può contribuire a ridurre i quantitativi di sostanze attive che si riversano nell'ambiente, mitigandone i potenziali rischi.

1. CAUSE INQUINAMENTO MICROBIOLOGICO

In parecchie nazioni si finanziano attività di ricerca per identificare la quantità e la qualità di microinquinanti nelle acque. Lo scopo di queste ricerche è di valutare l'esistenza di eventuali rischi per la salute umana, animale e per l'ambiente, al fine di trovare delle soluzioni per ridurre le concentrazioni o perlomeno limitarne le immissioni.

1.1. Fonti di contaminazione

Le sostanze antibiotiche o ormonali provengono da diverse fonti.

La principale fonte di contaminazione, circa il 70-80% dell'inquinamento da microinquinanti, è l'uomo o più precisamente le persone malate. In effetti, soltanto una parte del farmaco somministrato viene trattenuta nel corpo mentre la restante viene escretata per via urinaria.

Una vasta immissione di farmaci nell'ambiente è quindi data sia dai liquami domestici ma soprattutto dai liquami ospedalieri.

Infatti i reflui di centri ospedalieri meritano una particolare attenzione. Le acque di scarico, a differenza di quelle domestiche, contengono vari componenti pericolosi e precisamente:

Patogeni microbiologici: patogeni enterici (a livello di intestino) facilmente trasmessi attraverso l'acqua. Essi includono batteri, virus e parassiti intestinali.

Prodotti farmaceutici normalmente scaricati dalle farmacie ospedaliere e dai diversi reparti. Le quantità maggiori riguardano gli antibiotici e i farmaci genotossici. I rifiuti genotossici includono anche farmaci citotossici e antineoplastici, impiegati nella chemioterapia dei tumori e come immunosoppressori.

Isotopi radioattivi: provengono soprattutto dai reparti oncologici.

Un problema rilevante si pone nel caso delle urine dei pazienti trattati, le quali, in generale, contengono alte concentrazioni di principi attivi e non subiscono alcun trattamento di inattivazione.

Un'altra importante fonte è data da uno smaltimento inesatto dei farmaci.

Se farmaci scaduti o inutilizzati vengono gettati nell'immondizia o nella rete fognaria, essi contribuiscono ad aumentare ulteriormente questo tipo d'inquinamento.

È importante notare che a questo tipo di smaltimento inadeguato, contribuiscono gli scarichi industriali e anche gli smaltimenti illegali.

Un'ulteriore fonte sono i farmaci di tipo veterinario, utilizzati in modo praticamente indispensabile da allevamenti intensivi. Quindi quest'ultimi possono contribuire alla diffusione di farmaci nelle acque. Infatti, i liquami solidi e liquidi dati dai reflui di stalla sono utili per la concimazione del terreno grazie ai loro composti azotati. Essi però

possono contenere sostanze attive date da farmaci contribuendo all'inquinamento terrestre e, a determinate condizioni, anche a quello idrico.

C'è inoltre da rilevare che i depuratori del giorno d'oggi non riescono a smaltire sufficientemente questo tipo di sostanze come in uso invece con molte altre. In effetti, uno studio ha dimostrato dopo un impianto di depurazione standard (processi di biodegradazione, adsorbimento e stripping nell'aria) esiste un'ampia probabilità che le sostanze inquinanti di tipo farmaceutico non vengano degradate. Quindi la loro diffusione nell'ambiente acquatico non viene praticamente ostacolata in nessun modo.

1.2. Resistenza in acqua

Su questo punto sono disponibili numerosi studi che però riguardano indagini in genere limitate a pochi farmaci e su scala spaziale limitata.

Ciò è legato a molti fattori, tra cui la difficoltà ad individuare i composti più significativi su cui indagare e la complessità di mettere a punto metodi analitici per molecole così differenti tra di loro e che spesso richiedono procedure elaborate. Un'altra difficoltà è la necessità di acquisire strumentazioni molto sofisticate dato che i livelli di farmaci comunemente riscontrabili sono compresi tra i ng/l e i µg/l.

Una volta nell'ambiente, il farmaco, a seconda delle sue caratteristiche chimico-fisiche, viene degradato, oppure può persistere a lungo accumulandosi. Molti di essi possiedono caratteristiche chimico-fisiche tali da consentirne la persistenza nell'ambiente per lunghi periodi di tempo e l'accumulo nel grasso e nei tessuti di animali, uomo compreso, attraverso la catena alimentare.

Alcuni farmaci sono noti per la loro persistenza nell'ambiente acquatico, nel suolo e nei sedimenti e/o per la loro resistenza alla degradazione biologica negli impianti di depurazione come, ad esempio l'acido oxolinico, la ciclofosfamida, la flumequina, l'ivermectina, l'ossitettraciclina e l'acido clofibrato. Questi e altri composti hanno mostrato, in varie matrici e condizioni sperimentali, tempi di degradazione anche superiori ai 100 giorni e fino a diversi anni.

In effetti, da studi si è scoperto che l'eritromicina, il ciclofosfamida, il naproxene, il sulfametossazolo e la sulfasalazina possono persistere nell'acqua fino a un anno prima di essere degradati. L'acido clofibrato (utilizzato come ipolipemizzante¹) può persistere fino a 21 anni. In molti paesi è ancora presente nelle acque benché non sia più usato da tempo.

Altri studi hanno rilevato che in acque potabili di origini superficiali sono state rilevate concentrazioni massime di 27-70 ng/l per l'acido clofibrato; 400 ng/l per il fenazone (analgesico) e concentrazioni fino a 24 ng/l per il diazepam (ansiolitico).

In acque superficiali i livelli di concentrazione più rilevanti si riferiscono al furosemide, fino a 88 ng/l, all'ibuprofene, fino a 92 ng/l, al bezafibrato, 134-203 ng/l, l'atenololo,

¹ Ipolipemizzanti sono farmaci utilizzati per il trattamento delle alterazioni del metabolismo dei lipidi, p.es. gli inibitori dell'enzima che sintetizza il colesterolo.

170-242 ng/l, mentre, per gli antibiotici lincomicina, eritromicina e spiramicina, si riportano rispettivamente livelli fino a 14, 17 e 68 ng/l.

Nonostante sono sostanze in concentrazioni molto basse, il problema è che c'è una continua emissione e accumulo ed inoltre sono sostanze estremamente attive. Perciò c'è una persistenza continua anche per le sostanze maggiormente degradabili. Inoltre, molti composti di minor uso e presenti in minor quantità possono avere un'elevata tossicità.

Quindi gli organismi acquatici sono a contatto per tutta la vita con tutti i residui farmaceutici. Anche l'uomo può essere esposto ai farmaci presenti nell'ambiente acquatico attraverso il consumo potabile dell'acqua stessa e/o degli organismi acquatici.

In merito alla persistenza si evidenzia che molti farmaci, essendo progettati per essere somministrati per via orale, non sono sensibili ai processi di degradazione per idrolisi chimica o mediata da enzimi, che in ambiente acquatico, rappresentano alcune delle principali vie di degradazione.

Il quadro che emerge dai dati disponibili è quello di una contaminazione diffusa del patrimonio idrico che interessa gran parte dei paesi industrializzati

con alcune molecole che possono considerarsi ubiquitari e con la quasi costante co-presenza di diversi farmaci in uno stesso campione di acqua.

È interessante anche accennare che la presenza di farmaci nelle acque superficiali non mostra cambiamenti stagionali, ma mostra invece un andamento costante a causa delle continue immissioni. Per gli organismi acquatici è un problema, perché sono perennemente a contatto a bassi livelli dei singoli composti.

Nella tabella 1 sono elencati i principali farmaci che si ritrovano nelle acque di fiumi e laghi in Europa.

Tabella 1: I principali farmaci che si ritrovano nelle acque di fiumi e laghi in Europa

Penicilline	Amoxicillina
Tetracicline	Tetraciclina, clortetraciclina, oxitetraciclina
Chinoloni	Ciprofloxacina, ofloxacina, norfloxacina, enrofloxacina
Macrolidi-lincosamidi	Claritromicina, eritromicina, deidro-eritromicina, lincomicina, spiramicina, roxitromicina
Sulfonamidi	Sulfametoxazolo, sulfadimetoxina, sulfametazina, sulfatiazolo
Anti-infiammatori, analgesici	Ibuprofene, paracetamolo, ASA, diclofenac, 4-aminoantipirina, aminofenazone, codeina, fenoprofene, idrocortone, indometacina, ketoprofene, acido mefenamico, naproxene, fenazone, propifenazone
Cardiovascolari	Atenololo, metoprololo, propranololo, betaxololo, bisoprololo, nadololo, sotalolo, enalapril, enalaprilat, nifedipina, diltiazem
Ipolipemizzanti	Bezafibrato, acido clofibrato, gemfibrozil, acido fenofibrato
Diuretici	Furosemide, idroclorotiazide
Antidiabetici	Glibenclamide, metformina, clorpropamide
Gastrointestinali	Omeprazolo, ranitidina, cimetidina,
Farmaci per il SNC	Carbamazepina, primidone, diazepam, fluoxetina, pentobarbital, fensuximide
Broncodilatori	Salbutamolo, terbutalina, clenbuterolo, fenoterolo
Estrogeni, ormoni	Etinilestradiolo, mestranol
Antitumorali	Ciclofosfamide, ifosfamide
Farmaci veterinari	Oleandomicina, oxitetraciclina, tilmicosina, tilosina, cloramfenicolo
Vari	Trimetoprim, feneturide, pentoxifillina
Mezzi di contrasto	Diatrizoato, ioexolo, Iopamidolo, Iomeprolo, acido iotalamico, acido ioxitalamico, acido amidotrizoico, complessi organici del gadolinio

2. RISCHI PER L'UOMO E PER GLI ORGANISMI ACQUATICI

2.1. Rischi per l'uomo

Gli studi di valutazione del rischio per le specie acquatiche e per l'uomo sono in fase di sviluppo. Questi studi si stanno concentrando sui potenziali effetti da agenti in grado di modulare i diversi processi endocrini e, dunque, di interferire a vari livelli e con meccanismi diversi, con la normale regolazione ormonale degli organismi, uomo incluso. In questo sottocapitolo mi concentro sugli effetti che quest'inquinamento causa sull'uomo.

Le concentrazioni ambientali misurate sono molto inferiori a quelle in grado di esercitare effetti tossici "acuti" sull'uomo. In effetti, si è misurato che per l'uomo il rischio legato all'assunzione d'acqua potabile contaminata è molto improbabile. Si è calcolato che se un uomo assumesse 2 litri d'acqua contaminata da farmaci al giorno per 70 anni, si rimane sempre al di sotto di una singola dose terapeutica. Non deve venire però dimenticato che ci può essere un'esposizione continuata nel tempo tramite l'acqua ma anche tramite la catena alimentare.

Per l'uomo sono ancora da accertare i possibili effetti avversi derivati dall'esposizione continuata. Alcuni esempi di effetti potrebbero essere allergie oppure l'antibiotico-resistenza. L'antibiotico non è legato direttamente all'uomo ma ai batteri. Lo sviluppo di ceppi patogeni resistenti ai più comuni antibiotici potrebbe, infatti, essere una via attraverso cui l'antibiotico-resistenza si diffonde provocando così problemi alla cura di alcune malattie.

2.2. Organismi acquatici

2.2.1. Antibiotici

La categoria di farmaci su cui è maggiormente focalizzata l'attenzione della comunità scientifica per questo tipo d'inquinamento è quella degli antibiotici. Gli antibiotici sono in grado di modificare i batteri con le loro azioni di tipo selettivo. Inoltre a causa dell'esposizione continua, c'è la possibilità di indurre la formazione di batteri antibiotico-resistenti e portare a molti rischi sanitari.

Prendo come esempio la ciprofloxacina. La ciprofloxacina agisce sulla struttura e sulla funzione del DNA batterico. Essa blocca la replicazione del DNA batterico, attraverso la sua legatura all'enzima *DNA girasi*, il quale consente lo srotolamento necessario per replicare una doppia elica di DNA.

Uno studio svedese pubblicato dalla rivista *Regulatory Toxicology and Pharmacology* si è concentrato sulla zona industriale nei pressi di Hyderabad in India.

Il gruppo di ricerca ha raccolto campioni d'acqua scaricata da un impianto per il trattamento delle acque reflue provenienti da circa 90 aziende farmaceutiche dell'area. I ricercatori hanno scoperto che quest'impianto rilascia 45 Kg al giorno di ciprofloxacina, una quantità corrispondente al quintuplo del consumo quotidiano di questo antibiotico nell'intera Svezia. A causa di queste immense quantità di ciprofloxacina rilasciate nell'ambiente c'è l'elevato rischio che simili antibiotici possano prima o poi diventare inefficaci contro batteri diventati nel frattempo sempre più resistenti al contatto con la sostanza che dovrebbe combatterli.

Questo succede anche per tutti gli altri antibiotici in circolazione.

Col procedere si crea un circolo vizioso; i batteri diventano resistenti agli antibiotici utilizzati per combatterli e quindi si ricercano e si creano nuovi antibiotici sempre più potenti per combatterli ma poi a causa di questo inquinamento i batteri diventano resistenti anche a tali antibiotici e così via.

Un altro problema è il rischio di danneggiare gli impianti di depurazione delle acque.

Alcuni impianti, per eliminare dei dati inquinanti, utilizzano dei batteri che possono venire danneggiati dai residui di antibiotici. Dato che questo tipo d'inquinamento non è smaltito in nessun modo, passano attraverso le diverse fasi di depurazione senza alcun ostacolo. Arrivando alla fase di depurazione dove vengono utilizzati dei batteri, gli antibiotici possono danneggiare questi batteri peggiorando così la depurazione delle acque.

2.2.1.1. Amoxicillina

L'amoxicillina è un antibiotico usato sia nella medicina umana che in piscicoltura. Questo è l'elenco degli antibiotici con il principio attivo Amoxicillinum anhydricum (Amoxicillinum trihydricum) utilizzati in medicina (*Arzneimittel-Kompendium der Schweiz*[®], 2009):

Amoxicillin Actavis

Amoxicillin-CIMEX

Amoxicilline Axapharm[®]

Amoxicilline Helvepharm Comprimés

Amoxicilline Helvepharm Comprimés laqués, poudre pour suspension

Amoxicilline Sandoz[®]

Amoxicilline Sandoz[®] comprimés pelliculés dispersibles

Amoxicilline Streuli[®]

Amoxicillin-Teva

Amoxi-Mepha[®]

Azilline[®]

Clamoxyl[®] /- RC

Spectroxy[®]

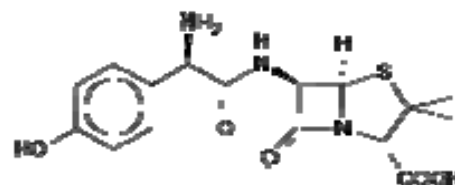


Figura 1: Amoxicillina (C₁₆H₁₉N₃O₅S)

Supramox[®]

Questi medicinali sono indicati per i trattamenti contro le infezioni provocate dai batteri gram-negativi sensibili all'amoxicillina, così come per i trattamenti contro varie infezioni provocate dai batteri gram-positivi e gram-negativi come ad esempio:

Infezioni delle vie respiratorie

Polmonite batterica, bronchite cronica.

Infezioni-ORL

Otite media, sinusite, tonsillite, faringite.

Infezioni delle vie urinarie

Pielonefrite¹ acuta e cronica, cistite, uretrite (infiammazione dell'uretra).

Malattie veneree

Gonorrea.

Malattia di Lyme (primo stadio; eritema cutaneo, dolori muscolari e alle articolazioni, mal di testa).

L'amoxicillina è ugualmente indicata nella profilassi dell'infiammazione batterica dell'endocardio².

Infezioni del tratto gastro-intestinale

Tifo addominale, paratifo, diarrea batterica.

[Per ulteriori informazioni si può consultare il sito: «Arzneimittel-Kompendium der Schweiz[®]» <http://www.kompendium.ch/Search.aspx?lang=de>]

Meccanismo d'azione

L'amoxicillina è un antibiotico semi-sintetico che agisce sulla sintesi della parete batterica. Inibisce la sintesi del peptidoglicano³ bloccando l'azione della transpeptidase (enzima). Poiché il peptidoglicano della parete cellulare batterica non è presente nelle cellule umane, esso rappresenta un bersaglio ideale per le terapie con gli antibiotici.

La sintesi del peptidoglicano può essere suddivisa in tre tappe:

1. sintesi dei precursori nel citoplasma;
2. trasporto dei precursori attraverso la membrana citoplasmatica;
3. inserimento dei precursori nella parete cellulare.

L'amoxicillina agisce sulla terza tappa della sintesi. Nella terza tappa avvengono tutte le operazioni terminali di polimerizzazione⁴, transpeptidazione⁵ ed inserimento delle unità peptidoglicaniche⁶ nella parete cellulare. Queste operazioni sono catalizzate da una serie di enzimi che presentano la caratteristica di legarsi covalentemente all'amoxicillina (così come gli altri antibiotici β -lattamici). L'amoxicillina e gli altri antibiotici β -lattamici

¹ La pielonefrite è un'infiammazione che coinvolge i reni e la pelvi renale.

² Sottile membrana che riveste le cavità cardiache.

³ Il peptidoglicano costituisce uno strato nella parete cellulare dei batteri che è il principale responsabile della rigidità della cellula.

⁴ Processo di sintesi di un polimero a partire da più unità semplici che si ripetono identicamente.

⁵ La transpeptidazione è la formazione di legami peptidici tra peptidi appunto, mediata da enzimi che sono le transpeptidasi.

⁶ Unità che si ripetono nel peptidoglicano

devono la loro azione antibatterica proprio alla capacità di legarsi a questi enzimi inibendo la sintesi del peptidoglicano.

A dose sufficiente, l'evento finale dell'azione degli antibiotici β -lattamici è la lisi della cellula batterica.

Se questo tipo d'inquinamento continua a restare costante o ad aumentare probabilmente potrebbe accadere che i batteri diventino resistenti all'amoxicillina.

2.2.1.2. Tetraciclina

La realizzazione degli antibiotici del gruppo delle tetraciline fu il risultato di una ricerca sistematica e furono utilizzati per la prima volta nel 1948. Poco dopo la loro realizzazione iniziale si scoprì che le tetraciline erano altamente efficaci meritandosi così la definizione di farmaci ad ampio spettro e divennero molto presto farmaci di uso comune in clinica.

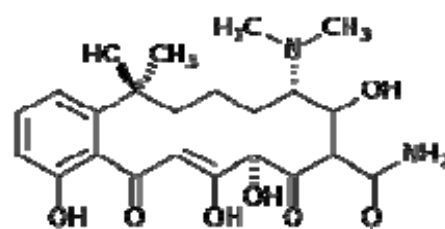


Figura 2: Tetraciclina
($\text{HC}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8$)

La tetraciclina inibisce la sintesi proteica dei batteri. La sede della loro azione antimicrobica è quella del ribosoma batterico, ma sono richiesti almeno due processi preliminari prima che quest'antibiotico possa raggiungere i ribosomi dei batteri. Il primo consiste nella diffusione passiva dell'antibiotico attraverso i canali idrofili della membrana cellulare esterna. Il secondo processo coinvolge un meccanismo di trasporto energia-dipendente il quale trasporta la tetraciclina attraverso la membrana citoplasmatica interna. Una volta penetrata all'interno della cellula batterica, la tetraciclina si lega principalmente a una subunità dei ribosomi batterici.

Le tetraciline sono state ampiamente usate sia nel trattamento delle malattie infettive che come additivo dei mangimi degli animali per promuoverne la crescita. Entrambi questi usi hanno portato a un aumento della resistenza batterica verso questi farmaci.

Questo farmaco viene utilizzato per polmoniti, malattie trasmesse per contatti sessuali, infezioni bacillari, infezioni da cocchi, infezioni delle vie urinarie, malattie intestinali e acne.

2.2.2. Farmaci antitumorali

I reflui di centri ospedalieri contengono vari componenti potenzialmente pericolosi per l'ambiente e per gli organismi acquatici. Le quantità maggiori riguardano gli antibiotici e i farmaci genotossici. I rifiuti genotossici includono i farmaci citotossici e antineoplastici, impiegati nella chemioterapia dei tumori (e come immunosoppressori nei trapianti d'organi e malattie di origine immunologica).

I farmaci citotossici (o citostatici o antiproliferativi) sono una categoria di antineoplastici che agisce interagendo con il DNA bloccandone la duplicazione o con i componenti del DNA impedendone la formazione.

I farmaci citotossici possono essere classificati come:

agenti alchilanti: agiscono direttamente sul DNA di qualsiasi tipo di cellula tumorale senza specificità. Possono intervenire sulle basi del DNA o ancora rompendo l'intera molecola di DNA o ancora bloccando la trascrizione o la duplicazione;

antimetaboliti: la loro azione principale è quella di formare legami covalenti con gli acidi nucleici, formando legami stabili ed interferendo con la sintesi del DNA;

inibitori mitotici: prevengono la replicazione cellulare.

Per questo motivo i residui di farmaci antitumorali sono molto tossici e causano effetti gravi, perché danneggiano il DNA stesso.

Solitamente quando degli inquinanti (genotossine) danneggiano il DNA un sistema di riparazione naturale, in un organismo, lo ripristina al proprio stato usuale, ma quando questo sistema non funziona per qualche motivo le cellule con il DNA danneggiato possono dividersi. Le cellule mutanti vengono quindi prodotte ed il difetto può spargersi, inducendo la prole dell'organismo in questione ad avere seri difetti che spesso sono molto dannosi per la loro salute.

2.2.3. Interferenti endocrini

Prima di presentare i problemi causati da questi farmaci, bisogna capire dove agiscono così da comprendere la gravità di quest'inquinamento.

Il sistema endocrino è uno dei tre sistemi fondamentali degli organismi assieme al sistema immunitario ed al sistema nervoso. Il sistema endocrino è una rete di comunicazione molto complessa e sensibile che, ancora oggi, non si conosce completamente. Esso influenza tutti gli aspetti principali della salute degli organismi viventi: la capacità riproduttiva, le funzioni cognitive, il metabolismo, la digestione e l'equilibrio ormonale.

Il sistema endocrino è composto da una dozzina di ghiandole, tra cui la tiroide, le ovaie e i testicoli. Il compito di tutte le ghiandole è di secernere ormoni, i più noti di questi ormoni sono l'estrogeno, il progesterone, il testosterone come anche l'insulina (proteina).

Gli ormoni sono dei messaggeri chimici che gestiscono e amministrano gli eventi interni al corpo come la crescita e lo sviluppo delle cellule, il funzionamento dei vari organi e il rapporto tra di essi.

Gli ormoni circolano nel sangue e vengono catturati dai recettori presenti nelle cellule. Un ormone lo si può paragonare ad una chiave che è capace di aprire soltanto alcune serrature. Quando l'ormone e il recettore s'incastano perfettamente, come succede con una chiave e la sua serratura, la cellula riceve un messaggio chimico, un'istruzione, come ad esempio produrre una certa proteina o moltiplicarsi.

Secondo studi recenti i recettori ormonali sono più complicati di quanto si pensasse, ed esistono in due forme, alfa e beta. Questo significa, ritornando alla similitudine della chiave, che ci sono più chiavi diverse che possono aprire lo stesso recettore.

A causa della complessità e la delicatezza del sistema endocrino, la minaccia degli interferenti endocrini è molto insidiosa e difficile da studiare a fondo.

Gli interferenti endocrini sono dei composti sintetici che si sono rilevati con il passare del tempo molto pericolosi per via della loro azione sul sistema endocrino. Queste sostanze, quando vengono assorbite da un essere vivente, sono in grado di mimare l'azione degli ormoni naturali secreti da un organismo. In parole povere, essi vengono riconosciuti da un corpo come veri ormoni, provocando il deragliamenti di molte normali funzioni fisiologiche.

Gli interferenti endocrini sono di vario tipo, ma io mi concentrerò soltanto dei prodotti farmaceutici ad azione ormonale.

Anche a livelli di esposizione bassi, l'uomo e gli organismi acquatici possono avere molteplici effetti nocivi. Gli effetti riscontrati in alcuni organismi acquatici fino ad oggi sono: anormale funzione tiroidea e riproduttiva, demascolinizzazione e femminilizzazione, alterazioni nel comportamento sessuale, diminuzione del successo riproduttivo e anomalie di sviluppo, diminuzione della qualità dello sperma, ritardo nella maturazione di rane e pesci e alterazioni nello sviluppo. Tutti questi effetti nocivi possono portare, in alcuni casi, fino all'estinzione di una specie animale.

Uno di questi effetti nocivi maggiormente studiato e conosciuto è la masculinizzazione e femminilizzazione (e viceversa) di un organismo acquatico.

Come già affermato in precedenza, il farmaco ormonale può imitare un ormone naturale. In questo caso l'estrogeno di questo farmaco si lega al recettore di estrogeni di un organismo acquatico.

Ciò provoca l'induzione di processi estrogenici, che spingono l'organismo ad avvertire un'incapacità riproduttiva a causa di un disturbo nel sistema riproduttivo.

I residui farmaceutici ad azione ormonale possono provocare tre problemi diversi a dipendenza del sesso del pesce e a dipendenza del meccanismo utilizzato.

Il primo problema è la masculinizzazione degli organi femminili.

Un prodotto chimico estrogenico, può legarsi ed attivare un recettore estrogeno. Ciò ostruisce gli effetti voluti dagli estrogeni interni (quelli dell'organismo).

Il secondo problema è la trasformazione di organismi maschili a ermafroditi.

Questo capita se gli ormoni contenuti in un farmaco contenente ormoni femminili si legano ai recettori negli organismi maschili.

Il terzo problema è se l'ormone di un farmaco non si lega al recettore come nei due casi precedenti, ma se ostruisce i recettori degli ormoni. In questo caso, la normale azione dell'ormone è inibita poiché non può reagire con il recettore.

Questo può causare la sterilità quando si presenta su un lungo periodo di tempo.

La sterilità di organismi acquatici è in aumento, perché c'è una continua presenza di residui farmaceutici ad azione ormonale come, per esempio, la pillola anticontraccettiva.

2.2.3.1. Vitellogenina

Gli agenti che agiscono sulle ghiandole endocrine sono in grado di deviare i messaggi chimici all'interno di molti organismi - come quelli degli ormoni - e la modificazione della neurochimica del cervello finisce per riflettersi anche sul sistema riproduttivo.

I più colpiti sono i pesci, perché la loro esposizione avviene non soltanto attraverso il cibo, ma anche attraverso la pelle. E non basta: proprio le caratteristiche fisiche di molti interferenti endocrini, soprattutto la loro idrofobia, favoriscono il loro trasferimento dall'acqua di fiumi e mari fino all'interno dei tessuti biologici. Come conseguenza, i pesci maschi cominciano a produrre secrezioni anormali di vitellogenina che è la fosfoglicoproteina responsabile della formazione del tuorlo delle uova.

La vitellogenina è una proteina sintetizzata nel fegato di vertebrati ovipari che serve alla formazione delle uova. Viene normalmente sintetizzata da femmine in periodo riproduttivo ed è assente nei maschi. A seguito di uno stimolo estrogenico può essere sintetizzata anche in individui immaturi o in maschi.

Cominciano, così, a femminilizzarsi: riducono la produzione di sperma, sviluppano apparati riproduttivi misti, in parte maschili e in parte femminili, e il loro potere riproduttivo cala.

La presenza di questa proteina estrogeno nel plasma di un animale può essere presa come l'evidenza dell'esposizione a estrogeni endogeni o a sostanze che mimano il comportamento degli estrogeni.

Uno studio ha dimostrato che nei pesci, l'esposizione a sostanze estrogenizzanti, come possono essere i residui farmaceutici, causa la sintesi e secrezione di vitellogenina nei pesci maschi.

Lo studio comportava nel tenere dei pesci maschi in gabbia presso varie zone fluviali. Dopo una settimana gli studiosi hanno mostrato concentrazioni di vitellogenina migliaia di volte più alta del normale. Dopo tre settimane il vitellogeno rappresentava il 50% delle proteine sanguigne. Ciò ha provocato un'alterazione dei livelli ormonali e lo sviluppo di gonadi femminili, causando una femminilizzazione dei pesci maschi.

L'Istituto di ricerca sulle acque del Consiglio Nazionale delle Ricerche (Italia) ha evidenziato, nelle acque del fiume Po, la presenza di diversi esemplari di pesci con gonadi¹ intersessuali, cioè contemporaneamente maschili e femminili, creando così casi di ermafroditismo.

Lo studio ha scoperto che il danno è tanto più marcato se l'esposizione avviene negli stadi giovanili e, in base alla natura chimica dell'interferente, le gonadi mostrano la comparsa dall'inizio di caratteri anatomici maschili o viceversa femminili, come pure l'insorgenza di fenomeni degenerativi che riducono o compromettono radicalmente il potenziale riproduttivo di un pesce.

L'alterazione gonadica più comune è quella di femminilizzazione e cioè di esemplari di sesso maschile il cui testicolo subisce una trasformazione. Alterazioni di questa natura possono mettere a rischio la sopravvivenza dell'intera popolazione di una data specie.

La gravità e l'estensione del problema non sono ancora chiarite: i casi documentati però si stanno moltiplicando in tutto il mondo.

¹ Gonadi: ghiandole che, negli animali, producono i gameti. Le gonadi femminili si dicono ovaie e producono gli ovociti. Quelle maschili sono dette testicoli e producono gli spermatozoi.

Danni evidenti si sono notati anche negli uccelli che si nutrono di pesci: sono tra i più esposti alla bioaccumulazione di agenti contaminanti. Il risultato è che negli esemplari maschi si ha, spesso, un'anormale produzione di vitellogenina nel sangue e il tratto riproduttivo si deforma. Questa proteina, che consente lo sviluppo del tuorlo delle uova, viene di solito prodotta dalle femmine al momento della riproduzione e, quindi, come nel caso dei pesci, i maschi si femminilizzano. Anche i mammiferi predatori possono essere in pericolo, per esempio gli orsi polari. Molte sostanze contaminanti si accumulano nei loro tessuti adiposi e si trasferiscono nel latte, particolarmente ricco di grassi, avvelenando progressivamente i piccoli.

Malformazioni, cancro, disordini del sistema endocrino e della sfera riproduttiva: si moltiplicano i casi di maschi di vertebrati - pesci, anfibi, rettili, uccelli e mammiferi - che mostrano una femminilizzazione dei caratteri sessuali, e aumentando i casi di ermafroditismo. In realtà, all'enfasi si intreccia anche la prudenza di altre ricerche: la materia resta controversa, perché altamente complessa. Molte delle variabili in gioco sono ancora sconosciute o poco chiare e gli scienziati ammettono che si è lontani da conclusioni definitive.

3. Studi e soluzioni per ridurre l'inquinamento da microinquinanti

L'igiene sanitaria è confrontata al giorno d'oggi con nuove sfide. Una di queste è la minaccia dei microinquinanti presenti nelle acque che costringe a cercare delle soluzioni per migliorare il sistema di depurazione delle acque. In effetti, i procedimenti attuali di depurazione non riescono a rimuovere i residui farmaceutici. Per risolvere questo problema molte nazioni hanno effettuato degli studi e hanno ideato dei progetti per cercare di mettere un freno a questo tipo d'inquinamento.

3.1. Studi internazionali

3.1.1. Studi europei

Sono disponibili alcuni studi europei che accertano la presenza di sostanze farmaceutiche in fanghi e acque di scarico così come in corpi idrici superficiali e sotterranei. Sono stati effettuati degli studi per scoprire l'impatto ecotossicologico di alcuni farmaci.

Nel 2001 l'Unione Europea ha supportato attività di ricerca per identificare la qualità e la quantità dei residui delle sostanze inquinanti allo scopo di valutare l'esistenza di rischi per la salute animale, umana e per l'ambiente. In particolare adesso esamino un gruppo di progetti denominato PHARMA che contiene tre ricerche particolari e che ha coinvolto in totale 13 nazioni.

Le tre ricerche sono:

Poseidon

“Assessment of technologies for the Removal of Pharmaceuticals and Personal Care products in Sewage and Drinking Potable Water Facilities to Improve the Indirect Potable Water Reuse”, coordinata dal Dott. Thomas Ternes, dell'ESWE-Istituto di Berlino. Le nazioni partecipanti al progetto erano Germania, Svizzera, Finlandia, Austria, Polonia, Francia e Spagna.

Uno degli obiettivi della ricerca era di trovare delle soluzioni per diminuire il rilascio incontrollato di sostanze farmaceutiche nell'ambiente. Essenzialmente si voleva scoprire delle soluzioni per diminuire i rilasci di tali sostanze da reflui idrici e dalle emissioni degli impianti di depurazione delle acque. Il fine di questa ricerca era di ottenere acque potabili prive di tali sostanze.

I programmi di monitoraggio ricercavano un totale di 55 prodotti farmaceutici di cui 36 sono stati individuati negli effluenti d'impianti di trattamento delle acque di scarico. Oltre 30 dei prodotti ricercati sono stati trovati in concentrazioni dell'ordine dei microgrammi al litro in corsi d'acqua superficiali dei paesi europei. Alcuni esempi sono riportati nella tabella 2.

Tabella 2: Concentrazioni (in ng/L) medie e massime, tra parentesi, rilevate durante il progetto POSEIDON di Germania (GER), Austria (AUT), Polonia (PL), Spagna (ES), Francia (FR), Svizzera (CH). (PPCPs: Pharmaceuticals and Personal Care Products as Pollutants)

PPCP	Location	GER	AUT	PL	ES	FR	CH	FIN
Diclofenac	influent	3500 (28000)	3100(6000)	1750(2000)	n.d.	n.a.	1400 (1900)	350 (480)
	effluent	810 (2100)	1500(2000)	n.a.	n.d.	295 (300)	950 (1140)	250 (350)
	river	150 (1200)	20 (64)	n.a.	n.a.	18 (41)	20 (150)	15 (40)
Ibuprofen	influent	5000 (14000)	1500(7200)	2250(2800)	2750(5700)	n.a.	1980 (3480)	13000(19600)
	effluent	370 (3400)	22 (2400)	n.a.	970 (2100)	92 (110)	< 50 (228)	1300 (3900)
	river	70 (530)	n.d.	n.a.	n.a.	23 (120)	n.d.–150	10 (65)
Bezafibrate	influent	4900 (7500)	2565(8500)	780 (1000)	n.d.	n.a.	n.a.	420 (970)
	effluent	2200 (4600)	103 (611)	n.a.	n.d.	96 (190)	n.a.	205 (840)
	river	350 (3100)	20 (160)	n.a.	n.a.	102 (430)	n.a.	5 (25)
Diazepam	influent	< LOQ	n.d.	n.a.	n.d.	n.a.	n.d.	n.d.
	effluent	< LOQ (40)	n.d.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
	river	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.
Carbamazepine	influent	2200 (3000)	912 (2640)	1150(1600)	n.a.	n.a.	690 (1900)	750 (2000)
	effluent	2100 (6300)	960 (1970)	n.a.	n.a.	1050(1400)	480 (1600)	400 (600)
	river	250 (1100)	75 (294)	n.a.	n.a.	78 (800)	30 (150)	70 (370)
SMX	influent	1370 (1700)	n.d. (470)	1550 (2000)	600	n.a.	425 (570 1670a) (1900a)	n.a.
	effluent	400 (2000)	31 (234)	n.a.	250	n.d.	290 (860) 400a)(880a))	n.a.
	river	30 (480)	n.d.	n.a.	n.a.	25 (133)	n.a.	n.a.
Roxithromycin	influent	830 (1000)	43 (350)	n.d.	n.d.	n.a.	20 (35)	n.a.
	effluent	100 (1000)	66 (290)	n.a.	n.d.	n.d.	15 (30)	n.a.
	river	<LOQ (560)	n.d.	n.a.	n.a.	9 (37)	n.a.	n.a.
Iopromide	influent	13000(22000)	n.d. (3840)	1330(2700)	6600	n.a.	810 (7700)	n.a.
	effluent	750 (11000)	n.d. (5060)	n.d.	9300	n.d.	790 (2000)	n.a.
	river	100 (910)	91 (211)	n.a.	n.a.	7 (17)	n.a.	n.a.
Tonalide (AHTN)	influent	400 (450)	970 (1400)	n.d.	1530(1690)	n.a.	545 (940)	200 (230)
	effluent	90 (180)	140 (230)	n.a.	160 (200)	n.a.	410 (500)	40 (50)
Galaxolide (HHCb)	influent	1500 (1800)	2800(5800)	610 (1200)	3180(3400)	n.a.	1660 (2200)	750 (980)
	effluent	450 (610)	470 (920)	n.a.	500 (600)	n.a.	1150 (1720)	120 (160)

n.d. non detectable (< detection limit);

n.a. non available; influent concentrations in Germany are mean concentrations;

a) SMX including the human metabolite N4-acetyl-sulfamethoxazole.

Rempharmawater

“Ecotoxicological Assessments and Removal Technologies for Pharmaceuticals in Wastewaters”, coordinata dal Prof. Roberto Andreozzi dell’Università Federico II di Napoli. Le nazioni partecipanti al progetto erano Italia, Svezia, Francia e Grecia.

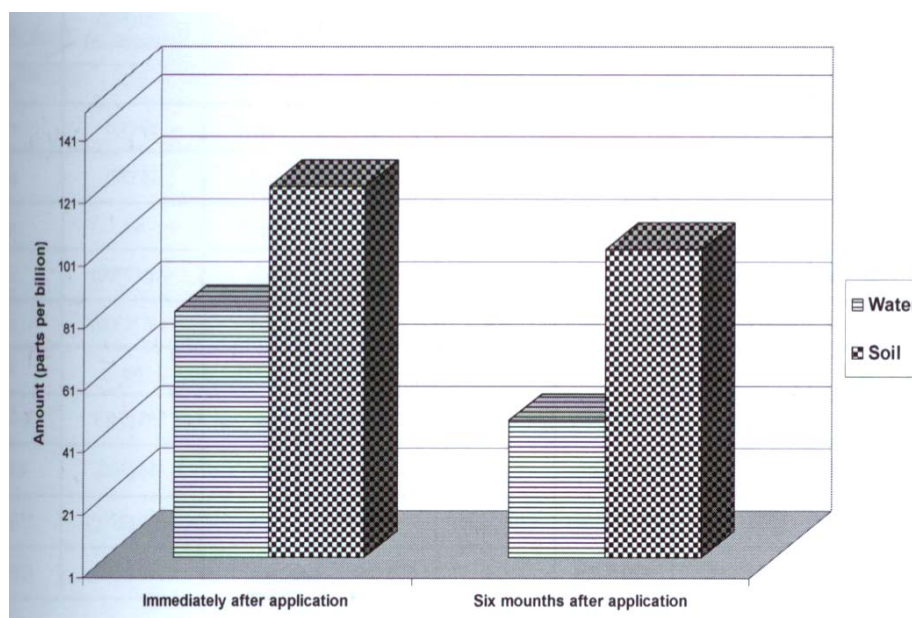
L’obiettivo principale della ricerca era la valutazione ecotossicologica dei rischi per l’ambiente causata dalla presenza di sostanze xenobiotiche (cioè di sostanze di qualsiasi tipo di origine, naturale o sintetica, estranea ad un organismo). Le zone di controllo erano gli effluenti degli impianti di trattamento delle acque di scarico. Si sono rilevati oltre 20 prodotti farmaceutici, in concentrazioni che variavano dai nanogrammi ai microgrammi al litro, appartenenti a 6 diverse categorie terapeutiche (antibiotici, β -bloccanti, antisettici, antiepilettici, antinfiammatori, regolatori lipici). In quasi la totalità degli impianti di depurazione delle nazioni partecipanti al progetto sono stati rilevati degli antibiotici e in seguito sono stati effettuati studi per determinare il loro tempo di dimezzamento nell’ambiente acquatico. Il tempo maggiore di dimezzamento è stato registrato nel Nord Europa nella stagione invernale e corrispondeva ad un tempo di alcune centinaia di giorni. Attualmente vi sono in corso attività di ricerca per conoscere il livello di tossicità degli antibiotici verso organismi viventi acquatici come alghe, invertebrati e pesci. Inoltre si sta valutando la possibilità di utilizzare, oltre ai trattamenti convenzionali, come fanghi attivi, nuove e più avanzate tecnologie di trattamento come l’ozonizzazione, la fotocatalisi e altre, per rimuovere i residui farmaceutici negli impianti di trattamento delle acque di scarico.

Eravmis

“Environmental Risk Assessment of Veterinary Medicines in Sludge”, coordinata dal Dott. Alistair Boxall, della Cranfield University, Gran Bretagna. Le nazioni partecipanti al progetto erano Gran Bretagna, Danimarca, Olanda e Spagna. L’obiettivo di questa ricerca era di studiare una vasta gamma di antibiotici veterinari e valutare i fattori che

influenzano il loro comportamento ambientale. Lo scopo era di trovare metodi per valutare l’impatto ambientale delle medicine veterinarie liberate nell’ambiente con la diffusione di concime, residui e fanghi. Gli obiettivi specifici della ricerca sono: identificare i fattori ed i processi che intervengono nella degradazione delle medicine veterinarie presenti in concimi, fango, terreno ed acqua;

Figura 3: Andamento della concentrazione di oxitetraciclina nel suolo e nelle acque rilevata nella ricerca ERAVMIS.



identificare i fattori ed i processi che intervengono nel trasporto delle medicine veterinarie nell'ambiente;
valutare gli effetti delle medicine veterinarie sugli organismi acquatici e terrestri;
valutare la distribuzione ambientale di una gamma di medicine veterinarie;
usare le informazioni ottenute nei punti precedenti per sviluppare modelli di valutazione di esposizione e piani d'azione ad uso del legislatore e delle industrie europee.
[Piergiuseppe Calà, 2007].

3.1.2. Studi extra europei

L'*United States Environmental Protection Agency* (U.S. E.P.A.) si è posta come obiettivo la prevenzione dell'inquinamento da farmaci in campo ambientale promuovendo molte risorse per studi. Gli studi si concentrano sulla verifica degli esistenti o futuri problemi di alterazioni di ecosistemi o di salute pubblica. Le principali strutture che si dedicano a questo tipo di lavoro a partire dalla fine degli anni '90 sono l'*Office of Research and Development's* (ORD) e il *National Exposure Research Laboratory* (NERL). L'agenzia promuove continuamente studi su quest'argomento e si concentra soprattutto sullo scambio d'informazioni tra i diversi scienziati impegnati su questo tipo di ricerca.

3.2. Studi nazionali - Strategie MicroPoll

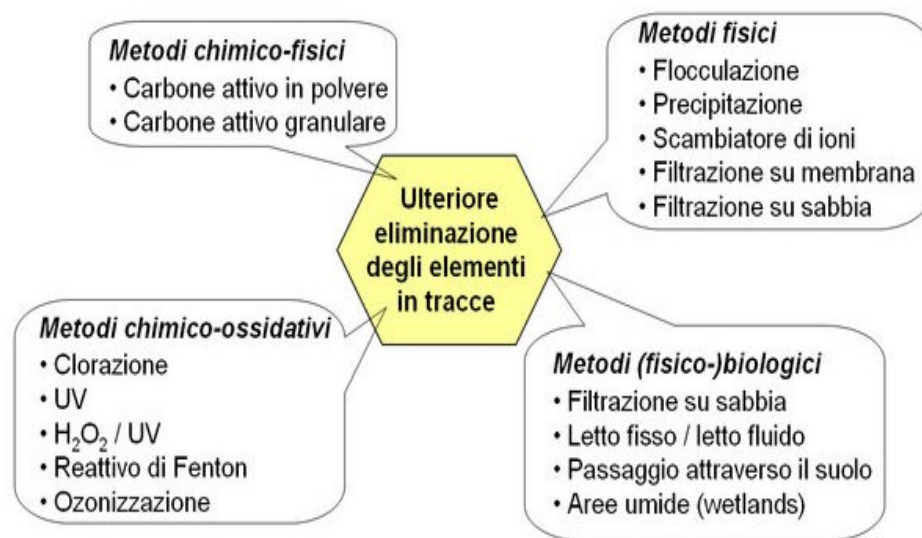
Negli ultimi anni il livello delle acque in Svizzera è decisamente migliorato grazie alla crescente qualità degli impianti di depurazione. Tuttavia l'inquinamento da microinquinanti non viene frenato da questi impianti. Per questo motivo nel 2006 l'Ufficio Federale dell'Ambiente (UFAM) ha ideato, a Regensdorf dall'Istituto federale di ricerca sull'acqua (EAWAG), un progetto denominato "Strategie MicroPoll" avente come scopo la riduzione dell'inquinamento da microinquinanti nelle acque attraverso gli impianti di smaltimento delle acque urbane. I ricercatori hanno messo a punto dei sistemi di depurazione moderni che dovrebbero essere in grado di eliminare o almeno migliorare l'eliminazione di microinquinanti. Il progetto lanciato a Regensdorf serve a verificare l'efficacia di un nuovo sistema di depurazione aggiunto a quelli classici, a definire le esigenze tecniche e operative a livello dei singoli impianti di depurazione e a stimarne i costi.

Il punto di partenza del progetto è stato lo studio di altri progetti di ricerca in questo campo, il cui risultato è stato una breve descrizione delle varianti per migliorare gli impianti di depurazione affinché si possano rimuovere o almeno frenare i microinquinanti. I possibili sistemi di depurazione da aggiungere a quelli classici sono divisi in quattro categorie in base al meccanismo d'azione: fisico-chimici, chimico-ossidativi, fisici e biologici (Figura 4).

Un risultato importante che ne è scaturito è che il trattamento con ozono o con il carbone attivo ha un'ampia efficacia e di conseguenza consente una netta eliminazione dei microinquinanti.

La sperimentazione pilota effettuata nell'impianto di depurazione delle acque Wüeri di Regensdorf è stata effettuata per testare veramente l'efficacia del sistema di depurazione tramite l'ozono. La sperimentazione è stata ideata nel 2006, è stata avviata nel luglio 2007 e si è conclusa alla fine del 2008. È stata prevista una valuta-

Figura 4: Opzioni tecniche per l'eliminazione dei microinquinanti.



zione più precisa delle esigenze tecniche che l'impianto di ozonizzazione deve soddisfare, ma i risultati ottenuti fanno ben sperare.

Terminata la sperimentazione pilota a Regensdorf ne è stata avviata un'altra presso un impianto di depurazione Vidy a Losanna che ha una composizione delle acque di scarico nettamente diverse da quelle del primo esperimento. Anche qui si vuole verificare l'efficacia dell'ozonizzazione riferendosi soprattutto ai risultati ottenuti nella prima sperimentazione di Regensdorf. L'entrata in funzione dell'impianto risale alla fine del 2008 e si attendono i risultati.

3.3. Possibili interventi

3.3.1. La green pharmacy

La consapevolezza dei rischi di questo tipo d'inquinamento ha stimolato alcuni ricercatori a far nascere "movimenti" di ecologismo come la *green chemistry* e la *green pharmacy*. La *green pharmacy* è un tentativo per cercare di stimolare la creazione di farmaci più ecocompatibili che tengano conto dei rischi ambientali.

Questo progetto è stato ben accolto in Svezia che ha creato una prima proposta concreta. Lo *Stockholm County Council and Apoteket* e lo *Swedish Chemicals Inspectorate* hanno creato un modello per la classificazione dei farmaci in base alle loro caratteristiche ecotossicologiche. N'è derivato un opuscolo che è stato distribuito a tutti i medici prescrittori. Un suggerimento a loro dato, è di prescrivere, a pari attività e costo di un altro, il farmaco più ecocompatibile.

L'obiettivo di questa iniziativa pilota, oltre a quello di sensibilizzare medici e consumatori, è quello di far prendere coscienza e allertare le industrie farmaceutiche dei rischi legati all'ambiente.

3.3.2.L'EMEA e l'era dei nuovi farmaci

In Europa, gli aspetti di tipo ambientale dei farmaci sono stati affrontati per la prima volta nel 1993 da una normativa che introduceva la necessità di segnalare ogni possibile rischio ambientale potenzialmente correlato all'utilizzo dei prodotti medicinali.

Successivamente (alcuni anni dopo), all'interno dell'Unione Europea, l'*European Medicinal Evaluation Agency* (EMEA) ha creato delle linee-guida per valutare i nuovi farmaci e il loro rischio se rilasciati nell'ambiente. Se la valutazione presenta che ci sono dei rischi per l'ambiente allora scatta l'adozione di alcune misure di precauzione per limitare l'esposizione del farmaco nell'ambiente. A questi farmaci, ritenuti pericolosi per l'ambiente, sono richieste etichette speciali per sensibilizzare medici e pazienti. Sull'etichetta e nel foglietto illustrativo vi devono essere scritti le indicazioni per le misure di precauzione e i rischi ambientali del dato farmaco.

Le linee-guida dell'EMEA regoleranno, quando entreranno in vigore, il rischio ambientale relativamente ai nuovi farmaci per uso umano. In nessun caso un farmaco riconosciuto pericoloso per l'ambiente sarà eliminato. Verranno solo attivate procedure indirette per mitigare il rischio ambientale, che non sarà mai quindi eliminato completamente.

C'è da sottolineare però che nessun farmaco, anche se ritenuto molto dannoso per l'ambiente, viene eliminato e, inoltre, non è previsto nulla per i farmaci già attualmente in commercio ma questo progetto verrà attuato solamente per i nuovi farmaci.

3.3.3.Depuratori più efficienti

Un'altra possibile soluzione, già attuata in progetti piloti in alcune nazioni come la Svizzera, è di creare impianti di depurazione più efficienti in grado di eliminare anche i residui farmaceutici.

Gli impianti di depurazione attuali hanno due sistemi di depurazione e quindi per la risoluzione del problema è possibile introdurre un terzo passo, con lo scopo di rimuovere gli inquinanti recalcitranti come i farmaci. I processi innovativi, che possono essere utilizzati in questo terzo sistema di depurazione, possono essere di tipo chimico, come l'ozonizzazione, oppure di tipo fisico, come le membrane microfiltranti.

Il problema di questa possibile soluzione è che i tempi sono lunghi e gli investimenti richiesti sono notevoli.

3.3.4.Smaltimento corretto

Una possibile soluzione senza costo, per ridurre una parte di quest'inquinamento, è dando un'educazione ai consumatori per lo smaltimento corretto dei farmaci, come riconsegnare sempre i farmaci scaduti in farmacia e non per esempio gettarli nel water o nella spazzatura.

Un'indagine negli Stati Uniti ha stabilito che la maggior parte dei consumatori smaltiscono in maniera scorretta i loro farmaci scaduti o inutilizzati, ben pochi li

riportano in farmacia. Quindi molto si potrebbe fare con un'educazione dei consumatori a un corretto smaltimento. Inoltre molto potrebbe fare l'informazione di medici e pazienti per promuovere un utilizzo adeguato di medicinali fornendo una lista dei rischi ambientali e motivare a non abusare di medicinali superflui o inutili.

4. Parte sperimentale

4.1. Introduzione lavoro

Con questo mio lavoro sperimentale volevo vedere se, in alcune piscicoltura del Sopraceneri, ci sono delle differenze di resistenze agli antibiotici tra i batteri delle acque in entrata e quelle in uscita. Inoltre volevo vedere se le acque che provengono da queste piscicoltura sono più simili alle acque luride provenienti da ospedali, alle acque d'impianti di depurazione o alle acque di fiumi e laghi.

Le piscicoltura prese in considerazione sono di Gorduno, di Bignasco, di Maggia, di Lavorgo e di Rodi. Gli ospedali sono l'Ospedale Universitario di Zurigo, l'Ospedale Regionale di Lugano e l'Ospedale Italiano di Lugano.

Gli impianti di depurazione presi in considerazione sono quelli di Airolo e Bioggio. I campioni prelevati da fiumi sono stati prelevati dal fiume Vedeggio e dal fiumicello Cadagno e i campioni prelevati dai laghi sono stati prelevati dal Lago Cadagno e dal Lago Ceresio.

4.2. Metodi

Qui di seguito ci sono le spiegazioni dei due metodi importanti che ho dovuto eseguire per raggiungere lo scopo del mio lavoro.

4.2.1. MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization – Time of Flight)

Lo scopo di questa procedura è di identificare la famiglia e la specie di un batterio.

Le colture incubate per 24 ore sono idonee e ideali per un'applicazione di questa tecnica. I diversi ceppi batterici devono essere insemiati su di una lama d'acciaio FlexiMass, raffigurata nella figura 6 (pagina seguente), e si devono seguire delle regole (Figura 5).

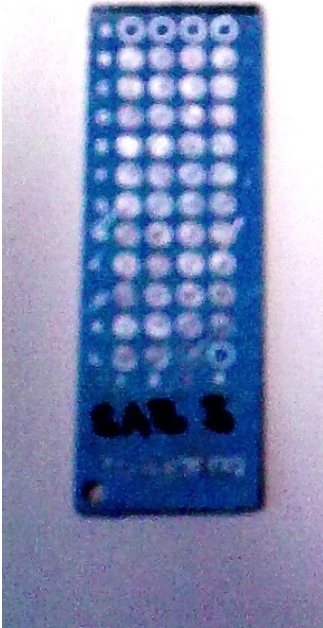
La prima è che la riga A (A1-A4) di ogni lama deve rimanere sempre vuota.

La seconda è che su ogni lama deve essere insemiato un ceppo di *Escherichia Coli* (sempre in posizione G3+G4) per effettuare una calibrazione automatica dell'apparecchio.

Figura 5: Regole per l'applicazione del MALDI-TOF.

A1	A2	A3	A4	Lasciare vuoto
B1	B2	B3	B4	
C1	C2	C3	C4	
D1	D2	D3	D4	
E1	E2	E3	E4	
F1	F2	F3	F4	
G1	G2	G3	G4	<i>E.Coli</i> per calibrazione
H1	H2	H3	H4	
I1	I2	I3	I4	
J1	J2	J3	J4	Ceppi da analizzare
K1	K2	K3	K4	
L1	L2	L3	L4	

Figura 6: Lama d'acciaio FlexiMass.



La terza è che ogni ceppo viene analizzato in doppio.

Ogni colonia di batteri viene messa al centro di due cerchi mediante un ago di plastica. La quantità di batteri messi sulla lama dev'essere appena visibile a occhio nudo. In seguito i batteri appena deposti, vengono ricoperti da 0.5 microgrammi di matrice DHB (acido diidrossibenzoico) messi grazie ad una micropipetta facendo attenzione a non fare fuoriuscire la matrice dal bordo del cerchio. Dopo poco tempo il tutto si asciuga e si formano dei cristalli. Quando si è fatta quest'operazione su tutti i batteri presenti sulla lama, essa viene messa in una macchina che la bombarda con un fascio laser.

La matrice cristallizza rompendo le cellule e liberando le proteine, così facendo la macchina riconosce che tipo di batteri sono presenti sulla mia piastra.

4.2.2. Antibiogramma

La tecnica si utilizza per vedere se un ceppo batterico è resistente o sensibile a un dato antibiotico.

Materiali d'uso e reagenti:

Piastre Müller Hinton (MH)

Campioni di colonie batteriche

Provette con Tryptic Soy Broth (TSB)

Distributore di dischetti di antibiotici mantenuti a 2-8°C

Standard di torbidità McFarland 0.5

Anse sterili di platino

Bastoncini ovattati sterili

Vortex

Calibro per la misurazione dei diametri

In ogni provetta con il TSB s'inserisce un po' di colonia batterica. In seguito s'incubano le provette a 35°C per 2-4 ore. Dopo si riprendono le provette e si agitano con il vortex. In seguito si confronta la torbidità del contenuto con lo Standard di torbidità McFarland 0.5. Se la torbidità non è uguale, si aggiusta aggiungendo NaCl.

Entro 15 minuti dal momento che si è ottenuto una torbidità pari a 0.5 McFarland s'immerge un bastoncino ovattato sterile nel liquido. In seguito con il bastoncino si stende il liquido su una piastra Müller Hinton in tre direzioni diverse.

Poi si mettono a equa distanza i dischetti di antibiotici grazie al distributore di dischetti. Gli antibiotici che ho utilizzato per il mio lavoro sono l'ampicillina, la tetraciclina, il bactrim, l'augmentin, la ciprofloxacina e la polimixina.

Poi s'incubano a 35°C per 24 ore. Dopo le 24 ore si misura il diametro degli aloni con il calibro per la misurazione. A dipendenza dell'antibiotico e del diametro tramite delle tabelle si può stabilire se un batterio è resistente o no.

Nell'immagine (figura 7) si può vedere una piastra con alcuni aloni, segno che quel batterio è sensibile a quegli antibiotici e si può vedere dei dischetti senza o con un piccolo alone attorno, segno questo che quel batterio è resistente a quell'antibiotico.

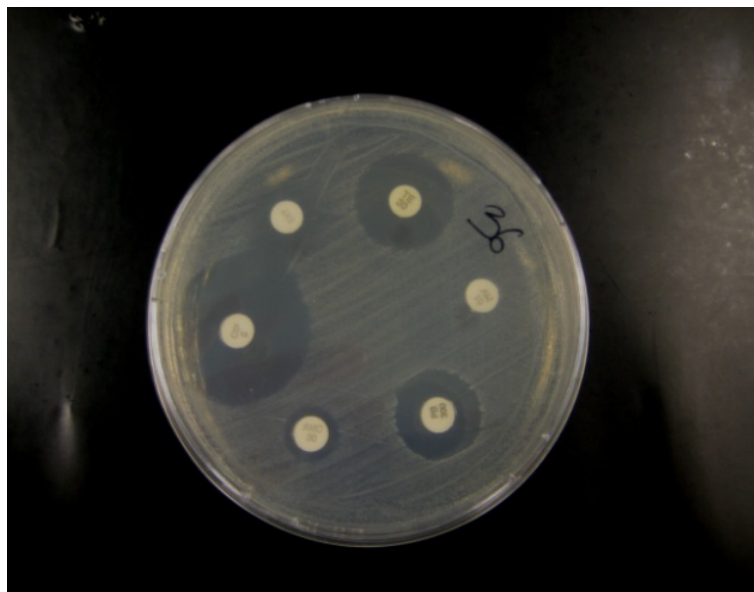


Figura 7: Piastra Müller Hinton.

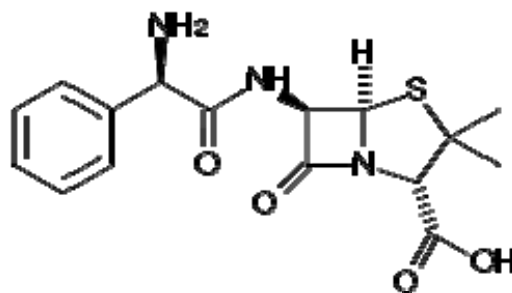
Gli antibiotici utilizzati nel mio lavoro sono:

AMPICILLINA:

L'ampicillina è un antibiotico del gruppo delle penicilline e appartenente alla classe dei β -lattamici ed è il composto prototipo del gruppo delle aminopenicilline. La sua sigla è AM.

L'ampicillina attacca i batteri inibendo la sintesi proteica della parete cellulare batterica. Così facendo essa impedisce i normali scambi biologici. Questo farmaco, come anche l'amoxicillina (perché molto simili), si rivela efficace nel trattamento di sinusiti, otiti medie, bronchiti, infezioni delle vie urinarie, meningiti e infezioni da salmonella.

Figura 8: Ampicillina ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$)

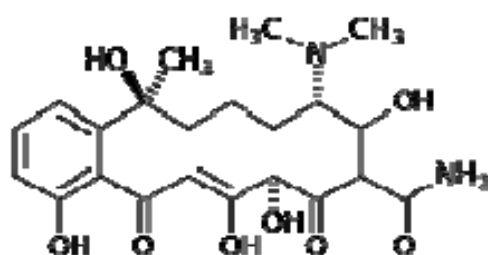


TETRACICLINA:

La tetraciclina è un antibiotico del gruppo delle tetraciclina e la sua sigla è TE.

La tetraciclina inibisce la sintesi proteica dei batteri. La sede della loro azione antimicrobica è quella del ribosoma batterico, ma sono richiesti almeno due processi preliminari prima che quest'antibiotico

Figura 9: Tetraciclina ($HC_{22}H_{24}N_2HO_8$)



possa raggiungere i ribosomi dei batteri. Questo farmaco viene utilizzato per polmoniti, malattie trasmesse per contatti sessuali, infezioni bacillari, infezioni da cocchi, infezioni delle vie urinarie, malattie intestinali e acne (Vedere punto 2.2.1.2 Tetraciclina).

BACTRIM:

Il bactrim conosciuto anche con il nome di trimetoprim sulfametossazolo è un antibiotico del gruppo dei sulfamidici e la sua sigla è SXT o TMP-SMX.

Il bactrim impedisce la sintesi del folato. Il folato è la molecola che serve per la duplicazione del DNA.

La frequenza con cui si sviluppa la resistenza al trimetoprim-sulfametossazolo è minore di quella di entrambi i farmaci singolarmente. Ciò ha una logica poiché il batterio che è diventato resistente verso un farmaco può sempre rimanere ucciso dall'altro farmaco.

Il bactrim viene utilizzato per infezioni delle vie urinarie, infezioni gastrointestinali, infezioni dell'apparato respiratorio e infezioni genitali.

Figura 10: Sulfametossazolo ($C_{10}H_{11}N_3O_3S$).

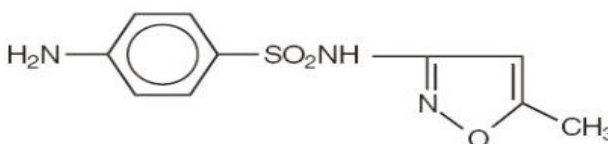
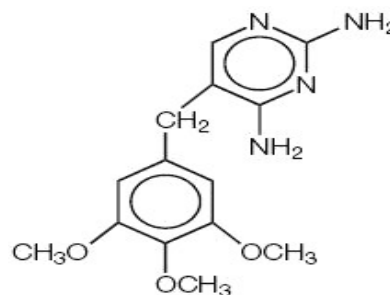


Figura 11: Trimetoprim ($C_{14}H_{18}N_4O_3$).



CIPROFLOXACINA:

La ciprofloxacina è un antibiotico del gruppo dei fluorochinoloni appartenente alla classe di chinoloni e la sua sigla è CIP.

La ciprofloxacina agisce sulla struttura e sulla funzione del DNA batterico.

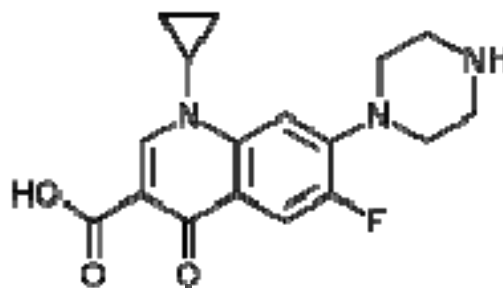
Essa blocca la replicazione del DNA batterico, attraverso la sua legatura all'enzima DNA girasi.

La DNA girasi introduce, invece di rimuovere, superavvolgimenti negativi della molecola di DNA nelle cellule procariote. Quindi è responsabile del superavvolgimento negativo dei cromosomi dei procarioti.

La DNA girasi, facilita lo svolgimento della doppia elica del DNA, necessario per l'attuazione di molte reazioni, inclusi l'inizio della trascrizione e la replicazione del DNA.

I DNA batterici, che sono generalmente circolari, esistono pressoché invariabilmente in una forma superavvolta negativamente, come del resto la maggior parte delle molecole naturali di DNA. Il DNA superavvolto negativamente è più compatto del DNA rilassato ed è inoltre predisposto allo svolgimento.

Figura 12: Ciprofloxacina ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$).



L'enzima che catalizza la superspiralizzazione negativa del DNA batterico è appunto la DNA girasi, che è costituita da due subunità A e da due subunità B.

La ciprofloxacina inibisce la DNA girasi mediante formazione di un complesso girasi-DNA-chinolone con il risultato di impedire la risaldata del DNA.

Questo antibiotico viene utilizzato solitamente per combattere alle infezioni delle vie urinarie.

AUGMENTIN o AMOXICILLINA:

L'augmentin conosciuto anche come amoxicillina è un antibiotico del gruppo delle penicilline e appartenente alla classe dei β -lattamici. La sua sigla è AMC.

L'amoxicillina è un antibiotico usato sia nella medicina umana che in piscicoltura.

Questi medicinali sono indicati per i trattamenti contro le infezioni provocate dai batteri gram-negativi sensibili all'amoxicillina, così come per i trattamenti contro varie

infezioni provocate dai batteri gram-positivi e gram-negativi come per esempio: infezioni delle vie respiratorie, infezioni-ORL, infezioni delle vie urinarie, malattie veneree, infezioni del tratto gastro-intestinale.

L'amoxicillina è un antibiotico semi-sintetico che agisce sulla sintesi della parete batterica. Inibisce la sintesi del peptidoglicano¹ bloccando l'azione della transpeptidase (enzima). Poiché il peptidoglicano della parete cellulare batterica non è presente nelle cellule umane, esso rappresenta un bersaglio ideale per le terapie con gli antibiotici.

A dose sufficiente, l'evento finale dell'azione degli antibiotici β -lattamici è la lisi della cellula batterica.

(Vedere punto 2.2.1.1. Amoxicillina)

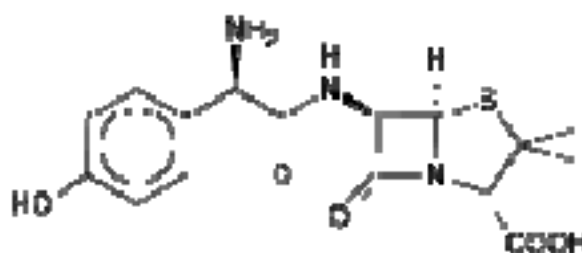
POLIMIXINA B:

La polimixina B è un antibiotico del gruppo dei polipeptidi e la sua sigla è PB. Attualmente questo farmaco viene utilizzato di rado a causa della sua gravissima nefrotossicità (nocivo ai reni).

Le polimixine sono state scoperte del 1947 e sono un gruppo di antibiotici molto simili tra loro.

Le polimixine sono un gruppo di antibiotici attivi solo nei confronti dei batteri Gram-negativi alla cui membrana esterna si legano specificatamente distruggendone le proprietà osmotiche e provocando la fuoriuscita di composti intracellulari.

Figura 13: Augmentin ($C_{16}H_{19}N_3O_5S \pm 3H_2O$)



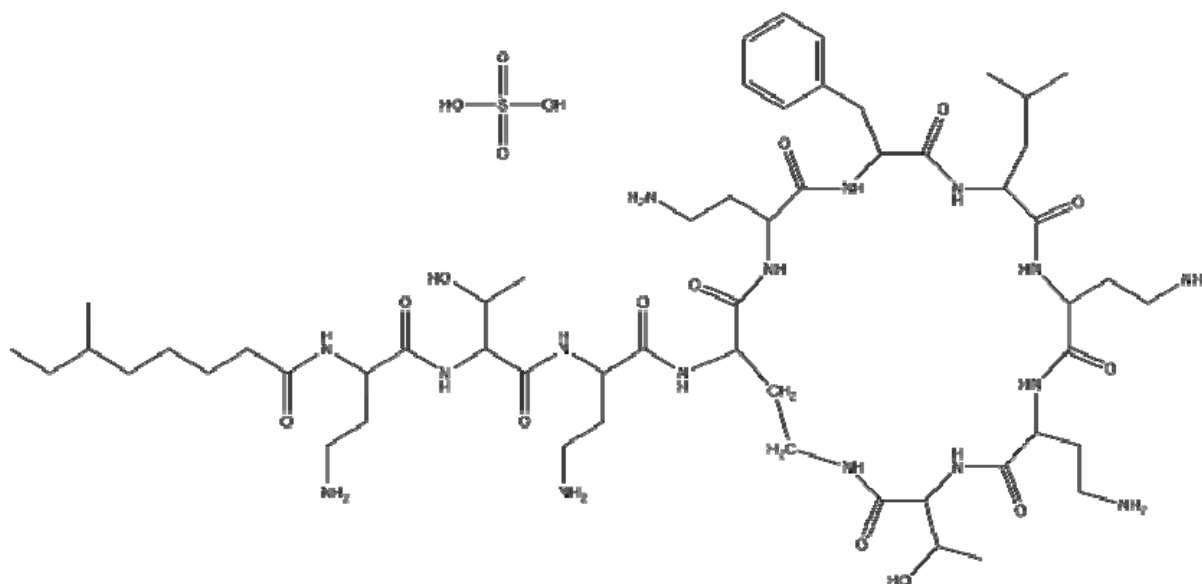
¹ Il peptidoglicano costituisce uno strato nella parete cellulare dei batteri che è il principale responsabile della rigidità della cellula.

La polimixina B interagisce intensamente con i fosfolipidi e penetrano nelle membrane cellulari sovvertendone la struttura. La permeabilità della membrana batterica cambia immediatamente dopo essere venuta a contatto con il farmaco impedendo così gli scambi.

Le polimixine sono molecole costituite da un peptide ciclico, legato a un polipeptide lineare che termina con una molecola di acido grasso. La presenza nella molecola di una porzione idrofila e una idrofoba consente a questi antibiotici di inserirsi tra lo strato proteico e quello lipidico alterando la permeabilità della membrana.

Questo farmaco viene utilizzato per le infezioni della cute, delle mucose, dell'occhio e dell'orecchio provocate da microrganismi sensibili alla polimixina B.

Figura 14: Polimixina B ($\text{HC}_{56}\text{H}_{100}\text{N}_{16}\text{O}_{17}\text{HS}$).



4.3. Prelievi e analisi

4.3.1. Prelievi

Sono stati prelevati diversi tipi di campioni d'acqua da diverse piscicoltura del Sopraceneri. Le piscicoltura in questione sono quella di Gorduno, quella di Bignasco, quella di Maggia, quella di Lavorgo e quella di Rodi. Sono state prelevate le acque in entrata e le acque in uscita di ogni piscicoltura e di varie vasche contenenti pesci diversi.

In totale si hanno 18 prelievi:

- Gorduno: Acqua in entrata in vasca con Farie con più di un anno (G E FA 1+)
- Gorduno: Acqua in uscita da vasca con Farie con più di un anno (G U FA 1+)
- Gorduno: Acqua in entrata in vasca con Farie con meno di un anno (G E FA 0+)
- Gorduno: Acqua in uscita da vasca con Farie con meno di un anno (G U FA 0+)
- Maggia: Acqua in entrata (M E)
- Maggia: Acqua in uscita da vasca con Farie (M U FA)
- Maggia: Acqua in uscita da vasca con Iridee (M U I)
- Bignasco: Acqua in entrata (B E)
- Bignasco: Acqua in uscita da vasca rotonda con Farie (B U FAo)
- Bignasco: Acqua in uscita da vasca esterna con Farie (B U FA)
- Lavorgo: Acqua in entrata (L E)
- Lavorgo: Acqua in uscita da vasca con Farie (L U FA)
- Lavorgo: Acqua in uscita da vasca con Iridee (L U I)
- Rodi: Acqua in entrata in vasca con Farie (R E FA)
- Rodi: Acqua in entrata in vasca con Iridee (R E I)
- Rodi: Acqua in uscita da vasca con Farie (R U FA)
- Rodi: Acqua in uscita da vasca rotonda con Farie (R U FAo)
- Rodi: Acqua in uscita da vasca con Iridee (R U I)

Tutti questi prelievi sono stati piastrati separatamente (ogni prelievo una piastra). Le piastre utilizzate sono piastre agar sangue sulle quali sono stati piastrati 100 microlitri di ogni campione. Si sono ottenute 18 piastre che sono state messe in un forno a 37°C per 24 ore.

Adesso descrivo i diversi campioni in base alle diverse piscicoltura:

4.3.1.1. Gorduno

Dopo 24 ore d'incubazione a 37°C ho ripreso le piastre. Ho notato che su tre piastre si sono create diverse colonie di batteri. La piastra G E FA 0+ non presenta colonie di batteri, perché l'acqua è acqua potabile.

Dalla piastra G U FA 0+ ho isolato 2 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 2 piastre le ho chiamate G U FA 0+ 1 e G U FA 0+ 2.

Dalla piastra G E FA 1+ ho isolato 4 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 4 piastre le ho chiamate G E FA 1+ 1, G E FA 1+ 2, G E FA 1+ 3 e G E FA 1+ 4.

Dalla piastra G U FA 1+ ho isolato 4 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 4 piastre le ho chiamate G U FA 1+ 1, G U FA 1+ 2, G U FA 1+ 3 e G U FA 1+ 4.

Le 4 piastre iniziali le ho messe nel frigo, mentre quelle appena piastrate sono state messe nel forno a 37°C per 24 ore.

In seguito, ho utilizzato anche per queste colonie di batteri la tecnica MALDI-TOF per riconoscere il tipo di batterio (vedere punto 4.2.1. MALDI-TOF).

4.3.1.2.Maggia

Dopo 24 ore d'incubazione a 37°C ho ripreso le piastre. Ho notato che sulle tre piastre si sono create relativamente poche colonie.

Dalla piastra M E ho isolato 3 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 3 piastre le ho chiamate M E 1, M E 2 e M E 3.

Dalla piastra M U I ho isolato 2 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 2 piastre le ho chiamate M U I 1 e M U I 2.

Dalla piastra M U FA ho isolato 3 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 3 piastre le ho chiamate M U FA 1, M U FA 2 e M U FA 3.

Le 3 piastre iniziali le ho messe nel frigo, mentre quelle appena piastrate sono state messe nel forno a 37°C per 24 ore.

In seguito, ho utilizzato anche per queste colonie di batteri la tecnica MALDI-TOF per riconoscere il tipo di batterio (vedere punto 4.2.1. MALDI-TOF).

4.3.1.3.Bignasco

Dopo 24 ore d'incubazione a 37°C ho ripreso le piastre. Ho notato che sulle tre piastre si sono create relativamente poche colonie.

Dalla piastra B E ho isolato 2 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 2 piastre le ho chiamate B E 1 e B E 2.

Dalla piastra B U FA ho isolato 2 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 2 piastre le ho chiamate B U FA 1 e B U FA 2.

Dalla piastra B U FAo ho isolato 2 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 2 piastre le ho chiamate B U FAo 1 e B U FAo 2.

Le 3 piastre iniziali le ho messe nel frigo, mentre quelle appena piastrate sono state messe nel forno a 37°C per 24 ore.

In seguito, ho utilizzato anche per queste colonie di batteri la tecnica MALDI-TOF per riconoscere il tipo di batterio (vedere punto 4.2.1. MALDI-TOF).

4.3.1.4.Lavorgo

Dopo 24 ore d'incubazione a 37°C ho ripreso le piastre. Ho notato che sulle piastre L U FA e L U I si sono create relativamente poche colonie. La piastra L E invece non sono cresciute colonie di batteri.

Dalla piastra L U FA ho isolato una colonia che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata L U FA 1.

Dalla piastra L U I ho isolato una colonia di batteri che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata L U I 1.

Le 3 piastre iniziali le ho messe di nuovo nel forno a 37°C per vedere se si sviluppavano altre colonie. Anche quelle appena piastrate sono state messe nel forno a 37°C per 24 ore.

Dopo 24 ore ho notato che sulla piastra L U FA si era formata un'altra colonia che ho piastrato su una piastra agar sangue e l'ho chiamata L U FA 2.

In seguito, ho utilizzato anche per queste colonie di batteri la tecnica MALDI-TOF per riconoscere il tipo di batterio (vedere punto 4.2.1. MALDI-TOF).

4.3.1.5.Rodi

Dopo 24 ore d'incubazione a 37°C ho ripreso le piastre. Ho notato che su 2 piastre si sono create relativamente poche colonie. La piastra R U FAo invece non sono cresciute colonie di batteri.

Dalla piastra R E FA ho isolato 2 diverse colonie che ho piastrato su piastre agar sangue. Le piastre le ho chiamate R E FA 1 e R E FA 2.

Dalla piastra R E I ho isolato una colonia di batteri che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata R E I 1.

Dalla piastra R U I ho isolato 3 differenti colonie di batteri che ho piastrato su piastre agar sangue. Le 3 piastre le ho chiamate R U I 1, R U I 2 e R U I 3.

Dalla piastra R U FA ho isolato una colonia di batteri che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata R U FA 1.

Le 5 piastre iniziali le ho messe di nuovo nel forno a 37°C per vedere se si sviluppavano altre colonie. Anche quelle appena piastrate sono state messe nel forno a 37°C per 24 ore.

Dopo 24 ore ho notato che sulle piastre R U I e R U FA si erano formate altre colonie e ho notato che sulla piastra R U FAo era cresciuta una colonia di batteri.

Dalla piastra R U I ho isolato altre 2 colonie che ho piastrato su piastre agar sangue. Le piastre le ho chiamate R U I 4 e R U I 5.

Dalla piastra R U FA ho isolato una colonia che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata R U FA 2.

Dalla piastra R U FAo ho isolato una colonia che ho piastrato su una piastra agar sangue. La piastra l'ho chiamata R U FAo 1.

In seguito, ho utilizzato anche per queste colonie di batteri la tecnica MALDI-TOF per riconoscere il tipo di batterio (vedere punto 4.2.1. MALDI-TOF).

4.4.Analisi

Alla fine non tutti i batteri che ho isolato sono stati riconosciuti dal MALDI. Quindi, per proseguire il mio lavoro, ho scelto 32 piastre da quelle che avevo isolato e ho scongelato altri 30 campioni provenienti da uno studio effettuato alcuni anni fa. La tabella della pagina seguente mostra il nome dei vari campioni con la descrizione di dove sono stati prelevati, in che tipo di acqua, la famiglia e la specie del batterio (Tabella 3).

Tabella 3: Elenco dei vari campioni.

Num	Nome	Isolato da	Origine	Batterio	
				Famiglia	Genere
1	G U FA 1+ 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio		
2	G U FA 1+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Providencia
3	G U FA 1+ 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas
4	G U FA 1+ 4	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio		
5	G U FA 0+ 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas
6	G U FA 0+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Staphylococcaceae	Staphylococcus
7	G E FA 1+ 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia
8	G E FA 1+ 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas
9	G E FA 1+ 3	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Serratia
10	G E FA 1+ 4	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia
11	M E 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae	
12	M E 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Maggia	Legionellaceae	Legionella
13	M U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas
14	M U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas
15	M U FA 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Pasteurellaceae	Pasteurella
16	M U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae	Escherichia
17	M U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas
18	B E 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae	Yersina
19	B E 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Bignasco	Streptococcaceae	Lactococcus
20	B U FAo 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Aeromonadaceae	Aeromonas
21	B U FAo 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco		
22	B U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae	
23	B U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Staphylococcaceae	Staphylococcus
24	L U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae	
25	L U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo		
26	L I U 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae	
27	R U FAo 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi		
28	R E I 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersina
29	R E FA 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas
30	R E FA 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersina
61	R U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas
62	R U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Klebsiella
31	WWUZHA 7	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas
32	WWUZHA 10	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas
33	SAZH A1	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas
34	SAZH A4	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas
35	SBZHA 32	Acque Luride	Ospedale Italiano di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
36	C 4	Acque Luride	Ospedale Italiano di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
37	C 18	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
38	A 1	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
39	A 6	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
40	CDA 18	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas
41	Airolo Aer 15b	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas
42	Airolo Aer 8b	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas
43	Airolo Aer 3	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas
44	Airolo Aer 5	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas
45	Airolo Aer 14	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas
46	Bioggio Aer 2B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
47	Bioggio Aer 12B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
48	Bioggio Aer 33B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
49	Bioggio Aer 42B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
50	Bioggio Aer 50B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
51	Cadagno AER1	Acque di Superficie	Lago Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas
52	Cadagno AER7	Acque di Superficie	Lago Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas
53	Fiume Cad. AER10	Acque di Superficie	Fiumicello Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas
54	Fiume Cad. AER22	Acque di Superficie	Fiumicello Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas
55	Vedeggio AER3	Acque di Superficie	Fiume Vedeggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
56	Vedeggio AER8	Acque di Superficie	Fiume Vedeggio	Aeromonadaceae	Aeromonas
57	Figino AER12	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas
58	Figino AER21	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas
59	Barbengo AER8	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas
60	Barbengo AER16	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas

Su tutti i batteri ho eseguito l'antibiogramma (vedere punto 4.1.1. Antibiogramma). Ho eliminato 3 dei miei campioni, perché le colonie non si erano sviluppate. La tabella seguente mostra se i miei batteri sono resistenti, intermedi o sensibili a degli antibiotici (vedere tabella 4). In questa tabella mostro soltanto se essi sono resistenti o no a un dato antibiotico, invece in quelle che sono presenti nel punto delle considerazioni, mostro i diametri di resistenza misurati sulle diverse piastre.

Tabella 4: Resistenza dei batteri.

(R = Resistenza, S = Sensibilità, I =

Num	Nome	Isolato da	Origine	Batterio		AM	TE	SXT	CIP	AMC	PB
				Famiglia	Genere						
2	G U FA 1+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Providencia	R	R	S	S	I	R
3	G U FA 1+ 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	S
4	G U FA 1+ 4	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio			S	S	S	S	S	S
5	G U FA 0+ 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	S	S	S	S	S
6	G U FA 0+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Staphylococcaceae	Staphylococcus	S	S	S	S	S	R
7	G E FA 1+ 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia	S	S	S	S	I	S
8	G E FA 1+ 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	S	S	S	S	S
9	G E FA 1+ 3	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Serratia	R	R	S	S	R	R
10	G E FA 1+ 4	Acqua in Entratra	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia	R	S	S	S	R	S
11	M E 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae		R	S	S	S	I	R
12	M E 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Maggia	Legionellaceae	Legionella	S	S	S	S	S	S
13	M U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	R	R	S	S	S
14	M U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
15	M U FA 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Pasteurellaceae	Pasteurella	I	S	S	S	R	S
16	M U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae	Escherichia	S	S	S	S	S	S
17	M U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	S	S	S	S	S
18	B E 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae	Yersina	S	S	S	S	S	S
19	B E 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Bignasco	Streptococcaceae	Lactococcus	S	S	S	R	S	R
20	B U FAo 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	S	S	S	S	S
21	B U FAo 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco			S	S	S	S	S	S
22	B U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae		R	S	S	S	S	S
23	B U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Staphylococcaceae	Staphylococcus	R	S	S	S	S	R
24	L U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae		R	R	S	S	S	S
26	L I U 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae		R	S	S	S	S	R
28	R E I 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersina	S	S	S	S	S	R
29	R E FA 1	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas	S	S	S	S	S	S
30	R E FA 2	Acqua in Entratra	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersina	I	S	S	S	S	R
61	R U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
62	R U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Klebsiella	R	S	S	S	S	S
31	WWUZHA 7	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	I	S	R	S
32	WWUZHA 10	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	I	R	R	S
33	SAZH A1	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	R	S	R	S
34	SAZH A4	Acque Luride	Ospedale Universitario ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	R	I	I	R	S
35	SBZHA 32	Acque Luride	Ospedale Italiano di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	R	R	R	S
36	C 4	Acque Luride	Ospedale Italiano di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
37	C 18	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
38	A 1	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	R	R	R	R	S
39	A 6	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	R	R	R	R	S
40	CDA 18	Acque Luride	Ospedale Civico di Lugano	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	I	I	S
41	Airolo Aer 15b	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
42	Airolo Aer 8b	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
43	Airolo Aer 3	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	I	S	S	S	S
44	Airolo Aer 5	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
45	Airolo Aer 14	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Airolo	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
46	Bioggio Aer 2B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	R	R	R	S	S
47	Bioggio Aer 12B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
48	Bioggio Aer 33B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
49	Bioggio Aer 42B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
50	Bioggio Aer 50B	Fanghi Attivi	Stazione depurazione Bioggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	R	S
51	Cadagno AER1	Acque di Superficie	Lago Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	S
52	Cadagno AER7	Acque di Superficie	Lago Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
53	Fiume Cad. AER10	Acque di Superficie	Fiumicello Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	S
54	Fiume Cad. AER22	Acque di Superficie	Fiumicello Cadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
55	Veduggio AER3	Acque di Superficie	Fiume Veduggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S
56	Veduggio AER8	Acque di Superficie	Fiume Veduggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	I	S	S
57	Figino AER12	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	R
58	Figino AER21	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	S
59	Barbengo AER8	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	I	S
60	Barbengo AER16	Acque di Superficie	Lago Ceresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	R	S	S	S	S	S

4.5. Considerazioni

4.5.1. Acqua in Entrata e Acqua in Uscita

Tabella 5: Campioni provenienti da peschicoltura.

Num	Nome	Isolato da	Origine	Batterio		AM	TE	SXT	CIP	AMC	PB
				Famiglia	Genere						
2	G U FA 1+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Providencia	13 mm	6 mm	23 mm	31 mm	17 mm	6 mm
3	G U FA 1+ 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	29 mm	37 mm	15 mm	16 mm
4	G U FA 1+ 4	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio			31 mm	26 mm	24 mm	29 mm	30 mm	15 mm
5	G U FA 0+ 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	27 mm	38 mm	20 mm	17 mm
6	G U FA 0+ 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Gordevio	Staphylococcaceae	Staphylococcus	49 mm	39 mm	34 mm	35 mm	48 mm	8 mm
7	G E FA 1+ 1	Acqua in Entrata	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia	24 mm	28 mm	36 mm	37 mm	17 mm	16 mm
8	G E FA 1+ 2	Acqua in Entrata	Pescicoltura Gordevio	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	33 mm	34 mm	38 mm	29 mm	18 mm
9	G E FA 1+ 3	Acqua in Entrata	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Serratia	6 mm	11 mm	27 mm	27 mm	6 mm	6 mm
10	G E FA 1+ 4	Acqua in Entrata	Pescicoltura Gordevio	Enterobacteriaceae	Hafnia	12 mm	19 mm	23 mm	32 mm	6 mm	16 mm
11	ME 1	Acqua in Entrata	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae		6 mm	25 mm	28 mm	28 mm	16 mm	6 mm
12	ME 2	Acqua in Entrata	Pescicoltura Maggia	Legionellaceae	Legionella	32 mm	31 mm	26 mm	30 mm	36 mm	15 mm
13	M U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	21 mm	8 mm	6 mm	27 mm	20 mm	12 mm
14	M U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	27 mm	33 mm	20 mm	17 mm
15	M U FA 3	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Pasteurellaceae	Pasteurella	16 mm	28 mm	32 mm	35 mm	9 mm	20 mm
16	M U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Enterobacteriaceae	Escherichia	17 mm	24 mm	29 mm	30 mm	24 mm	17 mm
17	M U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Maggia	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	26 mm	36 mm	21 mm	17 mm
18	BE 1	Acqua in Entrata	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae	Yersinia	26 mm	20 mm	33 mm	33 mm	25 mm	18 mm
19	BE 2	Acqua in Entrata	Pescicoltura Bignasco	Streptococcaceae	Lactococcus	25 mm	26 mm	22 mm	10 mm	23 mm	10 mm
20	B U FAo 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Aeromonadaceae	Aeromonas	23 mm	29 mm	29 mm	30 mm	24 mm	14 mm
21	B U FAo 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco			22 mm	26 mm	31 mm	26 mm	20 mm	17 mm
22	B U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Enterobacteriaceae		8 mm	24 mm	33 mm	29 mm	20 mm	18 mm
23	B U FA 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Bignasco	Staphylococcaceae	Staphylococcus	22 mm	32 mm	32 mm	26 mm	28 mm	8 mm
24	L U FA 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae		6 mm	6 mm	30 mm	31 mm	24 mm	16 mm
26	L I U 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Lavorgo	Enterobacteriaceae		6 mm	21 mm	31 mm	25 mm	20 mm	6 mm
28	REI 1	Acqua in Entrata	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersinia	18 mm	28 mm	30 mm	31 mm	18 mm	6 mm
29	REFA 1	Acqua in Entrata	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas	20 mm	28 mm	27 mm	33 mm	25 mm	17 mm
30	REFA 2	Acqua in Entrata	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Yersinia	16 mm	25 mm	28 mm	28 mm	22 mm	6 mm
61	R U I 1	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	30 mm	37 mm	21 mm	17 mm
62	R U I 2	Acqua in Uscita	Pescicoltura Rodi	Enterobacteriaceae	Klebsiella	13 mm	25 mm	31 mm	31 mm	26 mm	16 mm

Per vedere se tra l'acqua in entrata e l'acqua in uscita delle varie peschicoltura c'è una diversità a livello di resistenze ho utilizzato il programma di statistica RGui. Ho inserito nel programma la tabella precedente e ho eseguito il wilcox test per tutti i tipi di antibiotici.

Il risultato che mi è uscito è il p-value che è un fattore limite. Se il p-value < 0.05 allora l'Acqua in Entrata e l'Acqua in Uscita sono diverse.

I diversi p-value che ho ottenuto:

AM: p-value = 0.39

TE: p-value = 0.804

SXT: p-value = 0.7

CIP: p-value = 0.86

AMC: p-value = 0.72

PB: p-value = 0.34

Il risultato è che per nessun antibiotico c'è una differenza tra l'Acqua in Entrata e l'Acqua in Uscita.

Da questo risultato si possono trarre due conclusioni: la prima è che i batteri non fanno in tempo ad acquisire la resistenza ad un dato antibiotico e la seconda è che i batteri resistenti, ammesso che se ne formino, non rimangono all'uscita della piscicoltura ma scorrono via e quindi c'è sempre un ricambio di nuovi batteri sensibili.

Visto questo risultato, nei seguenti casi non utilizzo più come differenziazione Acqua in Entrata e Acqua in Uscita ma le riunisco sotto Piscicoltura.

4.5.2. Differenza di resistenza per lo stesso antibiotico tra le diverse famiglie di batteri

Tabella 6: Elenco dei diversi campioni (1).

Num	Nome	Iso	Origine	Batterio		AM	TE	SXT	CIP	AMC	PB
				Famiglia	Genere						
2	G UFA1+ 2	P (Pescicoltura)	G (Gorduno)	Enterobacteriaceae	Providencia	13 mm	6 mm	23 mm	31 mm	17 mm	6 mm
3	G UFA1+ 3	P	G	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	29 mm	37 mm	15 mm	16 mm
4	G UFA1+ 4	P	G			31 mm	26 mm	24 mm	29 mm	30 mm	15 mm
5	G UFA0+ 1	P	G	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	27 mm	38 mm	20 mm	17 mm
6	G UFA0+ 2	P	G	Staphylococcaceae	Staphylococcus	49 mm	39 mm	34 mm	35 mm	48 mm	8 mm
7	G EFA1+ 1	P	G	Enterobacteriaceae	Hafnia	24 mm	28 mm	36 mm	37 mm	17 mm	16 mm
8	G EFA1+ 2	P	G	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	33 mm	34 mm	38 mm	29 mm	18 mm
9	G EFA1+ 3	P	G	Enterobacteriaceae	Serratia	6 mm	11 mm	27 mm	27 mm	6 mm	6 mm
10	G EFA1+ 4	P	G	Enterobacteriaceae	Hafnia	12 mm	19 mm	23 mm	32 mm	6 mm	16 mm
11	M E 1	P	M (Maggia)	Enterobacteriaceae		6 mm	25 mm	28 mm	28 mm	16 mm	6 mm
12	M E 2	P	M	Legionellaceae	Legionella	32 mm	31 mm	26 mm	30 mm	36 mm	15 mm
13	M UFA 1	P	M	Aeromonadaceae	Aeromonas	21 mm	8 mm	6 mm	27 mm	20 mm	12 mm
14	M UFA 2	P	M	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	27 mm	33 mm	20 mm	17 mm
15	M UFA 3	P	M	Pasteurellaceae	Pasteurella	16 mm	28 mm	32 mm	35 mm	9 mm	20 mm
16	M U I 1	P	M	Enterobacteriaceae	Escherichia	17 mm	24 mm	29 mm	30 mm	24 mm	17 mm
17	M U I 2	P	M	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	26 mm	36 mm	21 mm	17 mm
18	B E 1	P	B (Bignasco)	Enterobacteriaceae	Yersina	26 mm	20 mm	33 mm	33 mm	25 mm	18 mm
19	B E 2	P	B	Streptococcaceae	Lactococcus	25 mm	26 mm	22 mm	10 mm	23 mm	10 mm
20	B UFAo 1	P	B	Aeromonadaceae	Aeromonas	23 mm	29 mm	29 mm	30 mm	24 mm	14 mm
21	B UFAo 2	P	B			22 mm	26 mm	31 mm	26 mm	20 mm	17 mm
22	B UFA 1	P	B	Enterobacteriaceae		8 mm	24 mm	33 mm	29 mm	20 mm	18 mm
23	B UFA 2	P	B	Staphylococcaceae	Staphylococcus	22 mm	32 mm	32 mm	26 mm	28 mm	8 mm
24	L UFA 1	P	L (Lavorgo)	Enterobacteriaceae		6 mm	6 mm	30 mm	31 mm	24 mm	16 mm
26	L I U 1	P	L	Enterobacteriaceae		6 mm	21 mm	31 mm	25 mm	20 mm	6 mm
28	R E I 1	P	R (Rodi)	Enterobacteriaceae	Yersina	18 mm	28 mm	30 mm	31 mm	18 mm	6 mm
29	R EFA 1	P	R	Aeromonadaceae	Aeromonas	20 mm	28 mm	27 mm	33 mm	25 mm	17 mm
30	R EFA 2	P	R	Enterobacteriaceae	Yersina	16 mm	25 mm	28 mm	28 mm	22 mm	6 mm
61	R U I 1	P	R	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	30 mm	37 mm	21 mm	17 mm
62	R U I 2	P	R	Enterobacteriaceae	Klebsiella	13 mm	25 mm	31 mm	31 mm	26 mm	16 mm

Tabella 7: Elenco dei diversi campioni (2).

Num	Nome	Isolato da	Origine	Batterio		AM	TE	SXT	CIP	AMC	PB
				Famiglia	Genere						
31	WWUZA 7	L (Acque luride)	ZH (Ospedale Universitario ZH)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	26 mm	13 mm	22 mm	9 mm	17 mm
32	WWUZA 10	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	25 mm	13 mm	8 mm	11 mm	17 mm
33	SAZH A1	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	6 mm	23 mm	12 mm	16 mm
34	SAZH A4	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	14 mm	19 mm	8 mm	18 mm
35	SBZHA 32	L	OIL (Ospedale Italiano Lugano)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	22 mm	6 mm	11 mm	11 mm	15 mm
36	C 4	L	OIL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	20 mm	16 mm	29 mm	10 mm	12 mm
37	C 18	L	OCL (Ospedale Civico Lugano)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	20 mm	20 mm	27 mm	12 mm	18 mm
38	A 1	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	13 mm	17 mm
39	A 6	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	13 mm	16 mm
40	CDA 18	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	9 mm	24 mm	27 mm	16 mm	16 mm	16 mm
41	Airola Aer 15b	SD (Sistema di Depurazione)	AI (Impianto depurazione Airola)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	32 mm	35 mm	18 mm	17 mm
42	Airola Aer 8b	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	28 mm	34 mm	19 mm	17 mm
43	Airola Aer 3	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	13 mm	26 mm	23 mm	19 mm	17 mm
44	Airola Aer 5	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	34 mm	42 mm	24 mm	17 mm
45	Airola Aer 14	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	26 mm	28 mm	18 mm	19 mm
46	Bioggio Aer 2B	SD	BI (Impianto depurazione Bioggio)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	20 mm	18 mm
47	Bioggio Aer 12B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	28 mm	38 mm	11 mm	14 mm
48	Bioggio Aer 33B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	30 mm	23 mm	9 mm	17 mm
49	Bioggio Aer 42B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	33 mm	33 mm	8 mm	17 mm
50	Bioggio Aer 50B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	31 mm	24 mm	11 mm	16 mm
51	Cadagno AER1	FL (Acque di Superficie)	LagoCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	31 mm	31 mm	45 mm	16 mm	16 mm
52	Cadagno AER7	FL	LagoCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	28 mm	33 mm	18 mm	17 mm
53	Fiume Cad. AER10	FL	FiumicelloCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	29 mm	32 mm	17 mm	16 mm
54	Fiume Cad. AER22	FL	FiumicelloCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	30 mm	32 mm	24 mm	16 mm
55	Vedeggio AER3	FL	FiumeVedeggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	31 mm	31 mm	42 mm	22 mm	16 mm
56	Vedeggio AER8	FL	FiumeVedeggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	26 mm	20 mm	18 mm	15 mm
57	Figino AER12	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	27 mm	27 mm	31 mm	17 mm	10 mm
58	Figino AER21	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	26 mm	37 mm	15 mm	15 mm
59	Barbengo AER8	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	27 mm	27 mm	15 mm	17 mm
60	Barbengo AER16	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	29 mm	33 mm	19 mm	16 mm

In questo punto vorrei dimostrare che non c'è differenza di resistenza per lo stesso antibiotico, tra le diverse famiglie di batteri ho utilizzato il programma di statistica RGui. Ho inserito nel programma le tabelle precedenti (Tabelle 6 e 7).

Ho eseguito il kruskal test per tutti i tipi di antibiotici.

Il risultato che mi è uscito è il p-value che è un fattore limite. Se il p-value < 0.05 allora le famiglie hanno una diversa resistenza per lo stesso antibiotico.

I diversi p-value che mi sono usciti erano:

AM: p-value = 0.001

TE: p-value = 0.006

SXT: p-value = 0.03

CIP: p-value = 0.49 → Non c'è differenza di resistenza tra le diverse famiglie

AMC: p-value = 0.04

PB: p-value = 0.02

Per la Ciprofloxacina non c'è differenza di diametro tra le varie famiglie, come si vede dall'immagine qui sotto (Figura 15). Dall'immagine si può notare che il diametro della resistenza delle varie famiglie è circa allo stesso livello. La striscia nera più grossa è la

media dei diametri dei diversi batteri della stessa famiglia. Il diametro degli Streptococcaceae è molto basso rispetto alla media delle altre famiglie, ma non lo si considera perché è soltanto un campione su un totale di 59. Sotto la linea orizzontale presente nel grafico, un dato batterico è resistente alla Ciprofloxacina altrimenti se è nella parte superiore alla linea, il batterio è sensibile.

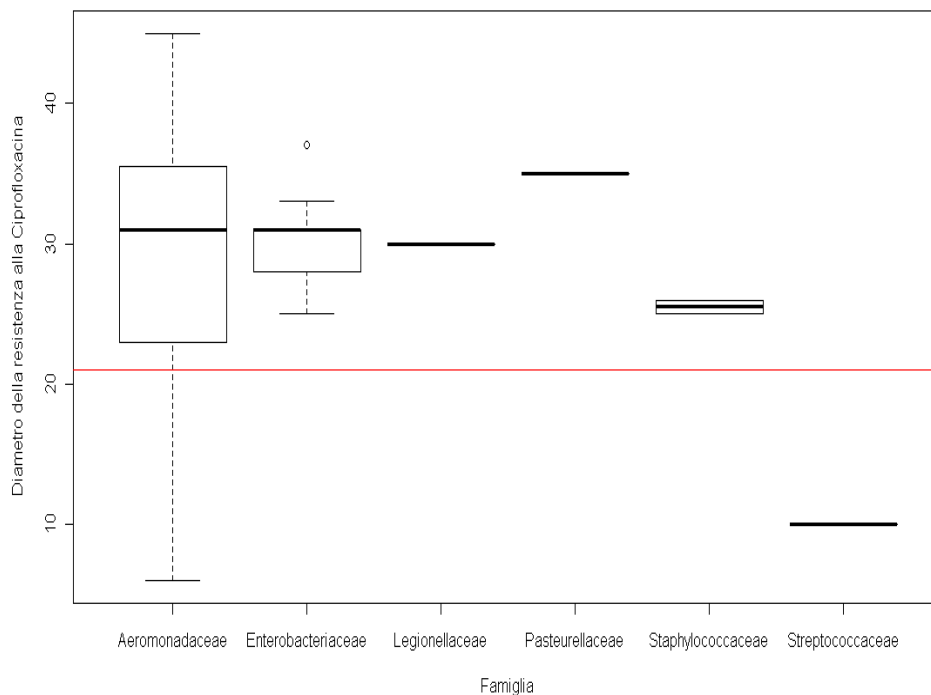
Questa linea apparirà anche in tutti i grafici seguenti e avrà lo stesso significato.

Per la Ciprofloxacina quindi, analizzerò i dati con tutte le famiglie di batteri assieme e come mostro nel punto seguente ottengo che il diametro della resistenza dipende dalla provenienza (Origine) e dal tipo di acqua (Iso).

Per tutti gli altri antibiotici invece c'è una differenza di resistenza allo stesso antibiotico tra le famiglie di batteri. Quindi, il diametro della resistenza dipende dalla famiglia, dalla provenienza (Origine) e dal tipo di acqua (Iso).

Quindi, per l'analisi dei dati utilizzerò soltanto i campioni che appartengono alla famiglia degli Aeromonadaceae e alla specie degli Aeromonas. Ho scelto questa specie, perché è quella presente in più campioni.

Figura 15: Diametro della resistenza alla Ciprofloxacina



4.5.3. Risultati con tutte le famiglie per la Ciprofloxacina

Per queste considerazioni ho utilizzato il programma di statistica e le stesse tabelle utilizzate precedentemente (Tabelle 6 e 7) per dimostrare che non c'è differenza di resistenza per lo stesso antibiotico tra le diverse famiglie di batteri.

Grazie al grafico seguente (Figura 16) si possono fare alcune considerazioni a proposito della resistenza alla ciprofloxacina nei diversi tipi di acque.

Nelle acque luride da ospedale i batteri sono resistenti alla ciprofloxacina mentre nelle altre acque i batteri sono sensibili e la media di questi diametri sono circa uguali. Per quanto riguarda i batteri provenienti dalle piscicoltura si può notare che sono più simili ai batteri provenienti dalle acque di fiumi e laghi e provenienti dai sistemi di

Figura 16: Diametro della resistenza alla Ciprofloxacina (Tipo di Acqua)
(FL = Fiumi e Laghi; L = Acque Luride; P = Piscicoltura; SD = Sistema di Depurazione)

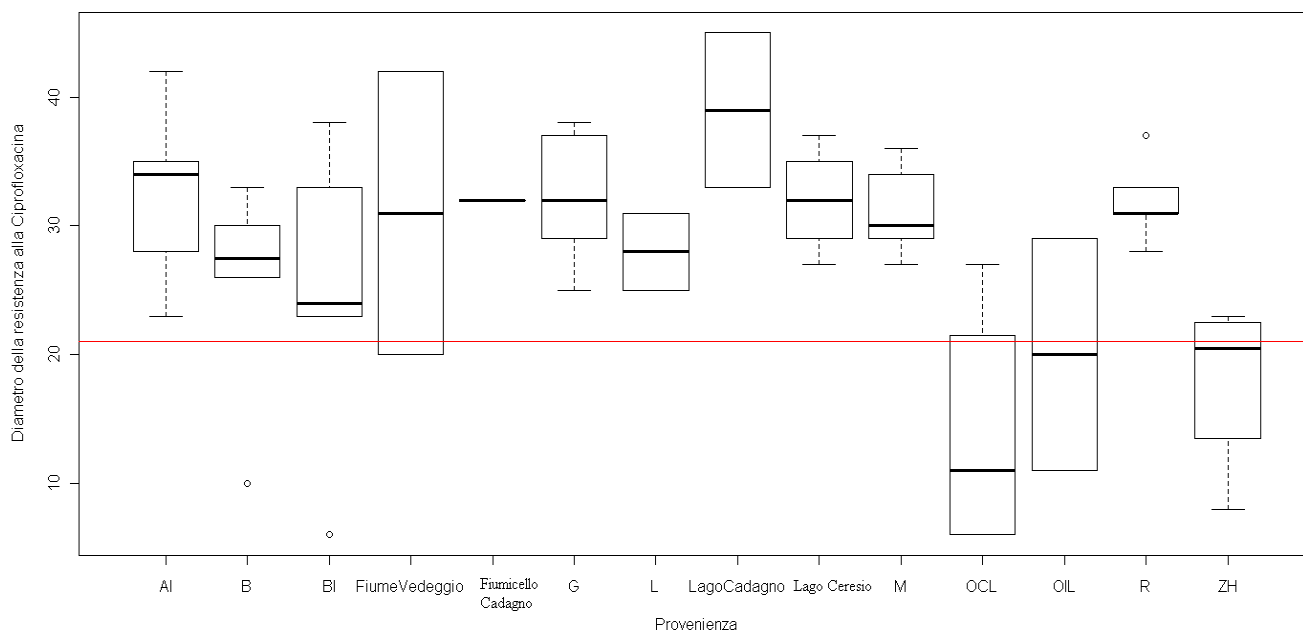
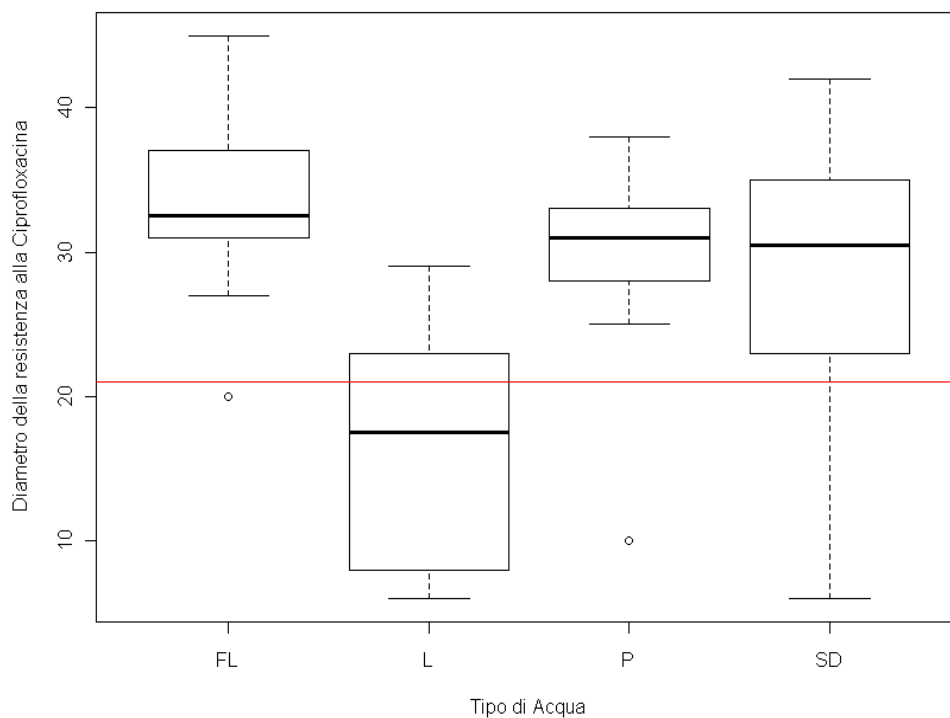


Figura 17: Diametro della resistenza alla Ciprofloxacina (Provenienza)

depurazione.

Per quanto riguarda la provenienza di questi batteri si può notare che nella maggior parte dei luoghi i batteri sono sensibili alla ciprofloxacina. I batteri provenienti dal Lago Cadagno sono i più sensibili mentre i batteri provenienti dall'Ospedale Civico di Lugano sono i più resistenti. I batteri che provengono dagli ospedali sono gli unici resistenti alla ciprofloxacina.

Per quanto riguarda i batteri che vengono dalle diverse piscicoltura, si può notare che hanno dei diametri di resistenza simili e sono simili ai batteri che provengono da fiumi e laghi.

4.5.4. Risultati solo con gli *Aeromonas*

Per le prossime considerazioni ho utilizzato anche in questo caso il programma di statistica RGui. Poiché avevo bisogno solo i batteri della stessa specie, ho inserito una nuova tabella che ho riportato qui sotto (Tabella 8).

Tabella 8: *Aeromonas*

Num	Nome	Iso	Origine	Batterio		AM	TE	SXT	CIP	AMC	PB
				Famiglia	Genere						
3	GUFA1+3	P	G (Gorduno)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	29 mm	37 mm	15 mm	16 mm
5	GUFA0+1	P	G	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	27 mm	38 mm	20 mm	17 mm
8	GEFA1+2	P	G	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	33 mm	34 mm	38 mm	29 mm	18 mm
13	MUFA1	P	M (Maggia)	Aeromonadaceae	Aeromonas	21 mm	8 mm	6 mm	27 mm	20 mm	12 mm
14	MUFA2	P	M	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	27 mm	33 mm	20 mm	17 mm
17	MUI2	P	M	Aeromonadaceae	Aeromonas	18 mm	30 mm	26 mm	36 mm	21 mm	17 mm
20	BUFAo1	P	B (Bignasco)	Aeromonadaceae	Aeromonas	23 mm	29 mm	29 mm	30 mm	24 mm	14 mm
29	REFA1	P	R (Rodi)	Aeromonadaceae	Aeromonas	20 mm	28 mm	27 mm	33 mm	25 mm	17 mm
61	RUI1	P	R	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	30 mm	37 mm	21 mm	17 mm
31	WWUZA7	L (Acque luride)	ZH (Ospedale Universitario ZH)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	26 mm	13 mm	22 mm	9 mm	17 mm
32	WWUZA10	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	25 mm	13 mm	8 mm	11 mm	17 mm
33	SAZH A1	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	6 mm	23 mm	12 mm	16 mm
34	SAZH A4	L	ZH	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	14 mm	19 mm	8 mm	18 mm
35	SBZHA 32	L	OIL (Ospedale Italiano Lugano)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	22 mm	6 mm	11 mm	11 mm	15 mm
36	C4	L	OIL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	20 mm	16 mm	29 mm	10 mm	12 mm
37	C18	L	OCL (Ospedale Civico Lugano)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	20 mm	20 mm	27 mm	12 mm	18 mm
38	A1	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	13 mm	17 mm
39	A6	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	13 mm	16 mm
40	CDA 18	L	OCL	Aeromonadaceae	Aeromonas	9 mm	24 mm	27 mm	16 mm	16 mm	16 mm
41	Airolo Aer 15b	SD (Sistema di Depurazione)	AI (Impianto depurazione Airolo)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	32 mm	35 mm	18 mm	17 mm
42	Airolo Aer 8b	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	28 mm	34 mm	19 mm	17 mm
43	Airolo Aer 3	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	13 mm	26 mm	23 mm	19 mm	17 mm
44	Airolo Aer 5	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	34 mm	42 mm	24 mm	17 mm
45	Airolo Aer 14	SD	AI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	32 mm	26 mm	28 mm	18 mm	19 mm
46	Bioggio Aer 2B	SD	BI (Impianto depurazione Bioggio)	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm	20 mm	18 mm
47	Bioggio Aer 12B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	28 mm	38 mm	11 mm	14 mm
48	Bioggio Aer 33B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	30 mm	23 mm	9 mm	17 mm
49	Bioggio Aer 42B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	33 mm	33 mm	8 mm	17 mm
50	Bioggio Aer 50B	SD	BI	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	31 mm	24 mm	11 mm	16 mm
51	Cadagno AER1	FL (Acque di Superficie)	LagoCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	31 mm	31 mm	45 mm	16 mm	16 mm
52	Cadagno AER7	FL	LagoCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	28 mm	33 mm	18 mm	17 mm
53	Fiume Cad. AER10	FL	FiumicelloCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	29 mm	32 mm	17 mm	16 mm
54	Fiume Cad. AER22	FL	FiumicelloCadagno	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	30 mm	30 mm	32 mm	24 mm	16 mm
55	Veduggio AER3	FL	FiumeVeduggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	31 mm	31 mm	42 mm	22 mm	16 mm
56	Veduggio AER8	FL	FiumeVeduggio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	26 mm	20 mm	18 mm	15 mm
57	Figino AER12	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	27 mm	27 mm	31 mm	17 mm	10 mm
58	Figino AER21	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	29 mm	26 mm	37 mm	15 mm	15 mm
59	Barbengo AER8	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	27 mm	27 mm	15 mm	17 mm
60	Barbengo AER16	FL	LagoCeresio	Aeromonadaceae	Aeromonas	6 mm	28 mm	29 mm	33 mm	19 mm	16 mm

4.5.4.1. Ampicillina

Grazie a questo grafico (Figura 18) si può notare che i campioni prelevati dalle acque di fiumi e laghi, dalle acque luride e dalle acque degli impianti di depurazione sono molto resistenti all'ampicillina. I batteri provenienti dalle acque di piscicoltura invece sono leggermente sensibili all'ampicillina.

Figura 18: Diametro della resistenza all'Ampicillina (Tipo di

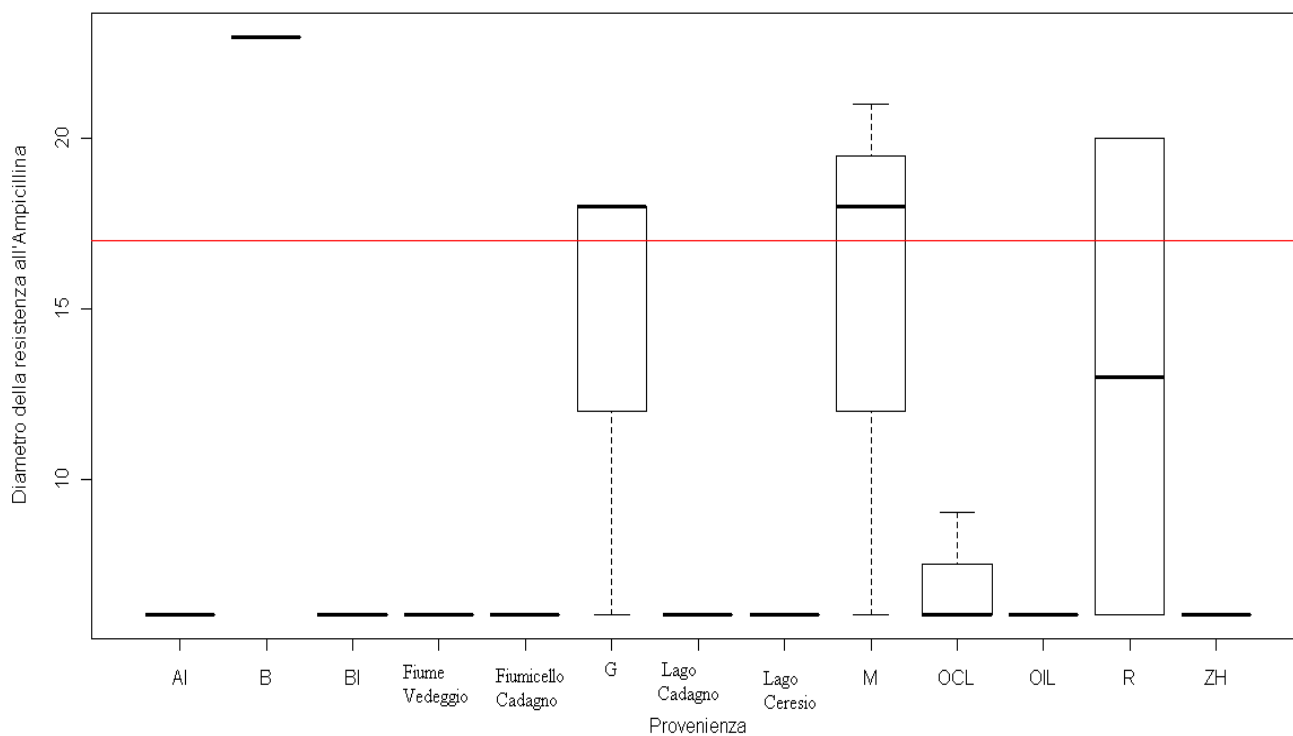
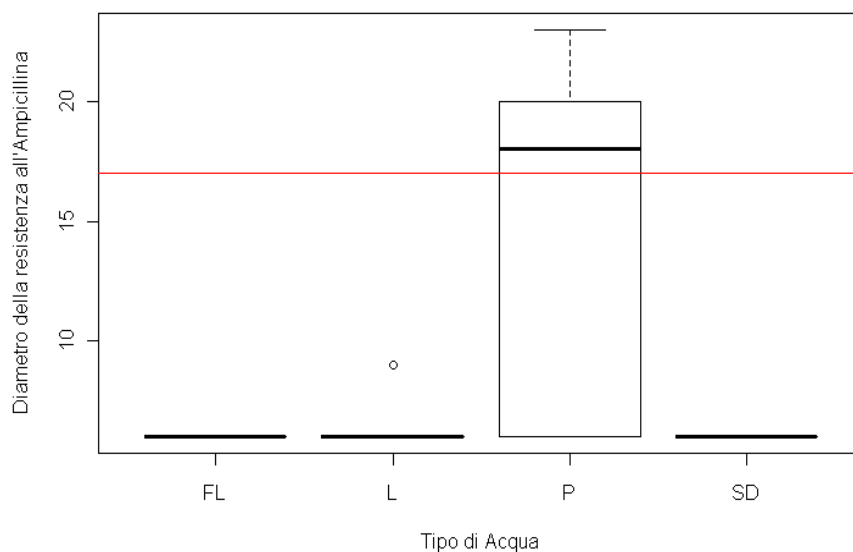


Figura 19: Diametro della resistenza all'Ampicillina (Provenienza)

Come già visto nel grafico precedente, tutti i prelievi non provenienti da acque di piscicoltura sono estremamente resistenti all'ampicillina (Figura 19). Per le acque di piscicoltura, si può notare che i batteri provenienti dalla piscicoltura di Bignasco sono i più sensibili mentre i campioni provenienti dalla piscicoltura di Rodi sono resistenti all'ampicillina. I batteri delle piscicoltura di Gorduno e Maggia sono leggermente sensibili all'ampicillina.

4.5.4.2. Tetraciclina

Da questo grafico (Figura 20) si può notare che i batteri sono sensibili alla tetraciclina. Come visto in precedenza i batteri con il diametro di resistenza minore sono quelli provenienti dalle acque luride degli ospedali. I batteri provenienti dalle peschicoltura sono simili a quelli provenienti dalle acque di fiumi e laghi e dalle acque degli impianti di depurazione per quanto riguarda alla sensibilità alla tetraciclina.

Figura 20: Diametro della resistenza alla Tetraciclina (Tipo di Acqua)

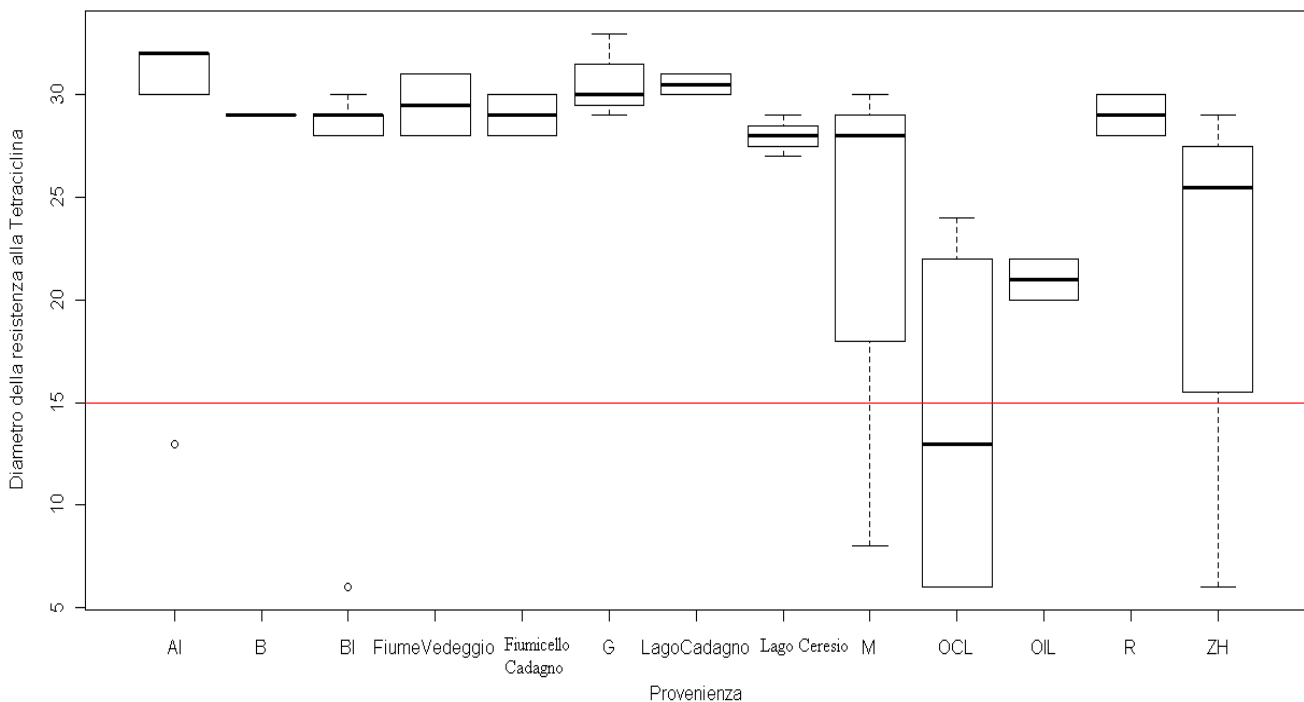
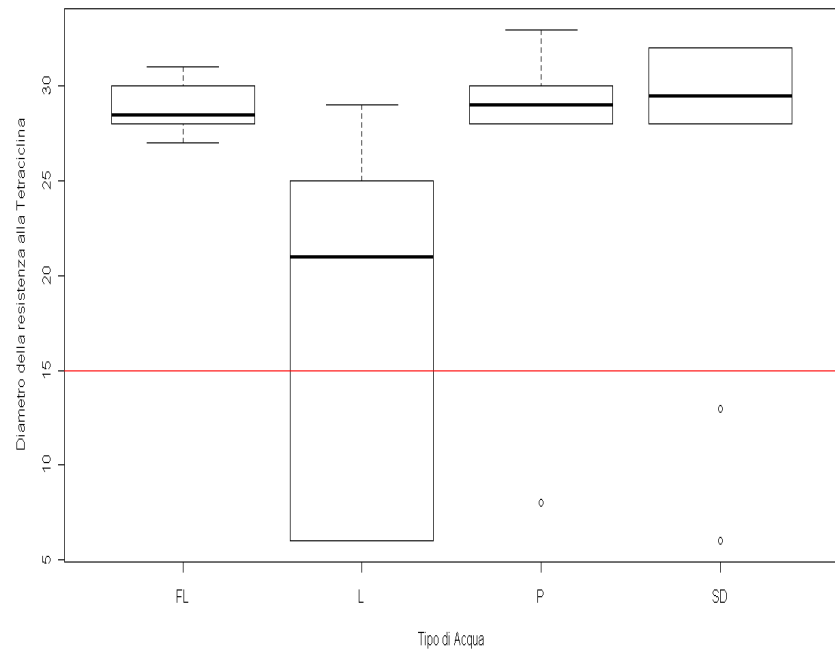


Figura 21: Diametro alla resistenza alla Tetraciclina (Provenienza)

Per quanto riguarda la provenienza (Figura 21) si può notare che gli unici batteri resistenti alla tetraciclina sono quelli provenienti dall'acqua dell'Ospedale Civico di Lugano.

I batteri provenienti dalle diverse peschicoltura sono molto sensibili alla tetraciclina così come quelli provenienti dalle acque di fiumi e laghi e dalle acque dei sistemi di depurazione.

4.5.4.3. Bactrim

Come già per gli antibiotici visti in precedenza i batteri provenienti dalle acque luride sono i più resistenti e in questo caso, sono anche gli unici (Figura 22). I batteri provenienti dalle peschicoltura sono molto sensibili al bactrim come pure per i batteri provenienti dalle acque degli impianti di depurazione e dalle acque di fiumi e laghi.

Figura 22: Diametro della resistenza al Bactrim (Tipo di Acqua)

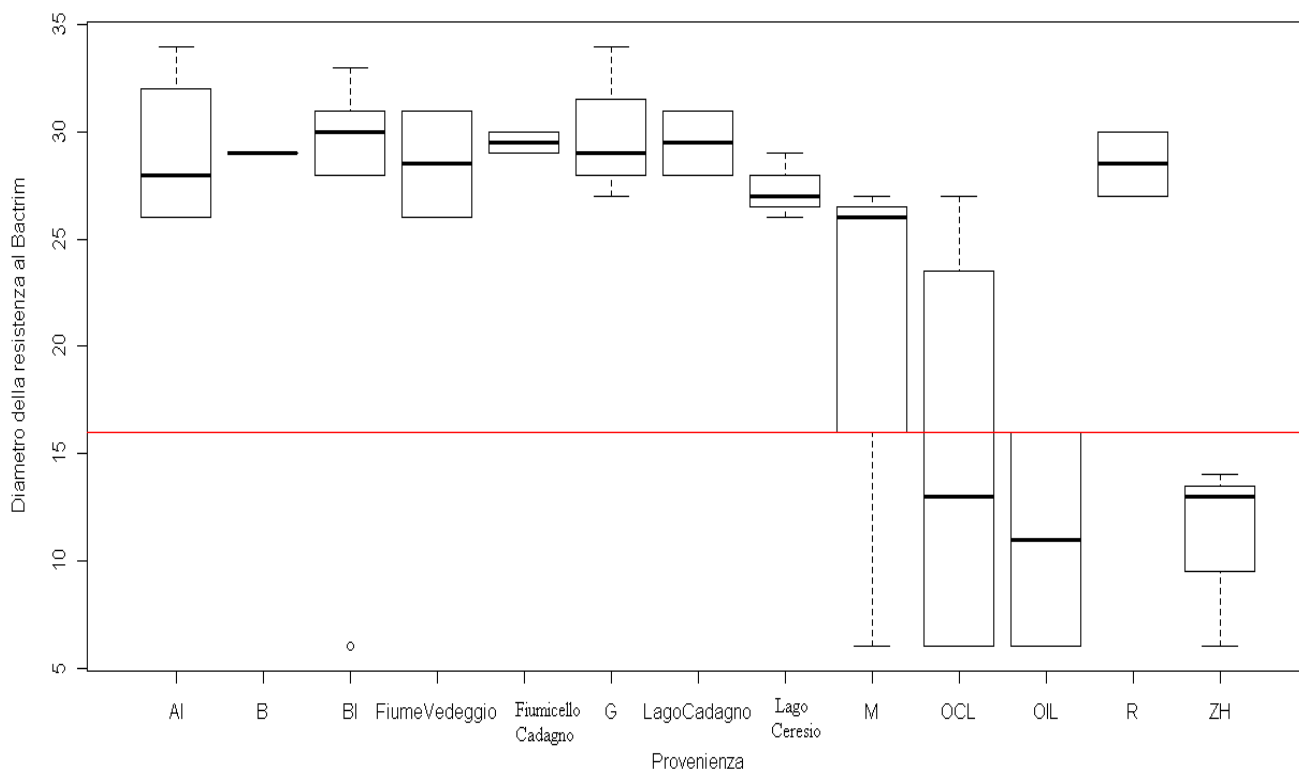
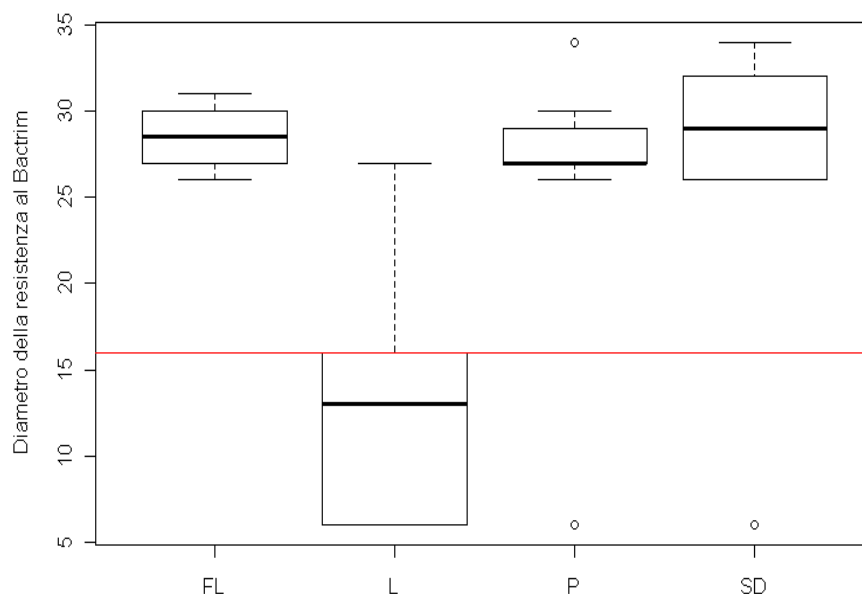


Figura 23: Diametro della resistenza al Bactrim (Provenienza)

Come già visto nel grafico precedente, le acque provenienti dagli ospedali sono le più resistenti (Figura 23). Si può notare come i batteri provenienti dalla peschicoltura di Maggia sono meno sensibili al bactrim che quelli provenienti dalle altre peschicoltura. Per quanto riguarda i batteri provenienti dalle acque delle altre peschicoltura, dai sistemi di depurazione e dai fiumi e laghi, si può notare che sono tutti molto sensibili.

4.5.4.4. Augmentin

Per quanto riguarda l'augmentin, si possono notare delle differenze dagli altri antibiotici visti in precedenza (Figura 24). Anche in questo caso i campioni delle acque luride sono i più resistenti. I batteri delle acque di piscicoltura sono gli unici sensibili all'augmentin. I batteri delle acque degli impianti di depurazione sono sulla linea della resistenza mentre i batteri delle acque di fiumi e laghi sono leggermente resistenti all'augmentin. In questo caso si può notare che i campioni delle

Figura 24: Diametro alla resistenza all'Augmentin (Tipo di Acqua)

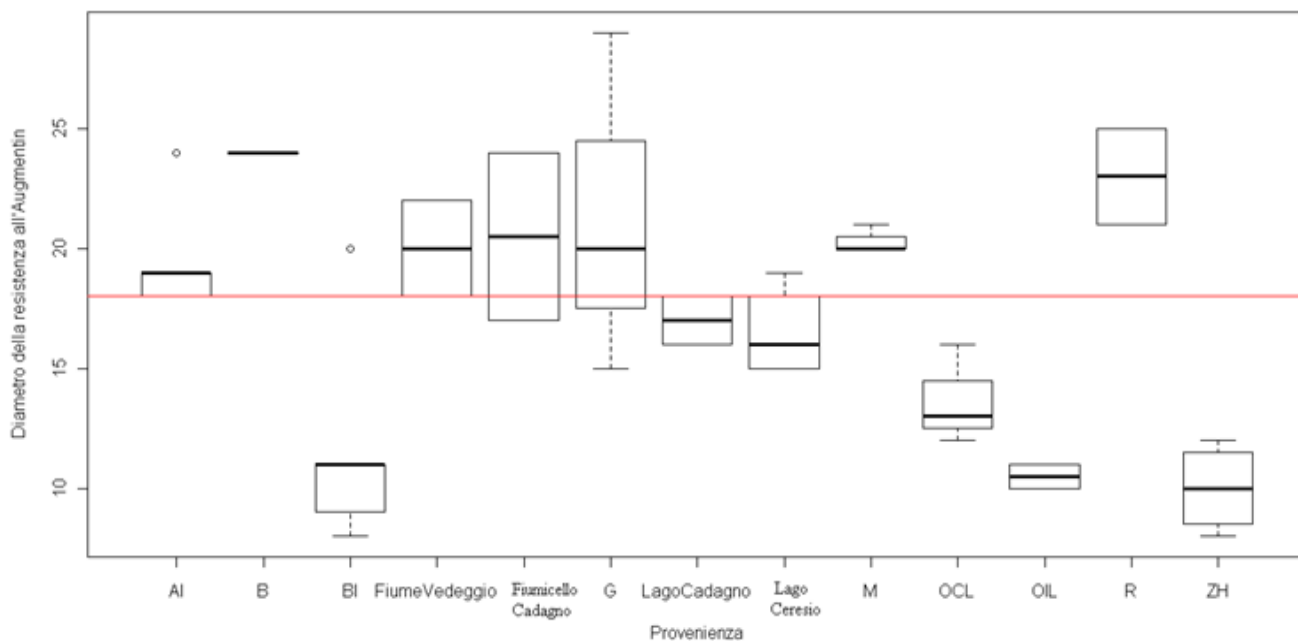
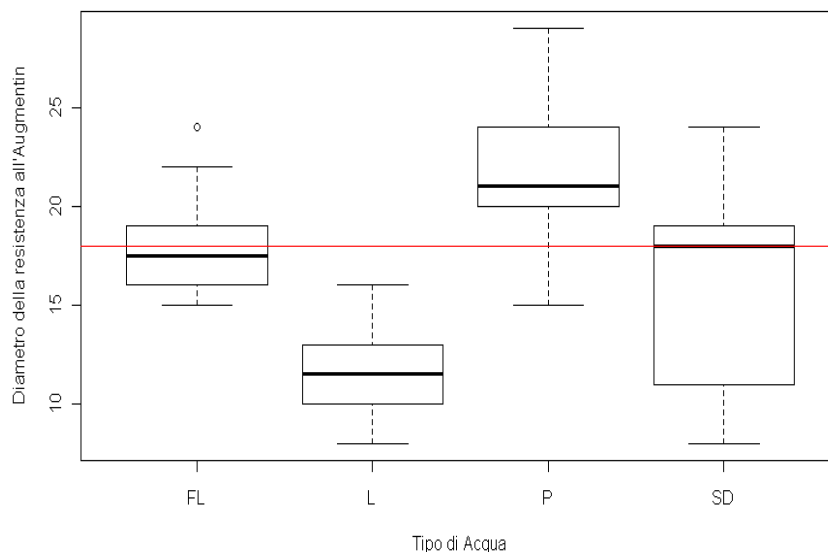


Figura 25: Diametro della resistenza all'Augmentin (Provenienza)

acque di piscicoltura non sono simili a delle altre come si è visto in precedenza per altri antibiotici.

Da questo grafico (Figura 25) si può notare che ci sono dei risultati molto diversi anche tra tipi di acque uguali. Si può vedere che tra i batteri delle piscicoltura, quelli di Bignasco sono i più sensibili, mentre i batteri delle altre tre piscicoltura hanno un diametro di resistenza circa simile. I batteri dell'impianto di depurazione di Airolo sono leggermente sensibili all'augmentin mentre quelli dell'impianto di depurazione di Bioggio sono molto resistenti. I batteri delle acque di lago sono resistenti mentre quello

provenienti dalle acque di fiume sono sensibili. Per quanto riguarda i batteri delle acque di ospedale sono tutti resistenti.

4.5.4.5. Polimixina

Per la polimixina si può notare che tutti i batteri sono molto sensibili e non c'è grande differenza di diametro tra i vari tipi di acqua (Figura 26). C'è da notare che, in questo caso, i batteri delle acque di fiumi e laghi sono i meno sensibili mentre per tutti gli altri antibiotici i meno sensibili erano quelli provenienti dalle acque luride.

Figura 26: Diametro della resistenza alla Polimixina (Tipo di Acqua)

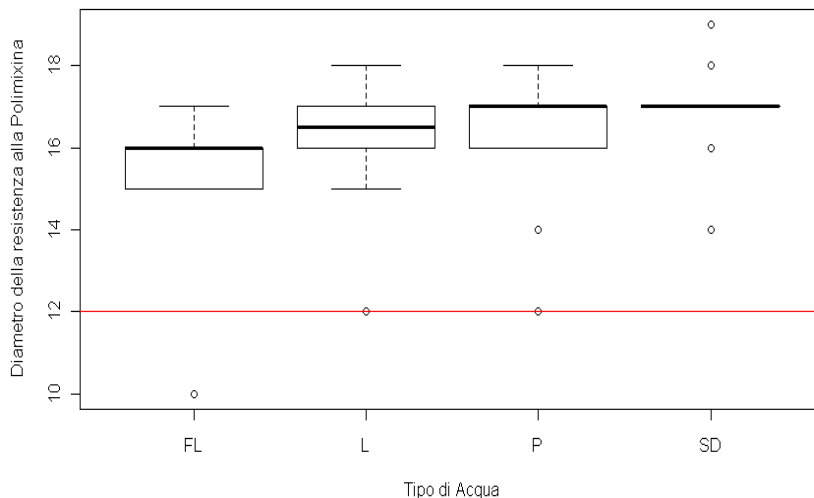


Figura 27: Diametro della resistenza alla Polimixina (Provenienza)

Dalla figura 27 si può notare come i batteri provenienti dall'acqua dell'Ospedale Italiano di Lugano sono i meno sensibili come lo sono anche i batteri provenienti dall'impianto di depurazione di Bioggio. Gli altri batteri hanno circa lo stesso diametro di resistenza.

4.6. Conclusione parte sperimentale

Come prima cosa si è constatato, che per nessun antibiotico, c'è una differenza tra l'Acqua in Entrata e l'Acqua in Uscita delle peschicoltura.

Da questo risultato ho tratto due conclusioni; la prima è che i batteri non fanno in tempo ad acquisire la resistenza ad un dato antibiotico e la seconda è che i batteri resistenti, ammesso che se ne formino, non rimangono all'uscita della peschicoltura ma scorrono via e quindi c'è sempre un ricambio di nuovi batteri sensibili.

Come seconda cosa si è constatato che le acque provenienti da peschicoltura sono più simili a quelle provenienti da fiumi e laghi e alle acque provenienti dagli impianti di depurazione. Le acque luride provenienti dagli ospedali hanno i batteri più resistenti e molto spesso non sono per niente simili agli altri tre tipi di acque.

Conclusione

Per quanto riguarda questo tema ci sono ancora molte domande; soltanto una piccola proporzione di farmaci in uso oggi è stata investigata finora e c'è un bisogno di capire come e in che gravità le altre sostanze e le miscele di residui farmaceutici inquinano l'ambiente.

Attualmente si promuovono studi per comprendere maggiormente le cause di quest'inquinamento e come poterlo ridurre.

Si sono già stati attuati o creati nuovi interventi per ridurre quest'inquinamento; alcuni esempi sono la nascita di una farmaceutica più ecocompatibile o come le linee-guida dell'EMEA.

In generale sono soddisfatta del mio lavoro, sia della parte teorica che di quella sperimentale. Ho imparato molte cose nuove, per esempio come si svolge il lavoro in un laboratorio, e come si fa a redigere un lavoro di questa importanza.

Per finire ringrazio il direttore dell'Istituto Cantonale di Microbiologia Petrini Orlando, Demarta Antonella, Caminada Anna Paola e Strepparava Nicole. Inoltre ringrazio anche i professori e i miei compagni di gruppo che mi hanno aiutato in questo cammino.

Bibliografia

Libri:

Ettore Zuccato, Sara Castiglioni, Roberto Fanelli, Renzo Bagnati, *Inquinamento da farmaci: le evidenze (parte 1)*, IRFMN Milano, Dipartimento Ambiente e Salute.

Ettore Zuccato, Sara Castiglioni, Roberto Fanelli, Renzo Bagnati, *Inquinamento ambientale da farmaci: la regolamentazione e gli interventi (parte 2)*, IRFMN Milano, Dipartimento Ambiente e Salute.

Piergiuseppe Calà, Studio sulla contaminazione ambientale delle acque causata dall'escrezione umana dei farmaci, Firenze University Press.

Barbara Pinto, Sonia Garritano, Daniela Reali, *L'ambiente marino, ecosistema a rischio da interferenti endocrini*, 15th Meeting of the Italian Society of Ecology, Torino 2005.

Paola Bottoni, Rosanna Fidente, *Un primo contributo alla problematica dei farmaci come contaminanti delle acque*, Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

Ettore Zuccato, Sara Castiglioni, Renzo Bagnati, Roberto Fanelli, *I farmaci: inquinanti ambientali ubiquitari*, Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri".

Alfred Goodman Gilman, Theodore W. Rall, Alan S. Nies, Palmer Taylor, *Le basi farmacologiche della terapia*, Zanichelli, Bologna, 1992 (8a edizione)

Siti internet:

Ormoni nell'acqua: Quali effetti sull'uomo e sugli animali?

<http://www.admin.ch/aktuelle/0089/index.html?lang=it&msg-id=2840>

(Dipartimento federale dell'ambiente, dei trasporti, dell'energia e delle comunicazioni).

Microinquinanti

<http://www.bafu.admin.ch/gewaesserschutz/03716/index.html?lang=it>

(Ufficio federale dell'ambiente UFAM).

<http://www.igiene2008.ch/info/in-svizzera>

Domande frequenti (FAQ) sugli inquinanti acquatici

<http://www.lenntech.com/italiano/FAQ-inquinanti-idrici.htm>

(Lenntech)

Progetto “Strategie MicroPoll”: Riduzione dei microinquinanti derivanti dallo smaltimento delle acque urbane

<http://www.bafu.admin.ch/gewaesserschutz/03716/03720/index.html?lang=it>

<http://www.barbiotech.it/LUCIDI/antibio.ppt>

« *Arzneimittel-Kompendium der Schweiz*[®] »

<http://www.kompendium.ch/Search.aspx?lang=de>

Cosa sono gli Endocrine Disruptors?

http://www.gradipo.net/?page_id=65

Farmaci globalizzati, conoscerne l'origine per salvare l'ambiente

<http://blog.panorama.it/hitechescienza/2009/02/13/farmaci-globalizzati-conoscerne-lorigine-per-salvare-lambiente/>

Non buttarli a caso (Articolo pubblicato su Test Salute 77, dicembre 2008)

http://www.altroconsumo.it/smaltire-i-farmaci-s232843/nm-newsletter-p250293/prm_id_c/3091.htm

http://www.sa.unina2.it/download/appunti/appunto_256/Effetti.pdf