



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

**EVOLUZIONE DELLA TOSSICITA' DEI MICRORGANISMI
MARINI NEGLI SCENARI DI SURRISCALDAMENTO DEL
MEDITERRANEO**

Dr.ssa Stefania Rossi

Tutor: Dr.ssa Luciana Sinisi

Co tutor: Dr.ssa Jessica Tuscano

Indice

1. Riscaldamento del mare: Temperature osservate e scenari futuri per il Mediterraneo.....	pag. 1
1.1 Cambiamenti Climatici Globali.....	pag. 1
1.2 Cambiamenti Climatici in Europa.....	pag. 7
1.2.1 Temperatura.....	pag. 7
1.2.2 Livello del mare.....	pag. 9
1.2.3 Precipitazioni.....	pag. 11
1.2.4 Eventi Estremi.....	pag. 12
1.3 Cambiamenti climatici e Mar Mediterraneo.....	pag. 14
2. Mutagenicità dei virus specie in rapporto alle variazioni ambientali.....	pag. 20
2.1. Proprietà dei virus.....	pag. 20
2.2. Fattori climatici e loro influenza sui virus.....	pag. 24
3. Variazione ecosistemica come co-fattore di induzione e mantenimento delle mutazioni virali.....	pag. 30
3.1 Impatti antropici e climatici sugli ecosistemi di costa del Mediterraneo.....	pag. 30
3.2 Malattie virali emergenti.....	pag. 32
3.2.1 Virus Emergenti.....	pag. 33
3.2.2 Zoonosi idrodifuse Emergenti.....	pag. 35
4. Epidemiologia delle infezioni virali di origine marina e vie d'esposizione: andamenti e nuovi rischi nel bacino del Mediterraneo.....	pag. 37
4.1 Malattie idrotrasmesse.....	pag. 37
4.2 Vie d'esposizione nel bacino del Mediterraneo.....	pag. 43
Conclusioni.....	pag. 57
Appendice.....	pag. 60
Gruppi di microrganismi patogeni per l'uomo associati alle acque di balneazione	
Bibliografia.....	pag. 70

CAPITOLO 1

Riscaldamento del mare: Temperature osservate e scenari futuri per il Mediterraneo

1.1 Cambiamenti Climatici Globali

Il clima della terra sta cambiando rapidamente, infatti durante gli ultimi 10-15 anni nella maggior parte del Globo Terrestre la temperatura è aumentata e si sono raggiunti valori mai registrati prima. Il ghiaccio del Mare Antartico sta scomparendo, ed il fenomeno dello scioglimento della calotta polare Artica è in netta accelerazione. Sale il livello dei mari e questi stanno diventando sempre più burrascosi, aumentando il rischio di mareggiate sulle aree di costa poco elevate, dove spesso sono presenti numerose e grandi città. Se da un lato le precipitazioni diventano sempre più variabili, con un incremento di piogge intense che portano ad inondazioni sempre più estese, dall'altro i fenomeni di siccità si stanno verificando con maggiore frequenza. Questi cambiamenti climatici, sia su scala globale che regionale, causano gravi impatti ambientali e socio-economici. Nei prossimi anni si potrebbe assistere alla scomparsa di ecosistemi fragili e vulnerabili e alla riduzione della biodiversità a causa della mutazione delle condizioni climatiche. Settori come l'agricoltura, la pesca, la silvicoltura ed anche il turismo potrebbero subire pesanti ripercussioni. Per quanto riguarda la salute umana potrebbero aumentare malori e morti associati al caldo, decessi, malattie e lesioni per inondazioni e incendi, disturbi cardio-respiratori a causa del crescente inquinamento atmosferico e le malattie allergiche. Potrebbero verificarsi cambiamenti nella frequenza e distribuzione delle malattie da vettore e un aumento delle malarie attribuibili all'uso di acqua e alimenti (Gonfalonieri et al., 2007).

Nel quarto rapporto dell'IPCC del 2007 sono contenute due frasi chiave, che riassumono brevemente ma in modo incisivo i segnali dell'attuale del Riscaldamento Climatico Globale e le cause che lo hanno determinato.

- Il riscaldamento del sistema climatico è inequivocabile, come è ora evidente dalle osservazioni dell'incremento delle temperature globali dell'aria e delle temperature degli oceani, dello scioglimento diffuso di neve e ghiaccio, e dell'innalzamento globale del livello del mare

- La maggior parte degli aumenti nella media delle temperature globali dalla metà del XX secolo, è molto probabilmente dovuta all'aumento osservato della concentrazione di gas ad effetto serra causato dall'attività umana.

L'aumento della temperatura è un fenomeno diffuso in tutto il globo, ma è maggiore alle elevate latitudini dell'emisfero settentrionale, ad esempio la temperatura media dell'Artico è raddoppiata rispetto alla temperatura media globale negli ultimi 100 anni. L'aumento totale della temperatura superficiale atmosferica dal 1906 al 2005 è stata di 0,74 °C (da 0.57 a 0.95 °C) e nell'arco degli ultimi dodici anni (1995-2006), undici sono stati tra i più caldi mai registrati dal 1850. In particolare il 1998 e il 2005 occupano il primo e secondo posto rispettivamente, ma se per il 1998 la temperatura è aumentata a causa di un evento meteorologico quale El Niño, per il 2005 non è stata registrata nessuna forte anomalia atmosferica (IPCC, 2007a). Si prevede che la temperatura possa aumentare di da 1,8 a 4,0 °C in questo secolo, ma alcuni studi suggeriscono che il range potrebbe essere più ampio da 1,1 a 6,4 °C. Anche la temperatura media degli oceani è aumentata fino a 3000 m di profondità, e questi hanno assorbito più del 80% del calore aggiunto al sistema climatico globale (IPCC, 2007c). Questa energia aggiuntiva, che circola all'interno del sistema climatico terrestre, deriva dall'aumento di concentrazione in atmosfera di gas e composti provenienti da attività umane e in particolare dall'uso di combustibili fossili (Ferrara V., 2002). I Gas Serra (CO₂, CH₄, N₂O, CFC, HCFC)¹ influenzano il clima globale in quanto trattengono il calore nella troposfera (regione inferiore dell'atmosfera, dove hanno sede i fenomeni meteorologici, si estende dalla superficie terrestre fino ad un'altezza media di 10-12 Km, circa 8 Km dai poli e 17 km dall'Equatore), ciò aumenta la temperatura media del pianeta, altera la circolazione atmosferica globale e le precipitazioni (ESF, 2007). Gli oceani giocano un ruolo chiave nel regolare il clima, in quanto accumulano, distribuiscono e dissipano energia proveniente dalle radiazioni solari e la scambiano con l'atmosfera. Viceversa essi sono influenzati dalle condizioni climatiche che loro stessi hanno contribuito a creare (ESF, 2007). Questo aumento di calore negli Oceani globali indica che la Terra sta assorbendo maggiore energia dal sole di quella che irradia nello spazio. La temperatura della superficie degli oceani è strettamente correlata alla temperatura atmosferica, l'aumento di quest'ultima a seguito del cambiamento climatico globale ha portato ad un aumento della temperatura degli oceani e dei mari interni. La temperatura media globale della superficie marina è cresciuta, dal 1950, di 0,6 °C a causa del riscaldamento atmosferico delle aree di costa (Bindoff et al., 2007). Negli ultimi 100

¹ CO₂: Anidride Carbonica; CH₄: Metano; N₂O: Ossido di diazoto; CFC: Clorofluorocarburi; HCFC: Idroclofluorocarburi.

anni, ad una fase iniziale di riscaldamento (1910-1945) è seguito un periodo in cui la temperatura si è mantenuta costante. Un secondo periodo di riscaldamento ha avuto inizio negli anni '70 e perdura fino ad oggi (Rayner et al. 2006). Il riscaldamento globale lineare tra il 1850 e il 2004 è stato di $0,50^{\circ}\text{C}$, e soprattutto ci si aspetta che la temperatura superficiale del mare (indicata con l'acronimo SST ovvero Sea Surface Temperature) globale aumenti da $1,1$ a $4,6^{\circ}\text{C}$ per il 2100 (IACMST, 2004). Le terre emerse si riscaldano più velocemente rispetto agli oceani a causa della loro minore capacità di trattenere il calore (WBGU, 2006). Dopo il 1979 il tasso di riscaldamento dello strato superficiale di aria al di sopra delle terre emerse è risultato essere il doppio di quello dell'aria al di sopra degli oceani ($0,27^{\circ}\text{C}/\text{decade}$ contro $0,13^{\circ}\text{C}/\text{decade}$) (IPCC, 2007a). Un significativo riscaldamento è stato osservato nel Nord Atlantico e nell'Artico mentre alcune piccole aree mostrano segni di raffreddamento dovuto a cambiamento delle dinamiche di circolazione oceanica. Questo si è verificato nella regione della Corrente del Golfo presso le coste degli Stati Uniti e in alcune aree vicino la Groelandia. La ragione più probabile è che alle naturali fluttuazioni interne della circolazione si è imposto il generale riscaldamento causato dai gas serra. L'incremento della temperatura del mare registrato ai tropici è di particolare importanza in quanto influenza la formazione di tempeste e cicloni tropicali (WBGU, 2006).

Un tale riscaldamento provoca l'espansione dell'acqua marina contribuendo al sollevamento del livello dei mari. Inoltre la perdita di ghiaccio in Groelandia e Antartide, a causa dell'aumento globale della temperatura, ha probabilmente contribuito molto al notevole innalzamento del livello dei mari osservato dal 1993 al 2003. Infatti se il livello medio globale del mare è cresciuto dal 1961 al 2003 di $1,8\text{ mm}/\text{anno}$, solo nel decennio 1993-2003 questo è stato pari a $3,1\text{ mm}$ per anno. In totale nel XX secolo il livello marino è aumentato di $0,17\text{ m}$. (IPCC, 2007c). Dal 1978 il ghiaccio Artico si è ridotto del $2,7\%$ per decade, con una grande diminuzione in estate di $7,7\%$ per decade. Dal 1993 il contributo dell'espansione termica all'innalzamento del livello del mare è stato pari al 57% , mentre la riduzione della calotta polare ha contribuito per il 28% , e la perdita di ghiaccio polare artico per il 15% . Il grafico sottostante (Fig.1) mostra l'andamento della temperatura media della superficie terrestre, il livello del mare e la copertura nevosa dell'emisfero settentrionale osservati dal 1850 al 2003.

Changes in temperature, sea level and Northern Hemisphere snow cov

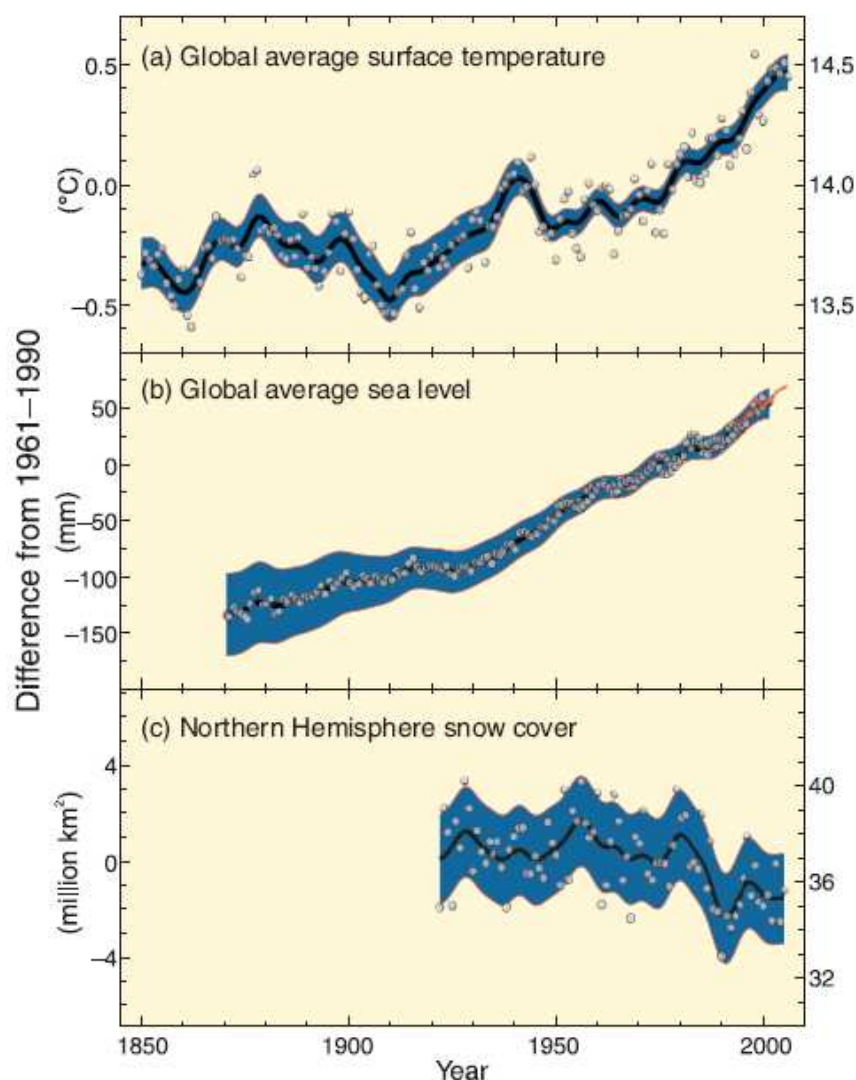


Figura 1 - Cambiamenti osservati in (a) temperatura globale media alla superficie; (b) innalzamento globale medio del livello del mare da mareografi (blu) e da dati da satellite (rosso) e (c) copertura nevosa per l'emisfero Nord fra marzo e aprile. Tutti i cambiamenti sono relativi alle corrispondenti medie per il periodo 1961-1990. Le curve rappresentano i valori medi decennali, mentre i cerchi bianchi sono i valori annuali. L'area ombreggiata è l'intervallo di incertezza ricavata da un'analisi dettagliata delle incertezze conosciute (a e b) oppure dalle serie temporali (c) (Da IPCC Climate Change 2007: Synthesis Report).

Gli Oceani sono regolatori del clima e come tali conservano e distribuiscono calore, influenzano il tempo e la direzione delle tempeste, modulano l'evaporazione le precipitazioni ed il contenuto di vapore acqueo nella atmosfera (ESF, 2007).

Per quanto riguarda le precipitazioni, sono stati osservati cambiamenti sia su scala globale che regionale. Dal 1900 al 2005 le precipitazioni sono aumentate in molte regioni, in particolare nel versante orientale del Nord e Sud America, nel nord Europa e nell'area

centro-settentrionale dell'Asia, al contrario la quantità di pioggia è diminuita nel Sahel (regione naturale dell'Africa occidentale che forma una zona di transizione fra il deserto del Sahara, a nord, e le zone tropicali più umide, a sud. Il Sahel si estende in Mauritania, Mali, Niger e Ciad ed è caratterizzato dalla vegetazione tipica della savana), Mediterraneo e in Africa e Asia meridionale. Dal 1970, in particolare nelle zone tropicali e sub-tropicali si sono avuti periodi sempre più lunghi ed intensi di siccità. Nelle regioni del nord si sono verificate maggiori precipitazioni sottoforma di pioggia piuttosto che precipitazioni nevose. E' stato osservato inoltre un diffuso aumento di violenti temporali, anche nei luoghi dove la quantità totale delle precipitazioni è diminuita. Questi cambiamenti sono associati con un incremento di vapore acqueo nell'atmosfera, il quale si forma dal riscaldamento degli oceani globali, specialmente alle latitudini più basse (IPCC, 2007 a, 2007c).

Oltre alle modificazioni di eventi meteorologici stagionali e regolari, negli ultimi 50 anni si riscontrano cambiamenti nella frequenza ed intensità di eventi estremi: maggiore frequenza di giorni e notti calde, onde di calore, siccità, tempeste, alluvioni e inondazioni. Ad esempio i cicloni tropicali violenti sono aumentati di numero nel nord Atlantico a partire dal 1970, questi eventi sembrano essere correlati con l'aumento delle temperature dei mari tropicali (IPCC, 2007c). Dal 1950 le ondate di calore sono aumentate di numero e si sta verificando un diffuso incremento del numero dei giorni caldi. La distribuzione dei minimi e massimi della temperatura non solo si è spostata verso valori più elevati, ma le temperature minime sono aumentate più delle temperature massime negli ultimi 50 anni. Maggiori valori estremi di caldo implicano una maggiore frequenza delle ondate di calore. Aumenta l'estensione delle regioni afflitte da siccità, così come le precipitazioni sopra le terre emerse diminuiscono marginalmente mentre l'evaporazione è aumentata a causa del riscaldamento globale. La frequenza delle tempeste tropicali e degli uragani varia anno dopo anno, ma ci sono prove che suggeriscono un sostanziale incremento in intensità e durata di questi fenomeni a partire dagli anni settanta. Il più grande aumento si è verificato nel Pacifico del Nord, nel Pacifico Sud-Occidentale e nell'Oceano Atlantico. Il numero record di uragani nel Nord Pacifico è stato raggiunto nell'anno 2005. Nelle regioni extratropicali sono state osservate modificazioni nei percorsi ed intensità delle tempeste, che riflettono probabilmente variazioni nelle caratteristiche principali della circolazione atmosferica, come ad esempio la NAO (North Atlantic Oscillation) (IPCC, 2007a).

I recenti eventi estremi sono stati:

- Siccità nel centro e sud-ovest dell'Asia, 1998-2004: Le precipitazioni tra il 1998-2001 diminuirono di circa il 55% in questa area, provocando nel 2000 la peggiore siccità degli ultimi 50 anni. Tra il dicembre 2000 e gennaio 2001, si verificarono nevicate ad elevate altitudini, anche se temperature superiori alla media, rapido scioglimento delle nevi, piogge sostanziali e il terreno reso arido dalla siccità portarono ad alluvioni improvvise nella parte centrale dell'Iran, nel nord dell'Afghanistan e Tajikistan. Nelle altre regioni la siccità durò fino al 2004.

- Siccità in Australia, 2002-2003: In precedenza l'Australia fu colpita (nel 1984 e 1992) da altre siccità, ma in quest'ultima le temperature giornaliere hanno fatto registrare temperature più elevate rispetto alle precedenti.

- Siccità nel nord-ovest dell'America, 1999-2004: La siccità ha colpito gli Stati Uniti occidentali, il Canada meridionale e il Messico nord-occidentale. Nell'agosto 2002 questo evento raggiunse il picco, colpendo l'87% delle Montagne Rocciose, diventando la seconda più estesa siccità e la più lunga degli ultimi 105 anni.

- Alluvioni in Europa, estate 2002: Una catastrofica inondazione ha colpito un'ampia area dell'Europa centrale nell'agosto 2002. Questa è stata il risultato di piogge eccezionali, associate al livello dei fiumi già elevati a causa di precipitazioni precedenti e terreni completamente saturi.

- Ondata di calore in Europa, estate 2003: La maggior parte dell'Europa nel 2003 si sono registrate temperature record specialmente durante i mesi di giugno e agosto. I massimi assoluti sono stati i più alti di quelli osservati negli anni '40 e nei primi anni '50 in molte località della Francia, Germania, Svizzera, Spagna, Italia e Regno Unito. La temperatura media nell'estate 2003 è stata più elevata di 3,8°C rispetto alla media del periodo 1960-1990 e di 1,4°C più calda di ogni estate dello stesso periodo.

- Stagione delle tempeste tropicali nel Nord Atlantico nel 2005: E' stata la stagione più attiva mai registrata con 28 tempeste (velocità dei venti superiore a 17 m/s), 15 uragani (velocità dei venti superiore a 33 m/s) e 5 tempeste di categoria 5 (con velocità dei venti superiore a 64 m/s), queste ultime includono le più intense tempeste Atlantiche mai registrate come Rita e Katrina. La tempesta tropicale Vince è stata la prima a colpire le coste del Portogallo e Spagna. Le elevate temperature della superficie del mare nella regione tropicale nel Nord Atlantico (0.9 °C più elevata dal 1901 al 1970) e la maggiore durata della stagione estiva nel 2005 (da giugno a ottobre) sono le probabili cause di questa attiva stagione degli uragani.

1.2 Cambiamenti climatici in Europa

1.2.1 Temperatura

I Cambiamenti climatici globali si riflettono poi su scala regionale. Per quanto riguarda l'Europa, e più in particolare l'area del Mediterraneo, la temperatura media del periodo 1906-2005 è stata più alta di 1,4°C rispetto ai livelli del periodo pre-industriale (1850-1919), tra l'altro l'ultima decade è stata la più calda degli ultimi 150 anni, e il 1998 e 2005 sono stati gli anni con le temperature più alte mai registrate (EEA, 2007a). Secondo i modelli di previsione dell' IPCC (IPCC, 2007) nel continente europeo si verificherà un surriscaldamento in tutte le stagioni da 2,5 a 5,5 °C (scenario A2) o da 1 a 4 °C (scenario B2). L'Europa tenderà a diventare sempre più calda, in particolare nella parte orientale e meridionale del continente e soprattutto più velocemente rispetto alla media globale

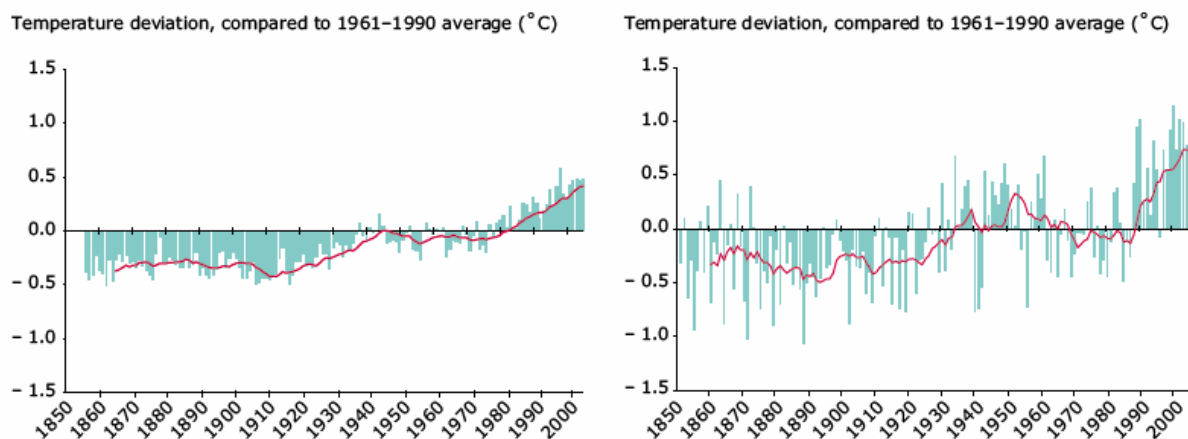


Figura 2 - Temperature medie annuali osservate dal 1961 al 1990 a livello globale (grafico a sinistra) e per i paesi dell'Unione Europea (grafico a destra) (Da EEA, 2007a).

Particolarmente significativo è il riscaldamento osservato nella Penisola Iberica, Europa sud-orientale (inclusa la Turchia), la Russia nord-occidentale e gli Stati Baltici. Il maggiore riscaldamento è stato registrato nella Federazione Russa, dove la temperatura è aumentata di 3 °C rispetto agli ultimi 90 anni. Per i paesi dell'est si prevede un aumento della temperatura annuale di 1-6,9°C per il 2050, e 4-6,6 °C per il 2080/2100. Il nord Europa sarà interessato da un maggiore riscaldamento della stagione invernale piuttosto che in estate, con temperature che raggiungeranno gli 8-10 °C nelle regioni Artiche. Mentre nel sud e centro Europa il massimo riscaldamento si raggiungerà nella stagione estiva, con locali incrementi di 6°C. (EEA, 2007a). A livello stagionale, quindi, la direzione del riscaldamento invernale seguirà una direzione Ovest-Est (dalla Francia alla

Russia), mentre il riscaldamento estivo sarà più marcato lungo una direzione Nord-Sud che va dalla Scandinavia all'Italia. Inoltre tenderà a diminuire sia la lunghezza della stagione invernale, sia la frequenza degli estremi di freddo in inverno. Viceversa, tenderà ad aumentare sia la durata della stagione estiva, sia la frequenza degli estremi di caldo in estate (Ferrara V., 2002).

Durante gli ultimi 10 anni, la temperatura superficiale del mare è cresciuta costantemente e valori eccezionalmente alti sono state registrati in tutti i mari europei, tranne il Mar Nero (ESF,2007) (Fig.3).

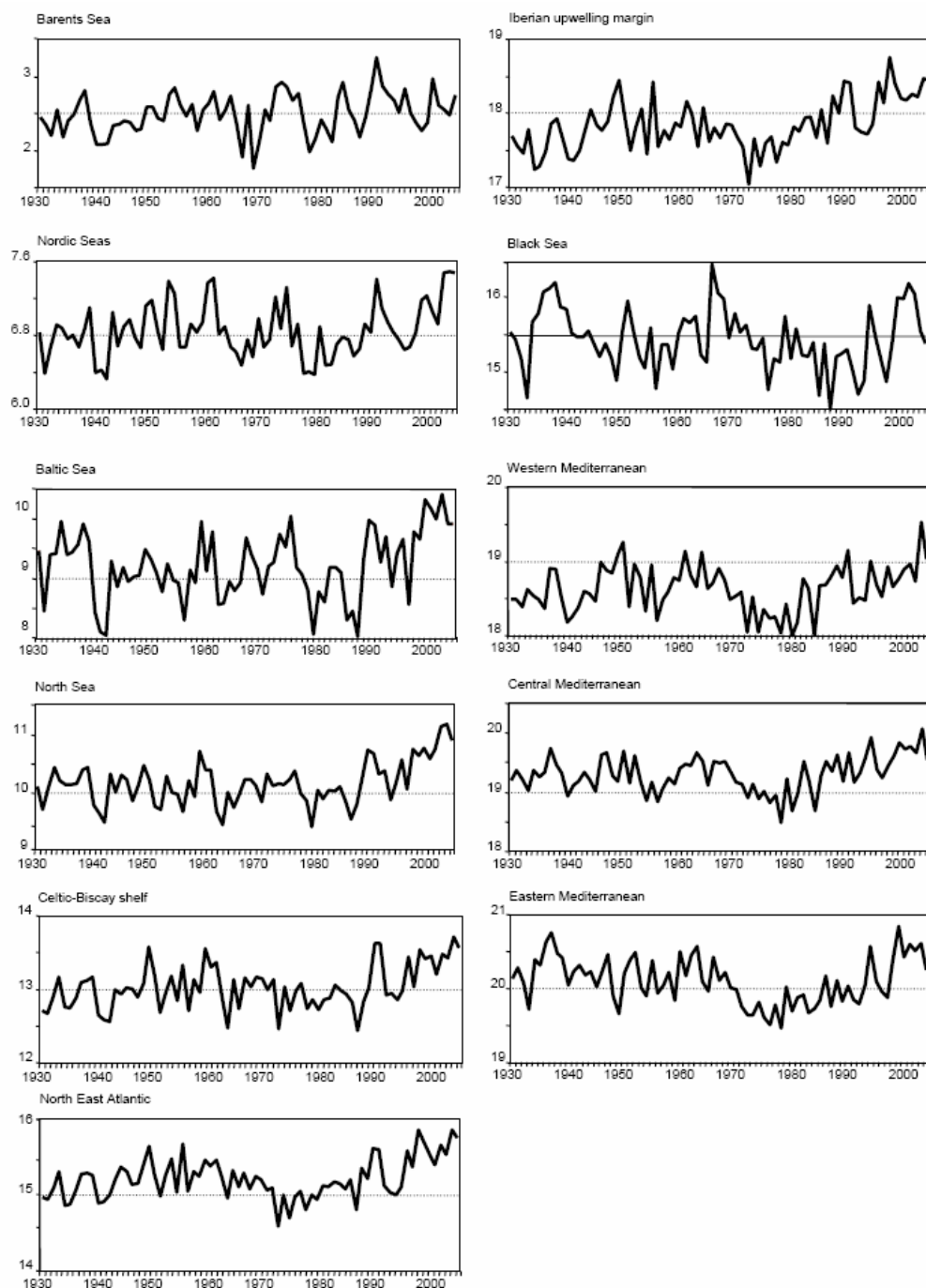


Figura 3 - Variazione a lungo termine della media della temperatura superficiale marina (SST) dei mari e degli ambienti di costa Europei (da ESF, 2007).

Il Mar Baltico ed il Mare del Nord si sono riscaldati di circa 0,5°C negli ultimi 15 anni, nel Sud-Est del Golfo di Biscaglia il valore medio della temperatura superficiale del mare è aumentata di 0.6°C per decade dalla metà degli anni '70. La temperatura delle correnti settentrionali dell'Atlantico e il Mar di Norvegia Orientale è stata eccezionalmente alta nel periodo 2000-2004, sebbene l'incremento per decade sia stato di 0,3 °C. Nel mare di Barents la temperatura media della superfici del mare è cresciuta di un grado negli ultimi 30 anni ed infine, per quanto riguarda il Mar Mediterraneo, tra il 1982 e il 2003, la temperatura superficiale media è aumentata di 2,2-2,6 °C (Fig.4) (EEA, 2007a). L'aumento della temperatura superficiale del mare influenza la vita e il metabolismo dei molti organismi marini, ed unita al fenomeno dell'eutrofizzazione può determinare un aumento di crescita algale e l'anossia dei sedimenti marini (EEA, 2006).

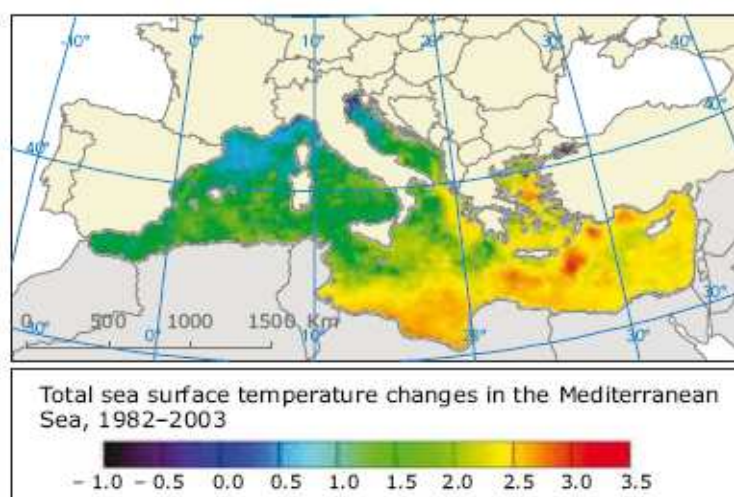


Figura 4 - Variazione totale della temperatura superficiale del mar Mediterraneo dal 1982 al 2003 (Da EEA, 2007a).

1.2.2 Livello del Mare

Nel XX Secolo il livello del mare è cresciuto globalmente di 1,7 mm/anno, le principali cause sono l'espansione termica dell'acqua marina dovuta all'innalzamento della temperatura e l'apporto aggiuntivo di acqua proveniente dallo scioglimento dei ghiacci in Groelandia e Antartico. L'incremento locale del livello del mare lungo le coste europee è variato, tra il 1896 e il 1996, da 80 a 300 mm. Per il 2100 si stima che il livello globale dei mari crescerà di 0.18 a 0.59 m. Il graduale innalzamento, combinato con il possibile aumento della frequenza e/o intensità di eventi meteorologici estremi, può determinare una serie di impatti sulle aree di costa europee. Gli ecosistemi costieri maggiormente minacciati sembrano essere in particolare quelli del Mar Baltico, Mar Mediterraneo e Mar

Nero. La vulnerabilità delle acque della piattaforma costiera e di taluni tratti di costa rispetto all'aumento del livello del mare e delle inondazioni dipende da numerosi fattori locali. A titolo esemplificativo, i tratti di costa bassi densamente popolati e con piccole variazioni di marea saranno maggiormente vulnerabili all'innalzamento del livello del mare. Le inondazioni costiere legate all'innalzamento del livello del mare potrebbero colpire ampie popolazioni in tutto il territorio europeo. Secondo lo scenario SRES A1FI(IPCC, Special Report on Emission Scenarios), entro il 2080, in Europa, fino a 2,5 milioni di persone, ogni anno, potrebbero far esperienza di inondazioni costiere (APAT, 2007a). Un terzo della popolazione europea vive in una fascia che si estende fino a 50 Km dalla costa. Il 16% dei cittadini dell'Unione Europea risiede nelle municipalità costiere, sebbene le aree di costa rappresentino solo l'11% del territorio dell'Unione. Invece nell'intero continente europeo si contano circa 280 città di costa con più di 50.000 abitanti. Il bacino del Mar mediterraneo, il Mar Iberico ed il Mare del Nord presentano la più alta densità di popolazione con più di 500 abitanti/Km², anche se si possono riscontrare molte differenze a livello regionale. Il turismo inoltre contribuisce ad aumentare la popolazione lungo le coste, più di 170 milioni di persone hanno visitato il Mediterraneo nel 2000 con un incremento del 44% dal 1990. Nel bacino del Mar Nero vivono circa 110 milioni di persone e la sola regione di Istanbul conta più di 12 milioni di abitanti. L'area meno urbanizzata e meno densamente popolata è la regione costiera Artica con circa 1 abitante/Km² (EEA, 2007a). Circa 100.000 Km² del territorio europeo è situato a meno di 5 metri al di sopra del livello del mare e meno della metà di questa area è collocata a 10 km dal mare (9% di tutte le zone costiere europee e 12% per i paesi membri dell'Unione Europea). Queste aree sono potenzialmente sensibili all'innalzamento del livello del mare e alle relative inondazioni. Le nazioni più vulnerabili sono l'Olanda e il Belgio con più di 85% delle coste al di sotto dei 5 metri, seguono poi la Germania e la Romania con il 50%, la Polonia e Danimarca con 30% e il 22 % rispettivamente, in Francia, Regno Unito e Estonia i tratti di coste basse coprono circa il 10-15% del territorio, mentre per otto nazioni dell'Europa meridionale queste aree rappresentano meno del 5%, comunque anche per queste zone sono stati individuati dei punti critici (ad esempio Venezia)(EEA, 2006). Gli ecosistemi costieri, ed in particolare le lagune lungo il litorale di mari semichiusi, potrebbero ridursi sensibilmente o sparire del tutto in questo secolo a causa dei bassi livelli marea e limitata capacità di trasporto di solido litoraneo verso le coste, dovuta all'intenso uso delle aree costiere da parte dell'uomo(EEA, 2007a). Approssimativamente il 20% delle zone umide costiere esistenti potrebbero scomparire entro il 2080, secondo gli scenari

SRES (IPCC, Special Report on Emission Scenarios), a causa dell'innalzamento del livello del mare in Europa. E' anche probabile che gli impatti di tale innalzamento e il relativo riscaldamento climatico sugli ecosistemi marino-costieri intensifichino i problemi di eutrofizzazione e di stress sui sistemi biologici. Inoltre, in zone di subsidenza costiera o di rilevante attività tettonica, come nelle regioni Mediterranee e del Mar Nero con basse oscillazioni della marea, l'innalzamento del livello del mare legato al clima potrebbe aumentare, in modo significativo, il danno potenziale derivante da onde anomale e tsunami. In ogni caso, le simulazioni indicano un calo della burrascosità e dell'intensità del vento in direzione est, nel Mediterraneo, ma un aumento della burrascosità localizzata in parti del Nord Adriatico, Mar Egeo e Mar Nero (APAT, 2007a, 2007b).

1.2.3 Precipitazioni

La quantità di precipitazioni annuali in Europa può variare ampiamente ed è in stretta relazione con la geografia del territorio. Nel XX secolo le precipitazioni sono aumentate nel nord Europa (dal 10 al 40 %), nelle regione Artica, nella Federazione Russa, mentre nell'Europa meridionale queste sono diminuite del 20%. Nell'ultimo decennio, l'Europa occidentale, centrale e la regione Artica, hanno subito un aumento delle precipitazioni nella stagione invernale, mentre il sud-est europeo è diventato sempre più asciutto. In estate sempre nello stesso periodo di tempo, nella maggior parte delle aree dell'Europa centrale e settentrionale si è assistito ad una diminuzione delle piogge. I modelli di previsione indicano che nel nord Europa, in generale, la media delle precipitazioni annuali tenderà a crescere in modo continuo, mentre decrescerà nell'Europa meridionale. Nel continente europeo gli inverni diventeranno sempre più piovosi, ad esclusione della regione del Mediterraneo, in estate (da giugno ad agosto) invece si assisterà ad un decremento delle precipitazioni nella maggior parte del territorio europeo (EEA, 2007a). Le cause di queste variazioni sono state individuate da Giorgi et al. (2004) nell'aumento dell'attività ciclonica nell'Atlantico a dicembre, gennaio e febbraio che porta ad un aumento delle precipitazioni (fino al 15-30%) maggiore nell'Europa occidentale, settentrionale e centrale. Le precipitazioni durante questo periodo diminuiscono nell'Europa del Mediterraneo in risposta all'aumento della circolazione anticiclonica. Räisänen et al. (2004) hanno scoperto che le precipitazioni estive diminuiscono sostanzialmente (in alcune aree fino al 70%) nell'Europa meridionale e centrale, e ad un livello inferiore nell'Europa settentrionale fino alla Scandinavia centrale. Giorgi et al. (2004) hanno individuato un aumento della corrente anticiclonica a giugno, luglio e agosto

sull'Atlantico nord-orientale che comprende un cuneo di alta pressione sull'Europa occidentale e una saccatura sull'Europa orientale. Questa struttura a blocco defeziona i temporali in direzione nord, causando una diminuzione sostanziale e diffusa delle precipitazioni (fino al 30-45%) sul bacino del Mediterraneo e sull'Europa occidentale e centrale (APAT, 2007a).

La temperatura e le precipitazioni sono i fattori che più influenzano il ciclo idrologico dei bacini fluviali. Osservazioni e proiezioni basate sui vari scenari e sui Modelli di Circolazione Globale (Global Circulation Models (GCM)) mostrano che il flusso dell'acqua sta diminuendo in alcune regioni d'Europa e diminuirà ulteriormente in futuro. Gli studi indicano una diminuzione dei flussi d'acqua estivi nelle Alpi. Il volume dei flussi d'acqua estivi di ridotta portata può diminuire fino al 50% nell'Europa centrale, e fino all'80% nel Mediterraneo. Perciò, le aree più soggette ad un incremento dello stress idrico sono il Mediterraneo (Portogallo, Spagna) ed alcune parti dell'Europa centrale e orientale dove i volumi di deficit possono aumentare in cento anni del 25%, e dove è previsto l'incremento più significativo nella domanda di acqua a scopo irriguo (APAT, 2007a). Modificazioni del ciclo dell'acqua possono incrementare il rischio di alluvioni e siccità. Per l'Europa si prevede per il futuro un aumento del rischio di alluvioni nel settore settentrionale, centrale e orientale, mentre l'Europa meridionale sarà soggetta fenomeni di siccità (IPCC, 2007b).

1.2.4 Eventi estremi

Il cambiamento climatico si manifesta soprattutto attraverso eventi estremi come inondazioni, siccità, incendi boschivi e onde di calore, piuttosto che cambiamenti gradualmente. Recentemente l'Europa ha provato l'estate più calda che si sia mai registrata (ondata di calore del 2003 nell'Unione Europea e nel 2005 nella Federazione Russa), e più frequenti e intensi fenomeni di siccità specialmente nelle aree in cui le temperature minime sono aumentate (EEA, 2007a). In Europa si verificheranno con alta frequenza temperature estreme. Le temperature massime annuali aumenteranno molto più al sud e al centro Europa rispetto al nord. Inoltre, in estate, il surriscaldamento di ampie regioni del sud, centro ed est dell'Europa potrebbero essere strettamente collegate alla temperature più alte delle giornate torride piuttosto che al surriscaldamento generale, il che significa che si raggiungeranno temperature estreme. Ci si attende anche un ampio aumento delle temperature minime annuali in gran parte dell'Europa, che supera in molte località di due o tre volte il surriscaldamento invernale di base. Gran parte del surriscaldamento in inverno è

collegato alle temperature più alte delle giornate fredde, il che indica una diminuzione della variabilità delle temperature invernali. Un aumento delle temperature invernali più basse, sebbene ampio, significherebbe da una parte che gli estremi di correnti fredde diminuirebbero; dall'altra parte, un grande aumento delle temperature estive più alte esporrebbe gli europei a elevate temperature senza precedenti (APAT, 2007a). Le ondate di calore e le temperature elevate potrebbero diventare sempre più intense e durature specialmente nel Mediterraneo e Europa dell'est. Infatti nella regione del Mediterraneo potrebbero aumentare, nel corso dell'anno, il numero dei "giorni estivi" con temperature superiori ai 25 °C ed il numero "giorni bollenti" (hot days) con temperature superiori ai 30°C. L'area del Mediterraneo sarà soggetta a riduzione delle precipitazioni e prolungati periodi di siccità, con conseguente aumento del rischio di salinizzazione, degradazione del suolo e desertificazione (EEA, 2007a). Le regioni maggiormente colpite potrebbero essere il settore meridionale della Penisola Iberica, le Alpi, l'area costiera dell'Adriatico Orientale ed il sud della Grecia (APAT, 2007a). Sempre nell'area Mediterranea e nella maggior parte dell'est Europeo, le fasi di siccità potrebbero aumentare entro la fine del XXI secolo, il periodo di siccità più lungo in un anno aumenterebbe del 50%, in particolare in Francia e nell'Europa centrale (APAT, 2007a).

Per quanto riguarda le precipitazioni si è verificato un aumento delle giornate umide e dei temporali violenti soprattutto nell'Europa centro-settentrionale, ed un decremento delle precipitazioni nell'Europa del sud. La probabilità di precipitazioni estreme aumenterà nell'Europa occidentale e settentrionale, mentre una larga parte del Mediterraneo, come detto, andrà incontro a minori precipitazioni e a lunghi periodi di siccità (EEA, 2007a). Alcuni studi hanno messo in evidenza un sostanziale aumento nell'intensità delle precipitazioni giornaliere, questo si verifica anche nelle aree in cui si registra una diminuzione della media delle precipitazioni, come in Europa centrale e nel Mediterraneo (IPCC, 2007b). Un incremento della frequenza e intensità delle piogge violente aumenta il rischio di alluvione in tutta Europa (EEA, 2007b). In particolare, ci si aspetta che cresca il numero di inondazioni improvvise, localizzate e gravi, e ciò aumenta anche la casualità del rischio (EEA, 2005). Negli ultimi 5 anni, il continente Europeo è stato colpito da più di 100 inondazioni disastrose. Queste però non possono essere attribuite solamente al cambiamento climatico, infatti una cattiva gestione dei bacini fluviali, la crescente urbanizzazione e il disboscamento di aree montuose contribuiscono ad accelerare lo scorrimento delle acque a seguito di forti precipitazioni. Tuttavia, i recenti eventi, quali le diffuse inondazioni nel Regno Unito nell'inverno 2000/2001 e la disastrosa

alluvione nel Centro Europa nel 2002 sono considerati esempi di quali saranno gli impatti dovuti al cambiamento climatico (EEA, 2007b).

1.3.1 Cambiamenti Climatici e Mar Mediterraneo

Il Mar Mediterraneo è un mare semichiuso (prof media 1,4 Km, prof. max 5.5) e oligotrofo, cioè con una bassa produttività primaria. E' costituito da due bacini principali, il Bacino Occidentale e il Bacino Orientale, connessi dal Canale di Sicilia. E' considerato un "oceano in miniatura" in quanto i fenomeni che regolano le dinamiche complesse della sua circolazione sono analoghi ai corrispondenti fenomeni degli oceani globali. Le principali caratteristiche di questo mare sono:

- un limitato apporto di acque dolci. Il Mediterraneo presenta un deficit di acque dolci di 0,9 m all'anno in quanto l'evaporazione supera quantitativamente le precipitazioni e l'afflusso dai principali bacini fluviali. Il maggior punto di scambio è con l'Oceano Atlantico, attraverso lo stretto di Gibilterra (15 Km di larghezza, 250m di profondità); dal Mar Mediterraneo fuoriesce una corrente profonda di acqua densa, calda e salata, mentre dall'Atlantico si introduce nel bacino una corrente superficiale meno densa e più fredda.
- Le oscillazioni di marea sono generalmente molto contenute.
- La temperatura delle acque profonde è generalmente calda (superiore ai 12,8°C)(ESF, 2007).

Nonostante rappresenti solamente lo 0,82 % della superficie globale degli oceani e lo 0,32% del volume, il Mediterraneo è caratterizzato da una elevata biodiversità. Nel Mediterraneo sono state identificate il 7,5% di tutte le specie marine descritte. La ricchezza in specie diminuisce spostandosi lungo la direzione Ovest-Est, e ciò riflette il gradiente climatico e trofico del Mediterraneo (ESF, 2007).

Il clima dell'area Mediterranea è influenzato da alcuni dei più rilevanti meccanismi che agiscono sul sistema climatico globale. Il bacino è localizzato in una zona di transizione dove competono la variabilità atmosferica delle medie latitudini e quella tropicale. E' esposto a venti occidentali per tutto l'anno e su larga scala a sistemi come il South Asian Monsoon (SAM) in estate, le alte pressioni siberiane in inverno, l'oscillazione del Nord Atlantico (NAO) e l'oscillazione de El Niño (ENSO) (European Commission, 2006).

Nell'ultima decade aumenti di temperature e salinità sono stati registrati per le acque superficiali, intermedie e profonde in diversi studi effettuati in periodi diversi (Fuda et al., 2006).

Concerned water mass/ sub-basin	Depth (m)	Period	T trend (10 ⁻³ °C/yr)	S trend (10 ⁻³ psu/yr)	Authors
AW / offshore Barcelona (Spain)	0	1973–1994	+35	NA	Pascual <i>et al.</i> , 1995
	80	1973–1994	+20	NA	
AW / Liguro-Provençal	NA	1960–1995	0	+4.3	Krahmann and Schott, 1998
LIW / whole western Med	[250 500]	1960–1995	0	0	
LIW / Tyrrhenian	[600 1500]	1973–1992	+19	+5.0	Zodiatis and Gasparini, 1996
WMDW / Algero-Provençal	2000	1909–1955	+0.82	+0.3	Rohling and Bryden, 1992
	2000	1955–1989	+1.6	+0.94	
WMDW / Algero-Provençal	2000	1960–1995	+1.6	+0.8	Krahmann and Schott, 1998
WMDW / Provençal	2000	1959–1996	+3.5	+1.1	Béthoux and Gentili, 1999
EMDW / Ionian	3000	1960–1991	+2.1	NA	Tsimplis and Baker, 2000
EMDW / Levantine	3000	1960–1991	+1.2	NA	

Figura 5 - Trend di crescita registrati per le masse d'acqua del Mediterraneo. AW: Atlantic Water (Acque Atlantiche), LIW: Levantine Intermediate Water (Acqua intermedia Levantina), WMDW: Western Mediterranean Deep Water (Acque profonde del Mediterraneo Occidentale), EMDW: Eastern Mediterranean Deep Water (Acque profonde del Mediterraneo Orientale) (da Fuda et al., 2006).

TEMPERATURA DELL'ACQUA

Un segnale del surriscaldamento delle acque mediterranee è la migrazione di specie marine termofile (cioè adattate a vivere in acque calde) dai settori meridionali a quelli settentrionali del Mar Mediterraneo. Ad esempio nel Mar Ligure, che è uno dei mari più freddi del bacino Mediterraneo, è presente un basso numero di specie sub-tropicali e una maggiore abbondanza di specie tipiche di ambienti temperati freddi. Il riscaldamento del Mare Ligure, in questi ultimi anni, ha favorito la penetrazione, in queste acque, di specie termofile come la *Thalassoma pavo* (Donzella Pavonina), che dal 1994 è presente in questo mare ed ha costituito una stabile popolazione (ESF, 2007). Sempre nel Mar Ligure nell'estate del 1999 si è verificata un'anomalia termica con un aumento della temperatura marina fino a 50 m di profondità, che ha causato la morte in massa di numerose specie di invertebrati marini. Come descritto in uno studio del 2000 (Cerrano et al., 2000), a fine estate 1999 la temperatura del mare è aumentata improvvisamente fino a 15 m di profondità. Nel mese di settembre la temperatura dell'intera colonna d'acqua, fino a 40 metri di profondità, raggiungeva i 20 °C. La temperatura registrata alla fine dell'estate

1999 è risultata essere 2-4 °C più elevata della media stagionale, nel tardo settembre si è verificato un improvviso riscaldamento con picchi di 23 °C, seguito poi da una fase di raffreddamento, la cui temperatura comunque si assestava su valori di 1-2 °C più elevati del normale.

Come detto, negli ultimi 40 anni le maggiori masse d'acqua del Mediterraneo mostrano un aumento lineare della temperatura e salinità (Roether et al., 1996). La circolazione del Mediterraneo è complessa e legata a sistemi climatici globali come la l'Oscillazione del Nord Atlantico (NAO). La NAO è un fenomeno climatico periodico che influisce su larga scala sul clima e sul tempo meteorologico, prevalentemente in inverno, delle zone continentali del Nord Atlantico e in Europa. Ad esempio, le variazioni del livello del mare nel Mediterraneo sono legati alla NAO, attraverso l'effetto combinato di anomalie di pressione atmosferica e variazioni del tasso di evaporazione e precipitazione. L'azione della NAO è correlata positivamente con il bacino Occidentale del Mediterraneo, mentre la temperatura della superficie marina (SST) e la temperatura delle masse d'acqua più profonde del bacino Orientale sono anti-correlate alla NAO (Rixen et al., 2005). La circolazione delle masse d'acqua all'interno del Mediterraneo si basa su due sistemi di celle termoaline (la circolazione termoalina è dovuta alla differenza di temperatura negli strati di acqua):

- 1) Upper Open Conveyor Belt: che consiste in (a) un flusso di acqua Atlantica (AW) a minore salinità che dallo stretto di Gibilterra si dirige e termina nel bacino Orientale a circa 150-200 m di profondità e (b) e la formazione, a 200-400m e la diffusione verso ovest delle acque levantine intermedie (LIW), calde e salate, che fuoriescono dallo stretto di Gibilterra e si diffondono nel Nord Atlantico.
- 2) Closer Conveyor Belt: Nei due sub-bacini del Mediterraneo avviene una circolazione interna, guidata dal processo di formazione delle masse di acqua profonda. Il Golfo del Leone e il Mar Adriatico sono rispettivamente i siti di formazione delle acque profonde del Bacino Occidentale (WMDW) e del bacino orientale (EMDW). Le masse di acqua profonda sono confinate negli strati più profondi dei due sub-bacini a causa della presenza della soglia dello stretto di Gibilterra e dello Stretto di Sicilia. Il tempo di ricambio delle acque profonde è dell'ordine di 80-100 anni (European Commission, 2006).

Alla fine degli anni Ottanta e l'inizio dei Novanta, una repentina variazione nei valori di salinità e temperature ha causato un incremento della densità e la massiccia formazione di acque profonde nel Mar Egeo meridionale, tutto ciò ha alterato la circolazione termoalina

circolare del Bacino Orientale con conseguenze sulla distribuzione dei parametri ambientali (European Commission, 2006). Un incremento di 10^{-1} e 10^{-2} °C per decade si è registrato anche nel Bacino Occidentale (CIESM, 2002). Questo evento climatico che ha determinato lo scivolamento rapido dell'area di formazione delle acque di fondo, dal Mar Adriatico al Mar Egeo ed ha modificato drasticamente le caratteristiche dell'acqua di fondo in questa area del bacino è stato definito Transiente del Mediterraneo Orientale-East Mediterranean Transient (EMT). Il nuovo apporto di acque dense dal Mar Egeo ha causato un aumento della temperatura di circa 0.5 °C, sostituendo il 20% della massa d'acqua d'origine adriatica che occupava il Bacino Orientale al di sotto dei 1200 m (Sinapsi, 2004).

Le cause della formazione di questo improvviso evento climatico sembrano essere riconducibili alla variazione della direzione e velocità di venti freddi, riduzione delle precipitazioni, aumento dell'evaporazione e minor afflusso di acque dolci dai principali bacini fluviali, al cambiamento del flusso di acque provenienti dell'Atlantico e della Corrente Levantina Intermedia ed al ridotto scambio con il Mar Nero (European Commission, 2006). Invece per quanto riguarda i fenomeni di riscaldamento del bacino Occidentale questi sembrano maggiormente legati all'influenza della NAO. Le acque profonde del Mediterraneo occidentale e del Nord Atlantico hanno mostrato un trend di riscaldamento costante, che si è leggermente interrotto nei primi anni Ottanta. Il trend di riscaldamento del Nord Atlantico e degli oceani globali è stato spiegato per effetto del Global Warming e probabilmente le acque profonde del Mediterraneo occidentale e il Nord Atlantico mostrano lo stesso andamento per le medesime ragioni (Rixen, 2005).

ANOMALIA CLIMATICA DEL 2003

L'ondata di calore che ha colpito l'Europa e l'area del Mediterraneo nell'estate del 2003 ha naturalmente influito sulla temperatura superficiale del bacino. Un riscaldamento consistente e prolungato potrebbe avere ripercussioni sul clima della regione, modificando l'usuale scambio di calore che avviene tra la superficie marina e l'atmosfera sovrastante. In uno studio condotto dall'ENEA nel 2003 sono stati confrontate le temperature della superficie marina (SST) del Mediterraneo tra il 1982-2000, con le SST registrate nel 2003.

Dal 1985 al 2002 (Fig. 6) sia pure con evidenti variabilità stagionali, il ciclo stagionale si ripete senza eccessive variazioni. I valori minimi vanno da 13,4 °C del 1993 a 15,2 °C del 2002, i valori massimi sono compresi tra 25,5 °C del 1995 e i 27 °C del 1994. Nel corso del 2003 sono state registrate temperature insolitamente elevate, che nell'estate

hanno raggiunto valori medi vicini ai 29°C, ben al di sopra della media stagionale osservata nei 18 anni precedenti.

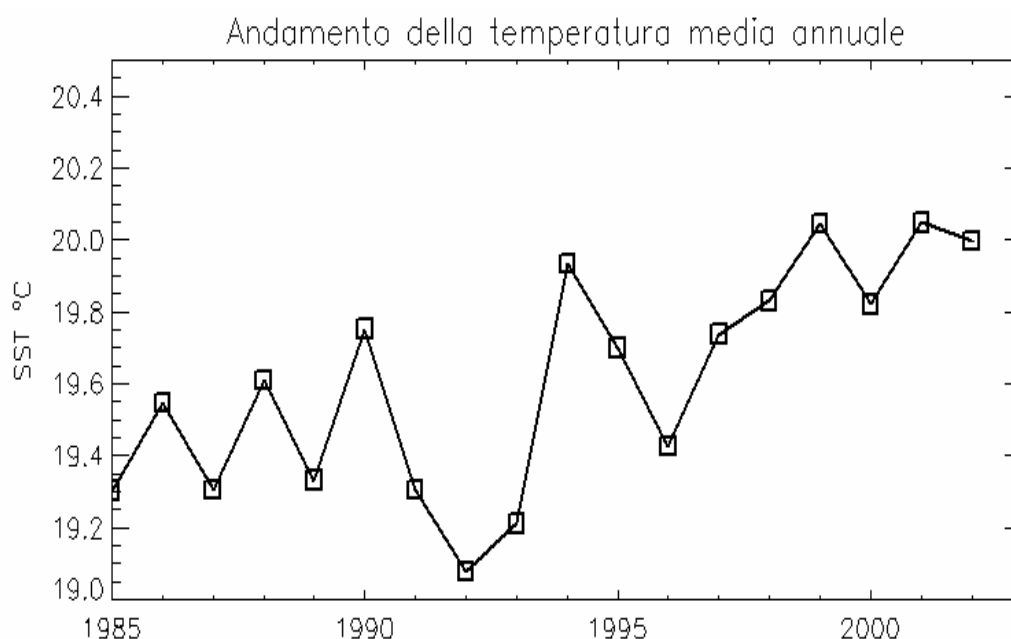


Figura 6 - Andamento della Temperatura media annuale del Mar Mediterraneo (1985-2002)
(da Marullo e Guarracino, 2003).

Tra il 1985 e il 1991 la temperatura ha presentato oscillazioni anomale con ampiezze crescenti. Il periodo successivo (1991-1993) è stato caratterizzato da un decremento della temperatura, con il valore minimo assoluto del 1992, fenomeno probabilmente dovuto all'EMT (Eastern Mediterranean Transient, Transiente del Mediterraneo Orientale) che ha causato un raffreddamento degli strati superficiali e intermedi del bacino orientale come meccanismo principale di immagazzinamento a lungo termine di calore e sale negli strati più profondi (Sinapsi, 2004).

Dal 1992 al 2002 si è osservato un continuo aumento della SST, di circa 1,0°C in dieci anni. Il riscaldamento della superficie marina, durante l'anomalia del 2003, non è stata del tutto uniforme per il bacino del Mediterraneo.

Le aree dove questo è avvenuto maggiormente sono state: il Golfo del Leone-Mare ligure, Tirreno- Ionio settentrionale e Adriatico nel mese di Giugno. In queste zone l'anomalia termica ha raggiunto in media i 4 °C con punte di 5 °C nel Mar ligure, alto Tirreno e versante italiano del mar Adriatico. In luglio il fenomeno si è attenuato, anche se i valori massimi dell'anomalia hanno raggiunto i 3 °C nell'area tra la Sardegna, Sicilia e Tunisia. In agosto si è avuta una nuova intensificazione del fenomeno con valori vicini ai 4 °C. Nel mese di settembre il fenomeno si è attenuato scendendo a valori inferiori ad un

grado. Per quanto riguarda il bacino orientale l'anomalia termica del 2003 è stata prossima allo zero (Marullo S. e Guarracino M., 2003).

LIVELLO DEL MARE

Il Mar Mediterraneo ha presentato comportamenti anomali rispetto agli altri oceani. Dopo una fase iniziale di innalzamento del livello marino, analogo a quello osservato a livello globale, negli ultimi 30 anni ma mostrato delle anomalie nel tasso di crescita e più in particolare negli ultimi 15 anni, il Mar Mediterraneo è rimasto stazionario, anzi in alcuni casi ha mostrato un decremento del livello, in contrasto con quanto osservato per gli oceani globali. Le ipotesi più probabili di queste anomalie sono:

- Anomalie nella dinamica dell'atmosfera, che hanno colpito in modo particolare il Mediterraneo. Infatti, poiché è variata la frequenza e l'intensità dei cicloni extra-tropicali e sono aumentate in numero ed intensità le situazioni anticicloniche sul Mediterraneo (alte pressioni), la pressione atmosferica sulla superficie del mare è mediamente più alta, e questo comporterebbe, per un mare chiuso come il Mediterraneo uno «schiacciamento» non trascurabile verso il basso della superficie marina stessa;
- Anomalia nel ciclo idrologico complessivo del Mar Mediterraneo, in quanto da un lato è aumentata l'evaporazione delle acque, a causa dell'innalzamento della temperatura, dall'altro è diminuito l'apporto idrico dai fiumi, a causa della riduzione delle precipitazioni. Il Mar Mediterraneo sta andando incontro ad un sempre crescente aumento della salinità e diminuzione del livello marino. Le immissioni di acqua più fredda dall'Oceano Atlantico, attraverso lo stretto di Gibilterra, non riescono a compensare le perdite, anche perché la maggior acqua salata (pesante) del mediterraneo tende a riversarsi nell'Atlantico (acqua meno salata e più leggera), impedendo così alle correnti provenienti da quest'ultimo di compensare le perdite (Ferrara, 2002).

Il sollevamento del mare non sembra quindi essere attualmente, nell'area mediterranea, il parametro principale di un aumento a breve termine della vulnerabilità delle coste (a differenza di quanto avviene nel Nord Europa), tranne che nei settori in cui la subsidenza antropica e naturale amplificano il fenomeno nella sua manifestazione attuale e futura. Si può prevedere un incremento degli impatti sull'area costiera soprattutto per effetto di eventi meteo marini (mareggiate) che si presenteranno con frequenze irregolari e con maggiore intensità. Le correnti litoranee ed il regime ondametrico saranno meno intensi ed il trasporto solido litoraneo (già oggi scarsissimo) sarà ulteriormente ridotto (APAT, 2007b).

CAPITOLO 2

Mutagenicità dei virus specie in rapporto alle variazioni ambientali

2.1 Proprietà dei virus

Un virus è una particella submicroscopica che necessita di una cellula ospite per la propria replicazione. Nella forma extracellulare, il virus è costituito da un acido nucleico, circondato da proteine, ed occasionalmente sono presenti altre componenti molecolari (es. enzimi), l'insieme di acido nucleico e proteine è definito nucleocapside del virus. Alcuni virus possiedono strutture più complesse, come nel caso dei virus con involucro (envelope), nei quali il nucleocapside è rivestito da una membrana, generalmente costituita da un doppio strato lipidico associato a proteine virus-specifiche.

In tale forma la particella virale, definita virione, è metabolicamente inerte e non esplica, cioè, né funzioni respiratorie o biosintetiche. Solo nello stato intracellulare può avvenire la replicazione del genoma e la sintesi delle componenti proteiche. Il processo attraverso cui il genoma virale viene introdotto e replicato nella cellula ospite è definito infezione. Il virus utilizza il macchinario metabolico e le risorse della cellula ospite per la propria replicazione, per la sintesi delle proteine e assemblaggio delle particelle virali. Queste ultime possono essere liberate attraverso la distruzione della cellula ospite (lisi cellulare), in altri casi il genoma virale si integra al DNA della cellula ospite, e viene replicato insieme a questo ad ogni ciclo di divisione cellulare, anche per molte generazioni (lisogenia, molto frequente nei virus batterici).

Nei virus il materiale genetico può essere costituito sia da DNA che RNA; inoltre questo può essere a doppio o singolo filamento. Quindi in base al tipo di materiale genetico (DNA o RNA) i virus vengono suddivisi in due gruppi principali; tutti i virioni contengono uno o l'altro acido nucleico, ma non tutti e due contemporaneamente. Esiste, tuttavia, un terzo gruppo di virus che può utilizzare come materiale genetico sia DNA che RNA, ma in diversi stadi del ciclo replicativo. Ad esempio, i retrovirus sono virus a RNA ma si replicano attraverso un intermedio a DNA, al contrario gli epandnavirus (virus dell'epatite B) sono virus a DNA con un intermedio a RNA. La caratteristica del genoma di essere a doppio o singolo filamento determina una ulteriore suddivisione di questi gruppi.

Fasi dell'infezione virale:

1) Attacco: adsorbimento del virione alla cellula ospite sensibile attraverso l'interazione tra proteine virali e recettori specifici presenti sulla superficie cellulare dell'ospite.

- 2) Penetrazione del virione o del materiale genetico all'interno della cellula.
- 3) Fasi replicative veloci: modificazione dell'attività biosintetica della cellula e sintesi di enzimi virus-specifici (proteine precoci). Affinché possano essere sintetizzate nuove proteine virus-specifiche, è prima necessario che siano sintetizzate delle nuove molecole di RNA virus – specifiche. Come il virus induca la sintesi di nuovo RNA dipende dal tipo di genoma (DNA o RNA, a singolo o doppio filamento).
- 4) Replicazione del genoma virale.
- 5) Sintesi delle subunità proteiche (proteine tardive) del capsido virale
- 6) Assemblaggio delle subunità proteiche del capsido e impacchettamento del genoma nelle nuove particelle virali.
- 7) Rilascio virioni maturi e lisi della cellula.

I virus possono essere classificati, oltre che dal materiale genetico e dalla presenza/assenza dell' involucri, anche in base alla natura dell'ospite infettato. Si possono distinguere virus che infettano cellule vegetali, animali e batteriche, in quest'ultimo caso si parla di batteriofagi. L'interazione fra virus e ospite è altamente specifica. Ogni virione presenta esternamente una o più proteine che interagiscono con componenti della membrana cellulare, definiti recettori. I recettori virali sono normali componenti della superficie cellulare dell'ospite, come proteine, polisaccaridi o complessi di proteine e polisaccaridi, a cui il virione si attacca (Brock et al, 2002).

Virus Animali

Le differenze nella struttura cellulare tra cellule animali (eucariotiche) e cellule batteriche (procariotiche) implica delle differenze nella modalità di replicazione dei virus. Nei virus animali le fasi dell'infezione avvengono in due compartimenti separati, il nucleo e citoplasma, mentre per i batteriofagi tutto si svolge nel citoplasma, in quanto nelle cellule batteriche il materiale genetico non è fisicamente separato dalle altre componenti cellulari. Inoltre, i virus animali molto spesso penetrano interamente all'interno della cellula per endocitosi, mentre nelle cellule batteriche, il capsido del virus resta al di fuori della cellula ed entra solo l'acido nucleico.

I virus animali vengono generalmente classificati in base alla presenza o assenza di involucro, dalla natura del genoma e per alcune famiglie, per le modalità di replicazione.

Le conseguenze delle infezioni virali nelle cellule animali:

- 1) Infezione litica, si conclude con la lisi cellulare e la liberazione dei virioni.

2) Infezione persistente, causata soprattutto da virus ad involucro, in cui il rilascio delle particelle virali avviene attraverso un processo di gemmazione cellulare; in questo modo la cellula è mantenuta in vita e continua a produrre virus per lunghi periodi di tempo.

3) Infezione latente, il virus entra in uno stato di latenza e i sintomi dell'infezione si manifestano in ritardo, quando il virus torna nuovamente attivo.

Il genoma virale è soggetto a mutazioni spontanee o indotte da diversi agenti chimici e fisici, che portano alla formazione di nuovi ceppi virali con proprietà differenti dal virus parentale. Con il termine mutazione si intende una variazione ereditabile della sequenza di basi dell'acido nucleico di un organismo, cioè le modificazioni della sequenza genetica possono determinare cambiamenti nella struttura fondamentale di componenti virali quali enzimi replicativi e regolatori, proteine del capsido, recettori virali ecc., e conseguentemente delle proprietà del virus come il riconoscimento della cellula ospite, il processo di adsorbimento oppure la resistenza a farmaci antivirali. In ogni infezione virale, un piccolo numero di virus si replica producendo milioni di nuovi virioni. In questa popolazione, inevitabilmente si verificano errori nella replicazione (copiatura) degli acidi nucleici. Questi errori di copiatura sono le mutazioni. La frequenza di mutazioni (frequenza con cui una specifica mutazione compare all'interno di una popolazione) è più elevata nei virus a RNA rispetto a virus a DNA, poiché le RNA polimerasi-RNA dipendenti (enzima che catalizza la sintesi di un filamento di RNA a partire da un filamento stampo di RNA, nel processo denominato trascrizione) e le trascrittasi inverse (DNA polimerasi-RNA dipendente, enzima che catalizza la sintesi di un filamento di DNA a partire da un filamento stampo di RNA) sono molto meno precise, di un fattore di circa 10^6 (Dulbecco e Ginberg, 1993). Quindi, nei virus a RNA, tra i quali gli appartenenti alle famiglie di *Reoviridae*, *Caliciviridae*, *Astroviridae*, *Picornaviridae*, *Rhabdoviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Togaviridae*, *Coronaviridae*, *Retroviridae*, *Paromyxoviridae*, sono più frequenti errori nella trascrizione, che determinano mutazioni nel genoma di virus di nuova sintesi.

Le modificazioni genetiche spontanee si verificano anche per ricombinazione genetica in caso di co-infezioni di più ceppi virali (molto frequente nei virus a RNA segmentato, come reovirus e orthomyxovirus). La ricombinazione genetica è il processo attraverso il quale elementi genetici presenti in due genomi diversi, vengono a trovarsi in un'unica unità genetica, ovvero quando due diversi virus infettano simultaneamente la stessa cellula, è possibile che tra le molecole di acidi nucleici di nuova sintesi avvengano scambi di sequenze genetiche che generano nuovi ceppi virali con proprietà differenti.

Mentre la mutazione introduce cambiamenti di lieve entità, la ricombinazione genetica è in grado di apportare modificazioni più rilevanti.

I virus animali non sono in grado di moltiplicarsi al di fuori dell'ospite, in quanto necessitano dell'apparato citoplasmatico e nucleare delle cellule eucariotiche animali per la propria replicazione. Per questo motivo, i virus potenzialmente patogeni per l'uomo che possono trovarsi nell'ambiente acquatico, derivano principalmente da contaminazione fecale (Muscillo et La Rosa, 1995).

I virus enterici appartengono principalmente alle famiglie di *Adenoviridae*, *Caliciviridae* (Norwalk virus, astrovirus, calicivirus, Snow Mountain agent e small round structured viruses), *Picornaviridae* (poliovirus, coxsachievirus, enterovirus, virus dell'epatite A) e *Reoviridae* (reovirus e rotavirus) (Griffin et al., 2003). Tali virus sono caratterizzati dall'abilità di infettare il tratto respiratorio e gastrointestinale dell'uomo, sono in oltre in grado di replicarsi bene anche in altri organi (es. cervello, cuore, ecc..) (Muscillo et La Rosa, 1995) e vengono escreti attraverso le feci in gran numero. I virus enterici sono associati ad un'ampia gamma di malattie umane tra cui infezioni oculari e respiratorie, gastroenteriti, epatiti, miocarditi e meningiti asettiche. Gli anziani, i bambini e gli immunodepressi sono i soggetti più suscettibili e possono sviluppare molto spesso gravi infezioni. (Griffin et al., 2003). Poiché questi virus sono caratterizzati da una circolazione prevalentemente asintomatica, vi è una grave sottostima della loro diffusione nell'uomo e nell'ambiente (Muscillo et al., 2008). Per molti virus enterici la dose minima infettante è molto bassa, nell'ordine di 1-100 unità, ma la concentrazione di virus rilasciati nell'ambiente attraverso le escrezioni di persone infette è molto alta, generalmente 10^5 - 10^{11} particelle virali per grammo di feci (Fong and Lipp, 2005). Per i rotavirus si stima che vengano rilasciate 10^{10} particelle/g, per il virus dell'epatite A 10^8 particelle/g e per gli enterovirus 10^6 particelle/g (Griffin et al., 2003). Una volta eliminati attraverso le feci, i virus arrivano nelle acque fognarie, e potendo spesso resistere ai normali processi di depurazione e disinfezione, provocano la contaminazione delle acque marine attraverso i fiumi e gli scarichi afferenti. La presenza di virus enterici nelle acque di scarico, va da $1,82 \times 10^2$ /L a $9,2 \times 10^4$ /L negli scarichi non trattati e da $1,0 \times 10^{-3}$ /L a $1,0 \times 10^2$ /L per gli scarichi sottoposti a trattamento di depurazione (Griffin et al., 2003). In ambiente marino la concentrazione di tali particelle si riduce sensibilmente per effetto della diluizione (da 0,01-10 fino a 10^2 /L), tuttavia la presenza di questi agenti infettanti in qualsiasi tipo di acqua destinata al consumo umano o ad attività ricreativa è un importante problema di sanità pubblica, poiché la dose minima infettante è molto bassa (da 1 a 10 particelle) se

confrontata con quella di altri patogeni umani (es. *Salmonella* 105-107 organismi, *Shigella* 10-100 organismi) (Gandolfi C., 2003).

I virus sono peculiari agenti di rischio microbiologico ambientale poiché: hanno una bassa carica infettante, possono causare infezioni asintomatiche, possono sviluppare nell'ospite un'immunità breve, presentano una elevata variabilità genetica, sono eliminati in gran numero, hanno molteplici vie di trasmissione e una elevata resistenza ambientale e ai trattamenti di disinfezione (Muscillo, 2007).

2.2 Fattori climatici e loro influenza sui virus

I virus enterici sopravvivono a lungo nelle acque superficiali e, molto spesso, sono più resistenti dei batteri ai normali trattamenti di bonifica delle acque. Molti fattori possono influenzare la sopravvivenza di tali virus: la temperatura, le radiazioni solari, l'associazione con particelle solide e sedimenti, pH e la salinità.

TEMPERATURA

La temperatura è il fattore più importante: i reovirus sono stati isolati lungo le coste italiane solamente nei mesi autunnali ed invernali, ciò indica che la temperatura della superficie dell'acqua gioca un ruolo chiave nella sopravvivenza dei virus enterici nell'ambiente marino (Aulicino et al., 2000). In molti studi è stato riportato come i virus enterici sopravvivono più a lungo e vengono, quindi, trovati più frequentemente alle basse temperature nell'ambiente naturale. Le elevate temperature, come quelle registrate in estate nel Mar Mediterraneo dai 25 ai 30°C, possono danneggiare il capsido o l'acido nucleico virale, tali danni potrebbero impedire l'adsorbimento del virus al suo ospite ed inattivare gli enzimi necessari alla propria replicazione (Fong and Lipp, 2005).

La sopravvivenza dei reovirus nell'ambiente è notevole, studi di laboratorio riportano che in acqua superficiale, a una temperatura compresa tra 9 e 15°C va oltre i 200 giorni. Per i rotavirus la sopravvivenza nelle acque di estuario a 20 °C è di 3-14 giorni (Muscillo e La Rosa, 1995). Per quanto riguarda i poliovirus la sopravvivenza a 18 °C è di 256 giorni, mentre a 4 °C è di 550 giorni (Muscillo e La Rosa, 1995). In un ulteriori studi di sopravvivenza di virus in mare, è stato osservato che l'inattivazione del 90% di poliovirus e parvovirus avveniva in 1-3 giorni a temperature elevate, in confronto a 10 giorni di sopravvivenza a temperature più basse. Il range di temperature di questo studio andava dai 6 ai 28°C (Wait and Sobsey, 2001). Il virus poliovirus-1 sopravvive in acqua di mare a 18-22 °C per 10-72 ore, a 4-5°C per 158-170 ore e l'epatite A ad una temperatura

di 18-22°C per 72-672 ore. Per gli astrovirus i tempi di sopravvivenza a 18-22°C e 4-5°C sono rispettivamente 384-432 ore e 648-720 ore (CIESM, 2004). In acqua di mare, occorrono 671 giorni a 4 °C per inattivare il 90% di poliovirus e virus dell'epatite A, solo 25 giorni a 25 °C (Fong and Lipp, 2005). Gli enterovirus sopravvivono meglio a temperature moderate (22 °C) che a temperature elevate (30°C), l'acido nucleico di questi virus persiste per un tempo più lungo in mare (più di 60 giorni) rispetto all'intera particella virale attiva (minore di 51 giorni). Calicivirus di mammiferi marini rimangono vitali per oltre 14 giorni a temperature di 14 °C. In saggi di colture cellulari, basati su calicivirus felini, virus ancora infettivi venivano isolati per oltre 30 giorni a temperature uguali o inferiori ai 10°C (Griffin et al., 2003). Rotavirus e particelle ricombinanti di rotavirus sospese in acqua di mare a 20°C sono stati trovati per oltre un mese (Caballero et al., 2004). Le particelle ricombinanti VLP2/6 mostrano la stessa stabilità in acqua di mare dei rotavirus, quindi possono essere utilizzate come surrogato per studiare la sopravvivenza dei rotavirus in ambiente marino (Loisy et al., 2004). Coxsackievirus possono rimanere vitali per molti anni a temperature estremamente basse (da -20 a -70 °C), per settimane a 4 °C, ma perdono la loro infettività all'aumentare della temperatura (Pond K., 2005). I differenti tempi di sopravvivenza dipendono dal tipo di virus, dal metodo di campionamento usato e dalle condizioni ambientali del sito di campionamento (stagione, irradianza, temperatura, profondità, ecc...) (CIESM, 2004).

L'aumento globale della temperatura delle acque di costa, incrementa la sopravvivenza dei batteri patogeni. Per quanto riguarda i virus, questi sopravvivono e rimangono infettivi più a lungo a temperatura più basse. Ma indirettamente l'aumento della temperatura potrebbe in parte prolungare la sopravvivenza dei virus, accelerando fenomeni quali l'eutrofizzazione. L'eutrofizzazione culturale è causata dall'eccessivo apporto di nutrienti provenienti da attività antropiche, che determina un aumento dell'attività biologica dei sistemi acquatici, principalmente sottoforma di fioriture algali. La crescita delle alghe, favorita da disponibilità di nutrienti e temperature elevate, a sua volta incrementa la concentrazione di sostanza organica particolata in sospensione e quindi la torbidità dell'acqua. Proprio la torbidità delle acque di costa potrebbe proteggere le particelle virali dall'azione inattivante di radiazioni ultraviolette e della temperatura stessa.

Gli ulteriori effetti del Global Warming sono l'aumento della frequenza di precipitazioni violente, tempeste e inondazioni. Eventi di forti piogge portano a gravi problemi, quali il dilavamento dei terreni, la fuoriuscita di acque reflue e trattate e non, e una crescente contaminazione fecale degli ecosistemi costieri (CIESM, 2007).

RADIAZIONI SOLARI

L'effetto della luce solare sui virus non è ancora stata ben documentata come nei batteri. Poiché i saggi con enterovirus sono molto spesso costosi e necessitano di tempi lunghi di realizzazione, sono stati utilizzati per questo genere di esperimenti principalmente colifagi, batteriofagi F-RNA specifici (F- RNA), batteriofagi F-DNA specifici (F-DNA) (indicatori di inquinamento fecale) e la comunità naturale di batteriofagi marini (Sinton et al, 1999).

I raggi UVB (280-320 nm) che raggiungono la superficie terrestre, possono penetrare a considerevoli profondità nell'acqua di mare e causare danni significativi ad una varietà di microrganismi marini compresi i virus. Sebbene, si ipotizza che le radiazioni UVB siano la principale componente dello spettro della luce solare ad inibire le attività biologiche, anche lunghezze d'onda maggiori come UVA (320-400 nm) e radiazioni utili alla fotosintesi (da 400 a 700 nm) potrebbero anche causare danni agli organismi viventi (Weinbauer et al., 1997). L'effetto della luce solare su la vitalità di batteriofagi nell'acqua di mare è proporzionale alla densità della luce solare stessa. L'inattivazione indotta dalla luce solare è significativa fino a 200 m nelle acque chiare oceaniche, mentre nelle acque torbide degli estuari e delle coste, un modesto effetto si ha fino ad una profondità di 2,5 m. Probabilmente, lunghezze d'onda inferiori a 320 nm (UVB) hanno un grande effetto viricida sui batteriofagi marini, aumentando di 2/3 il tasso di decadimento. L'eliminazione dei raggi UVB o una riduzione del 20% della luce incidente sulla superficie del mare, ha comunque un effetto significativo sul tasso di decadimento, se confrontati con saggi di controllo al buio. Recentemente uno studio di popolazione naturale di cianofagi del Golfo del Messico ha messo in evidenze come i raggi UVA (320-400 nm) hanno un grande impatto sull'inattivazione di questo gruppo di virioplankton. Comunque, il coinvolgimento di lunghezze d'onda superiori a 400 nm nell'inattivazione di fagi marini non è stata ancora dimostrata (Wommak and Colwell, 2000).

Come per la temperatura, l'attività antivirale delle radiazioni ultraviolette è ridotta dall'aumento di particelle organiche e inorganiche in sospensione. Infatti i virus sono meno stressati dai raggi UV negli strati d'acqua più profondi o nelle acque torbide di costa piuttosto che nelle acque chiare (CIESM, 2007).

ASSORBIMENTO AI SOLIDI SOSPESI E SEDIMENTI

I sedimenti marini costituiscono una riserva di virus e li proteggono dall'azione inattivante della temperatura e UV, dall'antagonismo microbico e dall'azione di

disinfettanti (Croci e Suffredini, 2003). Enterovirus associati con il sedimento rimangono infettivi per 19 giorni rispetto ai 9 giorni per gli enterovirus non associati in particelle (Griffin et al., 2003). Gli enterovirus e il virus dell'epatite A possono essere trovati per circa un anno nei sedimenti nelle immediate vicinanze di uno scarico, anche se la concentrazione di questi virus raggiunge il picco stagione invernale. Durante l'estate, gli enterovirus non più presenti nella colonna d'acqua, sono stati isolati nei sedimenti fino a 23 Km di distanza dal punto di immissione (Fong and Lipp, 2005). La capacità dei virus di formare aggregati formati da 2-10 unità virali definite "Clumps", conferisce alle singole particelle virali una maggiore resistenza alle condizioni ambientali avverse. Inoltre il grande potenziale di adsorbimento nei confronti di qualsiasi tipo di materiale particolato (organico e inorganico), come particelle argillose, silicati, batteri, cellule algali e particolati organici aumenta i tempi di sopravvivenza dei virus nelle acque di estuario e nei sedimenti spesso grazie alla formazione di una vera e propria barriera fisica (Gandolfi C., 1996).

Un studio del 2001 (Abad et al., 2001) ha messo in evidenza la persistenza degli astrovirus su substrati inerti (fomites) dopo una fase di disidratazione. Tali virus venivano prima fatti assorbire su una superficie liscia e una porosa, e la sopravvivenza veniva saggiata a 4°C e 20°C ad un elevato valore di umidità relativa. Gli astrovirus, una volta disidratati sul materiale inerte, hanno mostrato una grande capacità di persistenza specialmente alle basse temperature. Se confrontati con i tempi di sopravvivenza di altri virus enterici, gli astrovirus persistono più a lungo di poliovirus e adenovirus, al contrario mostrano tempi di sopravvivenza più brevi di rotavirus e virus dell'epatite A (HAV). Gli astrovirus sono in grado di sopravvivere su superfici inerti abbastanza a lungo da suggerire che queste possono divenire veicolo di contaminazione secondaria di malattie virali.

Le maggiori fonti di contaminazione microbiologica dell'ambiente marino sono gli scarichi di acque reflue, le acque di dilavamento del terreno, le inondazioni, le infiltrazioni nelle acque sotterranee e lo scarico di fiumi (CIESM, 2007). Le precipitazioni accrescono la densità di agenti microbiologici nell'acqua di superficie e, conseguentemente il rischio associato al suo consumo. Negli Stati Uniti nel periodo 1948-1994 è stata osservata una associazione positiva, dal punto di vista statistico tra malattie gastrointestinali e precipitazioni (APAT, 2007a).

Il cambiamento climatico globale sta incrementando la frequenza di eventi estremi come forti piogge, tempeste, inondazioni e ciò determina anche un aumento della contaminazione delle acque (CIESM, 2007). A seguito di questi eventi meteorologici i sedimenti marini vengono smossi, ed i patogeni rilasciati nella colonna d'acqua in

particolare in aree come lagune e porti. Gli ambienti lagunari del Mar Mediterraneo sono particolarmente vulnerabili all'accumulo di patogeni. Questi infatti sono caratterizzati da un lungo periodo di resilienza delle acque unito alla ricezione di un elevato carico di reflui e acque poco profonde. L'accumulo di particelle biotiche e abiotiche in questi sistemi potrebbe favorire un rapido insediamento di organismi patogeni attraverso l'assorbimento o l'adesione attiva e la conseguente sedimentazione. I sedimenti di costa potrebbero agire quindi come riserva temporanea di patogeni, i quali potenzialmente potrebbero ulteriormente essere mobilitati dalla risospensione dei sedimenti stessi (CIESM, 2004).

pH

In ambiente, i virus enterici possono sopravvivere in un ampio range di pH, da pH 3 a pH 10 (Fong and Lipp, 2005). I virus sono stabili in ambiente acido, ciò permette loro di sopravvivere nel tratto gastrointestinale, Norwalk virus e il virus dell'epatite A restano attivi anche se esposti a pH 3 (Seymour and Appleton, 2001). Per quanto riguarda il pH, i bassi valori favoriscono l'assorbimento dei virus al sedimento, mentre alti valori di pH l'eluizione. Un'elevata concentrazione di sostanza organica solubile nelle acque di scarico compete con i virus per i siti di legame alle particelle del suolo, ciò determina un decremento dell'assorbimento virale, o perfino la liberazione dei virus precedentemente assorbiti. Quindi elevate concentrazioni di cationi (ioni con carica positiva) tendono ad aumentare la ritenzione dei virus (Metcalf et al., 1995).

Un terzo della CO₂ prodotta da attività umana è assorbita dagli oceani e dai mari. Se questo processo continua i mari diventeranno sempre più acidi (CIESM, 2007). Una diminuzione di pH dell'acqua di mare potrebbe determinare la scomparsa di specie sensibili e la sopravvivenza di quelle più tolleranti, tra cui i virus. Come detto i bassi valori di pH favoriscono l'adsorbimento di virus ai sedimenti marini, che costituiranno un continua fonte e riserva di virus.

SALINITA'

La salinità non sembra avere un effetto diretto sulla sopravvivenza dei virus, in alcuni studi è stata comunque riportata l'inattivazione di indicatori fecali ad elevati valori di salinità (Fong and Lipp, 2005). In normali condizioni ambientali la salinità e il pH non sembrano avere effetti diretti sulla sopravvivenza dei virus, ma potrebbero avere effetti indiretti modificando l'interazione dei virus con il particolato in sospensione (Seymour and Appleton, 2001).

Le acque del Mar Mediterraneo stanno diventando sempre più salate, in quanto aumenta il tasso di evaporazione a causa dell'innalzamento della temperatura e diminuisce l'apporto di acqua dolce dai grandi fiumi per la diminuzione delle precipitazioni. Ma il verificarsi di piogge intense e violente, specie dopo periodi di siccità, ingrossa enormemente il corso dei fiumi, con il rischio di alluvioni e esondazioni. Questo grande volume d'acqua che giunge al mare diminuisce la salinità negli estuari ed aumenta la probabilità di sopravvivenza dei virus enterici. Un aumento delle precipitazioni stagionali diminuisce il valore della salinità degli estuari ed aumenta la probabilità di trovare enterovirus vitali. Uno studio di tre anni consecutivi sulle coste francesi indica che la presenza di virus (enterovirus, HAV, Norwalk virus, astrovirus e rotavirus) nei molluschi usualmente coincide con l'incidenza di malattie umane ed episodi di precipitazioni (Griffin et al, 2003).

CAPITOLO 3

Variazione ecosistemica come co-fattore di induzione e mantenimento delle mutazioni virali

3.1 Impatti antropici e climatici sugli ecosistemi costieri del Mediterraneo

La produzione di acque reflue dalle città di costa è uno dei maggiori problemi del di inquinamento nel Mar Mediterraneo. Questo tipo di impatto sull'ambiente influenza direttamente o indirettamente la salute umana, la stabilità degli ecosistemi marini e l'economia delle zone di costa (ad esempio la pesca e il turismo). La situazione è esacerbata dalla rapida crescita della popolazione di molte città litoranee, specialmente lungo le coste meridionali del Mediterraneo. Spesso solo una parte della popolazione urbana è collegata ad un sistema di raccolta delle acque di scarico, per il resto i reflui vengono scaricati direttamente in mare senza nessun trattamento. I maggiori inquinanti presenti nelle acque di scarico sono: sostanza organica, solidi sospesi, nutrienti (fosforo e azoto) e microrganismi patogeni. Inoltre potrebbero essere presenti anche metalli pesanti, petrolio e idrocarburi clorinati (EEA, 2006a).

La popolazione residente stabilmente nell'area costiera del Mar Mediterraneo è dell'ordine di 150 milioni di persone, in estate questa cifra tende a raddoppiare per l'enorme afflusso turistico. Lungo la costa sono presenti circa 601 città con più di 10.000 abitanti (circa 58.7 milioni di persone) distribuite in 19 nazioni. Il 69% di queste città opera trattamenti di depurazione delle acque, il 21% non possiede impianti, nel 6% delle città gli impianti sono in fase di costruzione mentre per il 4% gli impianti sono fuori uso per varie ragioni. Il trattamento secondario² è il più diffuso (55%), mentre il 18 % degli impianti effettua solamente il trattamento primario. Nel bacino del Mediterraneo la distribuzione degli impianti non è uniforme, infatti la maggior parte della popolazione collegata a collettori ed impianti di depurazione si trova lungo la costa europea. (EEA, 2006a). Anche in Europa si possono trovare situazioni differenti. Prima del 1990 un ampio

² Sistemi di trattamento urbano delle acque di rifiuto.

Trattamento primario: Separazione delle sostanze solide di grandi dimensioni e sedimentazione di ghiaia, sabbia e sostanze organiche in sospensione.

Trattamento secondario: Degradazione biologica dei composti organici disciolti attraverso la decomposizione batterica in presenza di ossigeno e disinfezione mediante cloro o raggi ultravioletti.

Trattamento terziario: Rimozione dall'effluente di fosforo e azoto mediante fitodepurazione o precipitazione con determinati composti chimici (Cunningham et al., 2003).

volume di effluenti provenienti da fonti urbane, industriali e agricole veniva scaricato senza trattamenti nei corpi idrici, causando l'inquinamento delle acque superficiali e sotterranee. Dopo il 1990, questo carico inquinante è diminuito anche grazie all'introduzione di tecniche di monitoraggio della qualità ambientale e al miglioramento degli impianti di depurazione, anche se ancora nella maggior parte delle regioni rurali il collegamento alle reti fognarie è molto basso. Nel 2002 il 90% della popolazione dei 25 paesi aderenti all'Unione Europea era collegata alla rete fognaria. Esistono comunque alcune differenze regionali, nel nord e centro Europa più del 90% della popolazione è collegata ad impianti di depurazione, la maggior parte dei quali effettua il trattamento terziario, mentre nell'Europa meridionale e orientale la percentuale di connessione alla rete fognaria varia dal 50 a 80% ed i reflui vengono sottoposti a trattamenti primari e secondari. Ancora nel 2002 grandi città come Milano, Barcellona e Bucarest effettuavano trattamenti parziali o nessun tipo trattamento alle acque di scarico (EEA, 2007a).

Lungo le coste del Mediterraneo sono stati identificati 131 punti critici (hot spot), questi sono sia fonti di inquinamento sia aree di costa già inquinate che possono causare di problemi alla salute umana, all'ecosistema, alla biodiversità e all'economia. Per il 26% dei siti il carico inquinante è di origine urbana, per il 18% industriale e per il 56 % è misto (urbano, industriale e agricolo)(EEA,2006a).

Come detto nel capitolo precedente gli ambienti lagunari nel Mare Mediterraneo sono particolarmente vulnerabili all'accumulo di patogeni, a causa dell'elevato carico inquinate che ricevono, per la limitata profondità del mare e per lungo periodo di resilienza delle acque (CIESM, 2004). L'aumento della temperatura superficiale delle acque di costa favorisce il fenomeno dell'eutrofizzazione e il conseguente aumento di materiale particolato in sospensione che conferisce protezione ai virus patogeni prolungando così la loro sopravvivenza in mare (CIESM, 2007). Inoltre eventi estremi come piogge violente, tempeste e inondazioni accrescono la contaminazione fecale degli ambienti di costa a causa del dilavamento dei terreni circostanti, la fuoriuscita di acque reflue dagli impianti di depurazione e sospensione dei sedimenti marini (CIESM, 2007). Variazioni nella frequenza e ed intensità delle precipitazioni e un decremento della disponibilità e qualità delle acque superficiali, potrebbe aumentare nella popolazione umana il rischio di contrarre malattie legate al consumo di acqua e alimenti (Rose et al., 2001).

3.2 Malattie emergenti

Vengono definite patologie infettive emergenti le infezioni che compaiono per la prima volta in una popolazione per la comparsa di un nuovo microrganismo (ad esempio *E. coli* O157:H7 negli USA), o patologie già esistenti che per svariati motivi, subiscono un improvviso incremento dell'incidenza o della diffusione geografica in aree dove prima non erano presenti (*C. parvum*, *Legionella*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, genere *Calicivirus*, in USA, Canada e Europa). Malattie riemergenti sono invece quelle infezioni che, dopo un periodo variabile di scomparsa in un territorio, ricompaiono con maggiore rilevanza (*G. duodenalis* nei paesi industrializzati) (Carraro et al., 2004).

I virus emergenti generalmente hanno una fonte identificabile, spesso sono virus animali o umani esistenti, che hanno avuto l'opportunità di infettare nuovi ospiti. Le malattie virali emergenti possono svilupparsi attraverso due tappe fondamentali: 1) l'introduzione dei virus nel nuovo ospite e, 2) La "adozione" dell'agente infettivo da parte del nuovo ospite, con conseguente stabilizzazione e diffusione nella popolazione. Il passaggio dalla fase 1 alla 2 può avvenire rapidamente, dopo un lungo lasso di tempo o non avvenire affatto, e ciò dipende dalla natura ed evoluzione del virus e dalle condizioni ecologiche. Nel passaggio alla fase 2 può verificarsi una rapida evoluzione che include cambiamenti nella virulenza e tropismo dei tessuti. I cambiamenti ambientali e sociali possono accelerare questo "viral traffic", con un conseguente aumento di malattie emergenti. Questi fattori combinati con la continua evoluzione delle varianti virali, fanno sì che le malattie emergenti continueranno ad apparire e probabilmente ad aumentare (Morse, 1997). I virus, in particolare i virus a RNA e a RNA segmentato, sono soggetti a frequenti mutazioni e riassorbimenti genetici, ed hanno quindi maggiore probabilità di emergere come nuovi patogeni (WHO, 2004)

I fattori maggiormente associati alla comparsa di infezioni idrodifuse emergenti e riemergenti sono:

- Cambiamenti demografici: Un fattore importante è rappresentato dalla tendenza all'invecchiamento delle popolazioni, che si sta verificando nei paesi industrializzati e che ha portato all'aumento del numero di soggetti suscettibili a potenziali patogeni. Anche l'incremento nella popolazione, legato all'aumento della speranza di vita, dell'incidenza e della prevalenza di patologie e condizioni associate a immunosoppressione (malattie ereditarie, infezione da HIV, trapianti d'organo, trattamenti immunosoppressivi per patologia cancerosa e reumatoide, ecc.) aumenta la suscettibilità ad infezioni da parte di microrganismi che non causano malattia nei soggetti immunocompetenti. Infatti, i soggetti

immunodepressi hanno un maggiore rischio di ammalarsi e di morire per gastroenteriti diarroiche (Carraro et al., 2004). Nei paesi in via di sviluppo, il tasso di crescita e l'urbanizzazione sono in aumento. I questi paesi, le città e i sobborghi sono caratterizzati spesso da un'elevata densità di popolazione, scarsi servizi sociali e sanitari e una ridotta disponibilità delle risorse idriche. Le condizioni sociali e l'ambiente insalubre che caratterizzano queste aree, possono portare all'emergere e alla rapida diffusione di malattie infettive (WHO, 2003).

- Cambiamenti climatici: Come detto, le precipitazioni e la frequenza di eventi piovosi di forte intensità sono frequentemente associati ad epidemie idrodifuse causate da microrganismi a trasmissione oro-fecale. In particolar modo, si è osservata una maggiore diffusione nell'ambiente di alcuni batteri (*Campylobacter*, ecc.), virus (genere *Calicivirus*, ecc.) e protozoi (*Cryptosporidium*, *Giardia*), considerati per tale ragione patogeni "emergenti". (Carraro et al., 2004). Ma anche una diminuzione delle precipitazioni diminuisce il flusso d'acqua dei fiumi riducendo la diluizione degli effluenti provenienti dagli impianti di depurazione e aumentando il carico dei patogeni nei corsi d'acqua (IPCC, 2007b).

- Cambiamenti ecologici: legati allo sviluppo economico ed agricolo sui territori come disboscamento, fertirrigazione, riuso delle acque in agricoltura, eutrofizzazione, allevamenti intensivi, hanno comportato continui cambiamenti a livello degli ecosistemi, andando ad influire anche sulla diffusione dei microrganismi (Carraro et al., 2004). Il cambiamento delle condizioni ecologiche, spesso dovuta a fattori umani, può mettere in contatto l'uomo con i virus presenti nell'ambiente (Morse, 1997)

Altri aspetti importanti per la diffusione dei patogeni sono rappresentati anche dall'intensificazione del commercio e dei viaggi internazionali, dal turismo ma anche dalle guerre, povertà e denutrizione.

3.2.1 Virus enterici emergenti

I *Norovirus*, appartenenti alla famiglia dei calicivirus, sono riconosciuti come una causa di gastroenterite sia sporadica che epidemica di crescente importanza in tutto il mondo, essendo ritenuti il secondo agente causale di gastroenterite acuta infantile e i responsabili sino ad oltre la metà degli episodi epidemici di vomito-diarrea per tutte le classi di età. (ISS, 2005b). Dal punto di vista genetico si possono distinguere 2 genogruppi (GI e GII) e più di 15 genotipi (ISS, 2005a). Al genogruppo GI appartengono: Norwalk virus (GI-1), Southampton virus (SOV; GI-2), Desert Shield virus (DSV; GI-3), e Valetta

virus (VLV; GI-4), mentre il genogruppo GII include Hawaii virus (GII-1), Melksham virus (GII-2), Mexico virus (GII-3) e Grimsby virus (GRV; GII-4) (Gallimore, 2004). La diversità genetica all'interno dei *Norovirus* è mantenuta grazie all'accumulo di mutazioni puntiformi derivanti da errori di replicazione del genoma a RNA e ricombinazione genetica (Gallimore, 2004).

Le epidemie che generalmente si susseguono in Europa sono attribuite al genotipo GII-4, queste presentano una elevata stagionalità poiché, normalmente, i picchi epidemici si verificano nella stagione invernale e per questo vengono definite “malattie invernali da vomito” (Lopman, 2003). Ma nel 2002, è stata identificata una nuova variante di GII-4 (con una consistente mutazione del gene della polimerasi) responsabile dell'aumento delle infezioni gastroenteriche in 9 nazioni Europee. In quattro di queste (Gran Bretagna, Germania, Olanda e Finlandia) sono stati registrati degli atipici picchi epidemici primaverili ed estivi. Questa nuova variante del virus si suppone sia più virulenta e più stabile nell'ambiente rispetto ad i ceppi precedenti (Lopman, 2004). Anche in Italia, tra la fine del 2004 e l'inizio del 2005, è stata isolata la nuova variante del virus GII-4, segno che anche il nostro paese rientra nell'ambito di circolazione di ceppi di *Norovirus* maggiormente attivi in ambito europeo (ISS, 2005b).

Il virus dell'epatite E (HEV) è una delle maggiori cause di epidemie acute e sporadiche in Asia, Africa e Messico dove è considerato endemico. I paesi industrializzati sono considerati non endemici e molte delle infezioni sono dovute all'importazione di questo virus, infatti la presenza di anticorpi anti-HEV nella popolazione di tali paesi varia da 1% al 5%. Ma negli ultimi anni, sono stati isolati alcuni ceppi di HEV associati a epatite acute e sporadiche nel Nord America ed Europa. Le analisi molecolari hanno mostrato che questi ceppi sono geneticamente divergenti da quelli presenti nei paesi endemici (Casares et al., 2003).

Anche gli enterovirus sono molto variabili dal punto di vista genetico, e le ricombinazioni all'interno e tra sierotipi diversi contribuisce alla loro grande diversità. L'evoluzione degli enterovirus si compie attraverso rapidi cambiamenti della sequenza genetica che codifica le proteine del capsido, ma anche della sequenza che sintetizza le proteine non strutturali. L'evoluzione di nuovi ceppi ricombinanti, forse potrebbero portare cambiamenti nell'associazioni e nella gravità delle malattie che si sviluppano in seguito ad infezioni da enterovirus (Simmonds and Welch, 2006).

3.2.2 Zoonosi virali idrodiffuse emergenti

Le zoonosi sono definite come quelle malattie e infezioni che possono essere trasmesse naturalmente tra animali ed esseri umani. Vi possono essere due tipi di zoonosi diretta e indiretta:

- Diretta: l'infezione è trasmessa dall'animale all'uomo per contatto diretto attraverso morsi, ingestione di tessuti animali e contatto con l'epidermide.
- Indiretta: trasmissione dell'agente patogeno dall'animale all'uomo attraverso un vettore o un mezzo (ad esempio aria, acqua) (WHO, 2004).

Le zoonosi virali idrotrasmesse potrebbero verificarsi con maggiore probabilità in aree in cui la contaminazione fecale animale delle acque è comune e le risorse idriche non sono sufficientemente protette e trattate. Affinché un virus possa divenire un agente zoonotico deve acquisire (a seguito di una mutazione) la capacità di attaccare, tramite le proteine presenti sul capsido, i recettori cellulari di più di una specie (WHO, 2004). E' inoltre essenziale che il virus, una volta rilasciato in acqua, attraverso le escrezioni fecali, sia abbastanza resistente da rimanere infettivo nell'ambiente. La capacità di sopravvivenza nell'ambiente esterno sembra dipendere più dalla struttura delle proteine del capsido più che dall'acido nucleico e dai fattori ambientali, e sembra che i virus enterici siano più resistenti nell'ambiente esterno rispetto ad altri virus trasmessi per via aerea o altro vie di contaminazione. Non ci sono ancora conferme di una trasmissione virale zoonotica all'uomo, comunque ci sono numerosi virus che potenzialmente potrebbero essere trasmessi tra le specie, e l'acqua servirebbe come veicolo in questi casi (WHO, 2004).

Ceppi inusuali di rotavirus isolati negli esseri umani suggeriscono una trasmissione da animali e le co-infezioni di campioni ambientali con differenti ceppi potrebbero aumentare il riassortimento e il riarrangiamento genomico (CIESM, 2004). In uno studio del 2003 (Villena et. al, 2003) è stata analizzata la presenza di rotavirus A nelle acque di scarico del Cairo (Egitto) e Barcellona (Spagna). Campioni positivi ai rotavirus A sono stati trovati in maggior numero al Cairo, ma nei campioni di entrambe le città è stata notata la presenza di ceppi non identificabili. In particolare nelle acque di scarico di Barcellona sono stati isolati due ceppi la cui origine animale (suina) o umana non è del tutto chiara. Molti rotavirus animali (di origine bovina e suina) vengono trovati nelle acque potabili. In Bangladesh sono stati riportati alcuni casi di isolamento di rotavirus riassortanti bovini-umani (virus che contengono segmenti genetici appartenenti all'uomo ed ai bovini) nei bambini, ciò suggerisce che una possibile co-infezione da virus umani e bovini potrebbe

essersi verificata in un ospite umano o animale. Questi virus comunque non si replicano nell'ospite umano e tendono a causare un'infezione breve e non invasiva.(WHO, 2004).

Il virus dell'epatite E presente nei maiali è strettamente correlato a quello umano. L'organizzazione genetica di HEV di origine suina presenta una similarità del 92% con il tipo umano (WHO, 2004). Se i ceppi umani provenienti da paesi endemici (Asia, Africa e Messico) sono divergenti geneticamente da quelli isolati in Nord America e Europa, ceppi umani e suini di una particolare regione geografica spesso appaiono molto più vicini dal punto di vista genetico (Casares et al., 2003). Il rischio di una trasmissione zoonotica, da maiale a uomo è molto basso, anche se non può essere del tutto escluso data l'elevata frequenza di mutazione che dimostrano avere i virus a RNA (ISS, 2005a).

Negli anni scorsi alcuni autori (Smith et al., 1998a) hanno messo in evidenza come calicivirus animali, presenti in mare, generino periodicamente malattie emergenti.

L'oceano è una riserva nella quale i Calicivirus animali sono presenti dai sedimenti marini a forme di vita che vanno dal plancton alle balene. I calicivirus sono responsabili di infezioni in numerosi ospiti quali pesci, uccelli, mammiferi marini e terrestri ed esseri umani. Il passaggio da ospiti marini a terrestri è testimoniato dall'epidemia di VES (vesicular exanthema of swine) che colpì i maiali negli allevamenti degli Stati Uniti tra il 1932 al 1959. Il responsabile di VES era di origine marina, ed è stato introdotto in ambiente terrestre somministrando ai maiali, come alimento, scarti di pesce crudo o poco cotto. Nel 1972, fu identificato il virus responsabile delle infezioni nei leoni marini, il quale era praticamente indistinguibile dal virus responsabile della VES nei maiali. I calicivirus sembrano avere una grande plasticità e possono diffondersi facilmente tra l'ambiente terrestre (rettili, anfibi, e mammiferi), marino (pinnipedi, cetacei, teleostei e forse molluschi filtratori) e l'aria (uccelli acquatici). In un solo studio (Smith et al., 1998b) è stato riportato il caso di infezione di un essere umano da parte di un calicivirus animale. Il virus, causa dell'infezione è stato identificato nel ceppo SMSV-5, precedentemente isolato nelle pinne del mammifero marino *Callorhinus ursinus*. In esperimenti di laboratorio tale ceppo è stato in grado di replicarsi sia in cellule di primati che in cellule umane.

CAPITOLO 4

Epidemiologia delle infezioni virali e vie d'esposizione: andamenti e nuovi rischi nel bacino del Mediterraneo.

4.1 Malattie idrotrasmesse

Si definiscono malattie virali idrotrasmesse tutte quelle patologie infettive dell'uomo e degli animali associate all'uso diretto o indiretto dell'acqua. I virus enterici sono sempre stati la causa principale delle malattie infettive associate al consumo di acqua contaminata da materiale fecale. Le epidemie di origine idrica, o tecnicamente “*waterborne disease*”, sono sicuramente sottostimate per mancanza di adeguati programmi di sorveglianza epidemiologica (Muscillo et al., 2008).

Si possono ulteriormente distinguere le malattie trasmesse direttamente dall'acqua (water-borne disease) e quelle trasmesse dal cibo (food-borne disease). Quest'ultime tuttavia dipendono a loro volta anche dalla qualità dell'acqua con cui la catena alimentare viene a contatto (prodotti ittici, agricoli, etc). Una seconda categoria sono le malattie water-washed diseases (infezioni correlate alla diffusione di microrganismi comunemente presenti sulla cute e sulle mucose), che comprendono le malattie infettive trasmesse attraverso la balneazione, nonché le malattie legate all'igiene, trasmesse attraverso il contatto, diretto o indiretto, con escrementi umani. Esse si risolvono in infezioni e infestazioni, reazioni dermatologiche e altre reazioni (APAT, 2007a).

La situazione relativa al rischio microbiologico associato all'acqua può essere diversa nei vari paesi, in relazione al fatto che l'epidemiologia delle patologie idrodifuse è influenzata dalla interazione di una serie di fattori che determinano condizioni che possono favorire o meno la diffusione attraverso l'acqua di microrganismi patogeni differenti in aree diverse. Tali fattori comprendono la presenza/assenza originaria di un microrganismo in un'area, le sue caratteristiche intrinseche (resistenza, infettività, dose infettante, ecc.), le condizioni climatiche che possono favorirne la sopravvivenza ed eventualmente la moltiplicazione.

La pressione che determina la selezione di specifici microrganismi patogeni idrodifusibili e la loro circolazione in un'area è dovuta alla presenza di sorgenti di contaminazione microbiologica e di attività antropiche che ne favoriscono la diffusione sul territorio, come la presenza di pascoli e la circolazione di animali selvatici, l'impiego di

fertilizzanti organici naturali in agricoltura, le modalità di trattamento e smaltimento dei reflui civili e degli allevamenti, il trattamento effettuato sulle acque destinate ad uso potabile, la qualità dell'acqua impiegata a scopo irriguo, ecc. Anche la morfologia del territorio e le condizioni meteorologiche dell'area sono fondamentali per la idrodifusione di microrganismi patogeni, in quanto possono favorire o meno, attraverso fenomeni di percolazione e dilavamento, la contaminazione delle risorse idriche superficiali e profonde. (Carraro et al., 2004).

Più di 100 organismi patogeni, tra virus, batteri e protozoi, possono trovarsi nelle acque contaminate e molti di questi generalmente sono implicati in un'ampia gamma di malattie legate al consumo di acqua e alimenti contaminati (Rose et al., 2001).

I virus responsabili di patologie legate all'acqua e al cibo possono essere divisi in tre gruppi:

- 1) Virus che causano gastroenteriti come ad esempio astrovirus, adenovirus enterici, e i due generi della famiglia dei calicivirus, Norwalk-like Virus (NLV) e Sapporo-like Virus (SLV).
- 2) Virus dell'epatite a trasmissione oro-fecale come il virus dell'epatite A (HAV) ed il virus dell'epatite E (HEV).
- 3) Virus che causano altri tipi di infezioni come gli enterovirus (Koopmans et al., 2002).

GASTROENTERITI VIRALI

Le infezioni gastroenteriche rappresentano una delle maggiori cause di morbosità sia nei paesi industrializzati che nei paesi in via di sviluppo (Dionisi et al., 2003). La frequenza di gastroenteriti viene generalmente sottostimata per differenti ragioni. Le gastroenteriti virali sono relativamente lievi e molte delle persone colpite non ricorrono a cure mediche, quindi la maggior parte dei casi non viene né studiata né registrata. Uno studio sulle malattie infettive intestinali condotto dal Dipartimento della Salute Inglese ha messo in evidenza che all'interno di una comunità, per ogni caso segnalato ai laboratori di sorveglianza, ce ne sono almeno 136 non riportati (Seymour and Appleton, 2001). L'importanza relativa dei differenti virus come causa di malattie legate all'acqua e al cibo non è del tutto conosciuta, ma chiaramente i Norwalk virus sono tra i maggiori responsabili delle epidemie virali e la loro incidenza nella popolazione sta aumentando in questi ultimi anni, comunque i maggiori casi riportati sono dovuti in parte anche al miglioramento delle tecniche diagnostiche (Koopmans et al., 2002).

Norwalk Virus

Il Norwalk virus fu identificato per la prima volta nel 1968 nei campioni di feci ottenuti nell'indagine epidemiologica effettuata in occasione di un'epidemia di gastroenterite scoppiata in una scuola elementare a Norwalk, Ohio (USA), località da cui poi prese il nome (Koopmans et al., 2002). Nonostante questa sia stata la prima scoperta di un virus specificatamente associato a gastroenterite, le ricerche sono progredite comunque molto lentamente a causa delle grandi difficoltà incontrate nella sua identificazione. Infatti, tale virus è stato raramente osservato al microscopio elettronico e non può essere amplificato in coltura cellulare o in modelli animali; successivamente sono stati distinti antigenicamente altri virus differenti dal Norwalk virus, indicati come "*small round structured virus*" (SRSVs) o "calicivirus umani classici". La confusione nella nomenclatura generata dalla consuetudine di associare il nome del virus al luogo della scoperta (es. Norwalk, Hawaii ecc.) o alla morfologia al microscopio elettronico (es. SRSV, classici calicivirus) è stata recentemente chiarita. Infatti, a partire dal 1990, le tecniche molecolari (clonaggio e sequenziamento, ecc.) hanno permesso di rivoluzionare la classificazione dei calicivirus. Ad oggi, sulla base delle diverse sequenze genomiche, l'International Committee on Taxonomy of Viruses ha modificato la nomenclatura dei calicivirus includendo 4 generi ("Norwalk-like virus" che comprende il Norwalk virus, "Sapporo-like virus", *Vesivirus* e *Lagovirus*). La trasmissione dei calicivirus è principalmente di tipo oro-fecale ed è stata stimata una dose minima infettante tra le 10 e le 100 particelle virali (Carraro et al., 2004).

Il periodo di incubazione del virus è compreso tra le 24 e le 48 ore ed i sintomi includono vomito, diarrea, dolori addominali, febbri lievi, mal di testa e mialgia (Prato et al., 2004). La malattia è considerata lieve e autolimitante, e generalmente ha una durata di 2-3 giorni. Ma in uno studio olandese (Rockx et al., 2002) è stato riportato che il 20% di persone infette da NLV i sintomi si sono prolungati per più di due settimane, suggerendo forse una maggiore severità delle infezioni da NLV. Sono stati segnalati casi anche di morte associati alle epidemie di NVL, ma l'associazione eziologia ha bisogno di essere dimostrata del tutto. Il virus viene eliminato attraverso le feci ed il vomito a partire dal periodo di incubazione per circa 10 giorni e forse di più. Le infezioni de Norwalk virus sono estremamente contagiose a causa dell'elevato tasso di trasmissione attraverso il contatto (Koopmans et al., 2002).

Negli ultimi anni sono state numerose le epidemie determinate da calicivirus trasmesse attraverso le acque potabili. Ad esempio, nel 1998 in Finlandia dai 1700 ai 3000

casi di gastroenterite sono stati associati al consumo di acqua potabile contaminata da Norwalk-like virus (genere appartenente alla famiglia dei calicivirus, di cui fa parte il Norwalk virus). Anche in Italia si è verificata recentemente un'epidemia causata da Norwalk-like virus: a luglio del 2000 presso un villaggio turistico a Taranto 344 persone, tra staff e turisti, sono state colpite da gastroenterite acuta. Il Norwalk-like virus fu ritrovato nel materiale fecale e l'indagine epidemiologica individuò l'acqua quale più probabile via di trasmissione, poiché l'ispezione evidenziò una rottura nel sistema di distribuzione dell'acqua potabile e nella cisterna di raccolta venne rilevata contaminazione di origine fecale (Carraro et al., 2004).

Negli Stati Uniti, 86 casi su 90 (96%) di gastroenterite acute non batteriche riportate tra il gennaio 1997 e il giugno del 1998 sono state causate dal Norwalk-like virus. Per quei casi in cui è stato possibile individuare la modalità di trasmissione, il 47% era dovuto all'ingestione di cibo contaminato. Dal 1994 al 2002 in Inghilterra e Galles il 27% delle infezioni intestinali sono state causate da Norwalk-like virus (Koopmans et al., 2002). Nel dicembre 2002, diversi cluster di casi di gastroenterite da norovirus sono stati riportati in parti differenti della Francia e dell'Italia. Indagini epidemiologiche hanno colto rapidamente un'implicazione delle ostriche nel sud della Francia. Nell'aprile 2002, un attacco di gastroenterite da NoV, che ha riguardato 103 persone, verificatosi nella provincia di Bari (Italia sud-orientale) è stato legato al consumo di frutti di mare (APAT, 2007)

Nei paesi Industrializzati le infezioni da NLV sono molto comuni negli asili e negli ospedali, e le persone maggiormente a rischio sono i bambini, gli anziani, le donne in stato di gravidanza e gli immunocompromessi. Nei paesi in via di sviluppo le malattie gastroenteriche sono tra le maggior cause di morte ogni anno (Koopmans et al., 2002).

EPATITI

Gli agenti virali che causano epatiti possono essere suddivisi in virus trasmessi entericamente (HEV, HAV) e virus trasmessi per via sanguigna (parenterally transmitted) (Epatite B, C, D, G). Per quanto riguarda le malattie associate ad acqua e cibo contaminati sono maggiormente rilevanti quelli trasmessi attraverso via enterica. Il virus dell'epatite A è un virus appartenente alla famiglia dei *Picornaviridae* della quale fanno parte anche gli enterovirus. Mentre HEV inizialmente fu incluso nella famiglia dei *Caliciviridae*, ma ora

costituisce un genere indipendente a causa delle sue caratteristiche uniche (Koopmans et al., 2002).

Virus dell'epatite A

Il virus dell'epatite A può dare luogo, dopo un periodo medio di incubazione di 30 giorni (range 15-50 giorni), ad infezioni sintomatiche o asintomatiche.

La malattia causata dall'infezione di HAV è caratterizzata da sintomi non specifici quali febbre, mal di testa, affaticamento, nausea e disturbi addominali, seguiti poi dopo circa 1-2 settimane da sintomi e segnali tipici dell'epatite. Per quanto riguarda i gruppi d'età, nei bambini al di sotto dei 6 anni generalmente le infezioni hanno corso in maniera asintomatica, mentre per quelli che manifestano i sintomi raramente sviluppano l'ittero. Per i bambini di maggiore età e gli adulti le infezioni solitamente sono sintomatiche e l'ittero si verifica nella maggior parte dei casi. La malattia è generalmente autolimitante e può avere una durata anche di diversi mesi, sono poco frequenti casi di epatiti fulminanti (Koopmans et al., 2002).

In molti dei paesi in via di sviluppo, il virus dell'epatite A è considerato endemico, e la maggior parte delle persone viene infettata nella prima infanzia. In queste aree, la trasmissione di HAV avviene principalmente tra persona a persona. Le epidemie sono rare poiché la maggior parte delle infezioni colpiscono i bambini e generalmente rimangono asintomatiche, mentre gli adulti acquisiscono una maggiore immunità. Quando le condizioni socio-economiche e ambientali migliorano ed il virus decresce in endemicità, ma può accadere che ci sia un aumento dell'incidenza e dell'età media delle persone colpite, in quanto gli adulti sono più suscettibili e sviluppano i sintomi con l'infezione (Koopmans et al., 2002).

HAV è considerato endemico nei paesi del Mediterraneo, sebbene la prevalenza di anticorpi anti-HAV stia diminuendo nella popolazione è ancora frequente trovare HAV nelle acque di scarico di queste aree (Formiga Cruz, 2002).

In Italia, i dati del Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) mostrano un basso tasso di incidenza annuale (circa 5 per 100.000 abitanti) di casi di epatite A ed uno spostamento dell'età media dell'infezione verso l'età adulta, quando la malattia clinica è più frequente e più seria (APAT, 2007). L'incidenza di HAV è diminuita da 10/100.000 abitanti nel 1985 a 2/100.000 durante il periodo 1987-1990, mentre un incremento è stato osservato dopo il 1991. Il più elevato tasso di infezione è stato riscontrato nel gruppo di età 15-24 anni (Koopmans et al., 2002).

Nel sud Italia l'infezione da HAV continua ad essere endemica e costituisce non solo un problema di salute pubblica per la popolazione residente in questa area, ma anche per le persone che visitano queste zone (Crocì et al., 2004). In particolare in Campania e Puglia, l'infezione HAV (epatite virale acuta) ancora mostra un livello intermedio di endemicità con tassi di incidenza annuale fino a 30/100.000 abitanti (Germinario et al., 2000). I tassi di sieroprevalenza tra adolescenti sono ancora del 40% nei giovani di 18 anni e più del 30% tra quelli di 20-30 anni in questa parte del paese, mentre nell'Italia settentrionale è rapidamente diminuito in questi ultimi anni vicino al 10% (APAT, 2007a)

Nel 2000, nell'Italia meridionale sono stati registrati 464 nuovi casi di infezioni da virus dell'epatite A e questi rappresentano il 71,2% di 652 casi totali di epatiti monitorati nella medesima area. Questo valore è inferiore a quelli riportati per l'anno 1998 (80,9%, 862/1066 casi), ma è ancora relativamente elevato se confrontato con i dati nazionali del 2000 (47,4%, 928/1959) e 1998 (51,7%, 1461/2828). Il consumo di molluschi, in particolare mitili, rimane il maggiore fattore di rischio per le infezioni da HAV, infatti dei casi registrati nel 2000 il 68% era dovuto al consumo di frutti di mare contaminati (Crocì et al., 2004).

Virus dell'epatite E

Solo recentemente si è stabilito che il virus dell'epatite E (HEV) è causa di epatiti, da quando un'ampia epidemia ha colpito l'India e il Pakistan. HEV è considerato endemico per una vasta area geografica, soprattutto in paesi con scarse condizioni igieniche, e dove anche il virus dell'epatite A è endemico come Sud-est Asiatico, India subcontinentale e Africa. Ma il virus dell'epatite E non è altrettanto diffuso quanto HAV in queste aree. Nei paesi Industrializzati le infezioni da HEV sono rare e generalmente associate a viaggi o migrazione. Ma in uno studio del 2003 (Clemente-Casares et al., 2003) sono stati analizzati le acque reflue di alcune città della Spagna, Francia, Grecia, Svezia e Stati Uniti per determinare la prevalenza di HEV nelle popolazioni delle nazioni Industrializzate. 20 campioni su 46 (43,5%) raccolti nella città di Barcellona dal 1994 al 2002 sono risultati positivi al virus dell'epatite E. Sono stati inoltre identificati 15 nuovi ceppi, i quali erano simili a 2 ceppi isolati in precedenza, sempre a Barcellona, in campioni clinici ed ad altri isolati in aree geografiche non endemiche. Due nuovi ceppi furono isolati anche nella città di Washington, D.C. (USA) e Nancy (Francia). Tutti questi campioni inoltre erano positivi per il virus dell'epatite A. Questi risultati indicano che il virus dell'epatite E potrebbe essere più prevalente nelle regioni industrializzate di quanto fosse considerato in

precedenza, e che nuove varianti del virus possono circolare simultaneamente in una regione.

Le epidemie di epatite E possono essere distinte per l'elevato tasso di incidenza in persone da 15 a 40 anni rispetto ad altri gruppi d'età, per l'alto tasso di mortalità (0,5-3%), in particolare per le donne in stato di gravidanza (15-20%). Nella maggior parte di ragazzi giovani le infezioni da HEV possono manifestarsi senza ittero, non come accade nelle infezioni con HAV (Koopmans et al., 2002).

4.2 Vie di esposizione nel bacino del Mediterraneo

Nel Mar Mediterraneo sono stati isolati i seguenti virus: poliovirus (Grecia, Italia), echovirus (Francia, Grecia, Italia), Cocksackie virus A (Francia, Italia), coxsackie virus B (Francia, Grecia), virus dell'epatite A (Francia, Grecia, Spagna), rotavirus (Spagna) e adenoviruses (Francia, Grecia, Italia). Per quanto riguarda questi ultimi, numerosi studi hanno documentato la loro presenza nelle aree di costa e nelle acque ricreative (Girones et al., 1993, Puig et al., 1994, Enriquez and Gerba, 1995). Nella Grecia Occidentale, il 28,8% dei campioni prelevati in acque relativamente pulite è risultato positivo alla presenza di adenovirus, mentre viene raggiunto il 90% in campioni prelevati da aree inquinate (UNEP, 2003).

I virus enterici sono stati isolati in molti effluenti di reflui, nell'acqua marina, nei sedimenti e nei molluschi. Esiste uno squilibrio geografico per quanto riguarda la raccolta di dati sull'inquinamento virale delle acque del Mediterraneo, a causa delle relative difficoltà nelle tecniche di isolamento e quantificazione dei virus. Sebbene anche nella parte settentrionale del Mediterraneo, la virologia è ancora oltre la portata della maggior parte dei laboratori che eseguono analisi microbiologiche dell'acqua di mare su una base di routine (UNEP, 2003).

Le maggiori vie di esposizione per l'uomo ai microrganismi presenti nell'ambiente marino sono: il consumo di prodotti della pesca contaminati, in particolare i molluschi ed il contatto diretto durante il nuoto o altre attività ricreative con acqua di mare, sabbia e sedimenti inquinati.

CONSUMO DI MOLLUSCHI

Il ruolo svolto dai molluschi bivalve nella trasmissione di alcune patologie umane è ormai noto da tempo (Gandolfi, 2003).

I virus non si moltiplicano all'esterno dell'ospite, e a differenza dei batteri, non si moltiplicano né producono tossine negli alimenti, ma possono essere semplicemente veicolati da questi al momento dell'ingestione (Croci e Suffredini, 2003).

Il consumo di molluschi contaminati è tra le maggiori cause di gastroenteriti virali in tutto il mondo. L'ambiente in cui essi vivono, la modalità di nutrizione ed alcune diffuse consuetudini nel consumo di tali prodotti, hanno confermato nel tempo la loro importanza nella trasmissione all'uomo di malattie virali (Gandolfi, 2003). Questi organismi si alimentano attraverso la filtrazione ininterrotta di grandi volumi di acqua, che permette loro di intrappolare particelle di cibo ma anche virus e batteri presenti nell'ambiente. L'attività di filtrazione dipende dalle dimensioni dell'animale e dalla temperatura dell'acqua, un mitilo filtra a 14 °C circa 1,5 L di acqua al giorno, un'ostrica europea 12 L a 15 °C e un'ostrica americana 18 L a 20 °C (Croci e Suffredini, 2003). In passato alcuni studi (Di Girolamo et al., 1977) hanno messo in evidenza come la particolare capacità dei molluschi di assorbire virus enterici sia dovuta alla formazione di legami ionici tra la sostanza mucosa, prodotta dai molluschi per intrappolare le particelle alimentari, ed i virus. Il processo di bioaccumulo e rilascio dei virus dipende dalla specie di mollusco, il tipo di microrganismo, le condizioni ambientali e la stagione (Burkhardt et Calci, 2000). Sembra che tre fattori siano responsabili della frequenza e della durata delle malattie virali associate al consumo di molluschi: Primo, i virus enterici devono essere presenti nella popolazione umana, e solitamente la presenza dei virus enterici nelle acque di scarico ha fluttuazioni stagionali, le maggiori concentrazioni si riscontrano in inverno, piuttosto che in estate. Secondo, i virus patogeni devono sopravvivere per un tempo sufficientemente lungo in ambiente, tale da contaminare le aree di crescita dei molluschi; la sopravvivenza è legata soprattutto alla temperatura e alle radiazioni solari, e le malattie legate al consumo di molluschi si verificano quando i livelli di temperatura e intensità luminosa raggiungono o sono molto vicini ai loro valori minimi. Terzo, l'abilità dei molluschi di accumulare selettivamente virus, attraverso legami ionici tra la porzione mucopolisaccaridica del muco e le particelle virali. Sembra quindi che l'incidenza delle malattie virali sia dovuta ad una relazione dinamica tra livello di inquinamento fecale e abilità dei molluschi di accumulare e trattenere i patogeni enterici (Burkhardt et Calci, 2000).

Ad esempio i norovirus, tra i principali patogeni responsabili delle gastroenteriti trasmesse dagli alimenti, si accumulano specialmente nei tessuti delle ostriche, il che suggerisce un meccanismo attivo di concentrazione di particelle virali. Uno studio recente

ha dimostrato che i Norwalk virus del genogruppo 1 sono in grado di legarsi ai tessuti delle ostriche non solo attraverso semplici legami ionici, ma anche grazie ad interazioni specifiche con recettori presenti sulla superficie delle cellule del tratto digestivo di questi molluschi bivalve. Anche se, esperimenti con anticorpi umani hanno mostrato che i recettori presenti sui tessuti delle ostriche non sono uguali a quelli presenti sulle cellule umane, i Norwalk virus utilizzano lo stesso sito di legame per l'adesione alle cellule epiteliali umane. L'abilità dei Norwalk virus di legarsi ai tessuti dei molluschi e ai tessuti umani, suggerisce un possibile meccanismo di coevoluzione che coinvolge le ostriche come vettori intermedi (Le Guyader et al., 2006).

Il fenomeno di accumulo dei virus si verifica con notevole rapidità e con carattere selettivo rispetto agli indicatori batterici. Infatti fra i virus è stato determinato un coefficiente di accumulo da 10 a 100 volte superiore rispetto ad alcuni batteri. Essi inoltre vengono trattenuti dai molluschi per parecchi giorni, anche dopo che questi sono stati trasferiti in acque di stabulazione pulite. Anche la temperatura influisce sulla capacità di accumulo dei molluschi, variabile nei diversi mesi dell'anno e maggiore nei mesi più miti (Gandolfi, 2003).

Sembra che le malattie legate al consumo di molluschi si verifichino con maggiore frequenza nella tarda primavera e nel tardo autunno. Questo periodo coincide con il maggior tasso di bioaccumulo nei molluschi. Ad esempio la *Mercenaria mercenaria* in determinati periodi nella stagione primaverile e invernale, nelle acque temperate, accumula virus ed altri microrganismi ad un tasso superiore rispetto al resto dell'anno (Rippey, 1994).

I virus che possono essere trasmessi attraverso i molluschi sono principalmente il virus dell'epatite A, il virus dell'epatite E (non endemico della regione del Mediterraneo), Norwalk virus, Snow Mountain Virus, astrovirus, coxsackie virus (UNEP/WHO, 1996). Tra questi, il virus dell'epatite A e il Norwalk virus sembra siano tra i maggiori responsabili delle patologie causate dal consumo di alimenti contaminati (Koopmans et al., 2002). Una ampia percentuale (60-65%) dei nuovi casi riportati ogni anno sono correlati al consumo di molluschi bivalve (APAT, 2007a).

Il 19% dei casi di Epatite A registrati nella città di Francoforte sono stati attribuiti al consumo di molluschi contaminati dai turisti tedeschi nei paesi del Mediterraneo (UNEP, 2003).

In Italia, un attacco di Epatite A che si è verificato in Puglia è durato circa 2 anni con 5.673 casi nel 1996 e 5.382 nel 1997, incidendo sul tasso annuale rispettivamente di

138 e 132 casi per 100.000. Secondo gli studi di controllo dei casi, quest' ampia epidemia è stata causata dal consumo di frutti di mare crudi (o cotti in modo inadeguato) e sostenuta nel tempo dalla trasmissione di persona in persona. Consumare frutti di mare costituisce un'abitudine alimentare piuttosto comune in questa parte d'Italia, ove sono mangiati tradizionalmente crudi o poco cotti. Nel 2004, si è verificato un ampio attacco di epatite A in Campania, una regione dell'Italia meridionale, con 882 casi riportati dal 1 gennaio fino al 1 agosto. E' stato condotto uno studio di controllo del caso tra residenti e un'indagine microbiologica nei sieri dei pazienti e mitili venduti nell'area. Sia lo studio analitico che l'indagine microbiologica hanno identificato i frutti di mare come la fonte di infezione più importante (APAT, 2007). Uno studio condotto su 180 mitili raccolti dai mercati di cinque grandi città dell'Italia meridionale, ove è riportata ogni anno una grande incidenza di infezione da HA V (epatite acuta), si è conclusa con il 15,6% dei campioni che era contaminato da HAV contagiosa (Crocì e Suffredini, 2003).

Nel 2002 è stata registrata la prima epidemia da norovirus in Italia, in particolare nella provincia di Bari. La causa scatenante dell'epidemia è stato il consumo da parte della popolazione di molluschi crudi (Prato et al., 2004).

L'incidenza e la circolazione di diversi tipi di epatite A e Norovirus nei frutti di mare sono stati studiati su 235 campioni degli stessi, ottenuti da differenti sedi, che rappresentano le aree di produzioni dei frutti di mare del mar Adriatico settentrionale e analizzati dopo la depurazione. La contaminazione virale era presente in media nel 22% dei campioni: in modo particolare, il 6% dei campioni testati positivi per l'HAV, il 14% per il NoV ed il 2% per entrambi i virus. Nessuno dei campioni ha rivelato la presenza di salmonella, e nella maggioranza di essi (93%), il numero di E. coli era inferiore al limite previsto dalla legislazione europea di 230 MPN/100g (APAT, 2007).

Tradizionalmente i batteri coliformi come *Escherichia coli* vengono usati come indicatori della qualità microbiologica delle acque di allevamento dei molluschi. Comunque, sta diventando sempre più chiaro che gli standard per i batteri non sempre rivelano la presenza di virus, così come i processi di depurazione utilizzati per la rimozione dei batteri prima della distribuzione e commercio non sono ugualmente efficaci per i virus. Dall'analisi di 36 campioni di mitili raccolti in diverse aree del Mar Adriatico, 5 campioni sono risultati positivi alla presenza di enterovirus, 13 all'HAV e 3 ad entrambi i virus. Ma molti di questi campioni contaminati da virus erano risultati accettabili dal punto di vista batteriologico (Crocì et al., 2000).

In uno studio del 2002 (Formiga-Cruz et al., 2002) è stata analizzata la presenza di Norwalk virus, virus dell'epatite A, enterovirus, adenovirus e *Escherichia Coli* in campioni di ostriche (*Crassostrea gigas* e *Ostrea edulis*) e mitili (*Mytilus edulis* e *Mytilus galloprovincialis*) provenienti da Svezia, Inghilterra e due paesi del Mediterraneo come Spagna e Grecia. I campioni di molluschi sono stati prelevati da aree di allevamento di qualità ambientale diversa (A,B,C). Adenovirus, NLV e HAV sono stati isolati in campioni provenienti dalla zona A di coltivazione e in campioni già depurati. Tutti questi bivalvi mostravano una concentrazione di *E.coli* al di sotto dei limiti previsti dalla legge. Mentre nelle aree inquinate da acque di scarico (area B molto inquinata e C), la presenza di *E.coli* è strettamente correlata alla presenza di virus enterici. I dati ottenuti evidenziano che molte delle epidemie sono associate al consumo di molluschi, le cui caratteristiche microbiologiche rientrano nei parametri di legge. Infatti nelle zone di allevamento ad elevata qualità ambientale (A e B molto pulita), in cui si registrano livelli bassissimi o l'assenza di *E. coli*, i virus enterici potrebbero essere ancora presenti.

La classificazione delle acque di allevamento dei molluschi è basata su indagini sanitarie della qualità dell'acqua, sulle fonti di inquinamento provenienti dalla linea di costa sul monitoraggio come azione di routine (UNEP, 2007).

Per quanto riguarda la nazioni che si affacciano sul bacino del Mediterraneo, i paesi dell'Unione Europea sono uniformati alle leggi comunitarie come la direttiva 854/2004 (Tab.1) che stabilisce i criteri di classificazioni delle aree di allevamento per i molluschi.

CLASSE	CRITERI MICROBIOLOGICI	TRATTAMENTI
A	I molluschi raccolti da tali zone contenere meno di 300 coliformi fecali o meno di 230 <i>E. coli</i> per 100 g di polpa e di liquido intervalvare	molluschi possono essere raccolti e utilizzati per il consumo umano diretto
B	I molluschi raccolti da tali zone non devono superare i livelli di 6000 coliformi fecali per 100 g di polpa o 4600 <i>E. coli</i> per 100 g di polpa e di liquido intervalvare	molluschi possono essere destinati al consumo umano diretto solo dopo aver subito un trattamento in un centro di depurazione o previa stabulazione in una zona avente i requisiti microbiologici, biologici, chimici e fisici prescritti per la zona A.
C	I molluschi raccolti da tali zone non devono superare i livelli di 60 000 coliformi fecali per 100 g di polpa. e di liquido intervalvare	molluschi possono essere destinati al consumo umano diretto esclusivamente previa stabulazione, per un periodo non inferiore a due mesi, in una zona avente i requisiti microbiologici, biologici, chimici e fisici prescritti per la zona A; la stabulazione può essere associata o meno ad un processo di depurazione intensivo

Tabella 1 - Criteri di classificazione delle aree di crescita dei molluschi previste dalla Direttiva Europea 854/2004 (Da UNEP, 2007 modificato).

Mentre le altre nazioni seguono delle linee guida nazionali che in alcuni casi (ad esempio Albania, Croazia, Bosnia-Erzegovina, Marocco e Turchia) si basano su direttive Europee di anni precedenti. Per altri paesi, invece, come Cipro, Libano, Algeria non ci sono informazioni ufficiali né su gli standard di legge, né sulle aree di allevamento o progetti di monitoraggio (UNEP, 2007).

Le categorie approvate con riserva e quelle limitate sono volontarie; i paesi possono utilizzare queste categorie quando si verifica un evento di inquinamento prevedibile come l'aumento stagionale della popolazione, le piogge violente o le oscillazioni del carico degli effluenti provenienti da impianti locali di trattamento delle acque che influiscono sulla qualità di un'area di allevamento. Affinché si possano allevare i molluschi nell'ambito di questa classificazione, di solito sono necessarie sostanziali risorse di stato per emettere permessi, controllare la qualità di acqua, creare un piano di gestione e sorvegliare il raccolto e il trasporto. Sfortunatamente, alcune aree di allevamento potenzialmente produttive rimangono vietate a causa di inadeguate risorse di stato per condurre le indagini igieniche necessarie (UNEP 2007).

Per quanto riguarda i molluschi la situazione è molto variabile per tutta la regione del Mediterraneo. A livello generale, i pericoli potenziali per la salute dell'uomo, che derivano dal consumo di molluschi, sono limitati dal fatto che i tre principali paesi produttori (Francia, Italia e Spagna) hanno una legislazione restrittiva per quel che concerne la distribuzione di molluschi crudi destinati al consumo umano, che generalmente rende obbligatoria la depurazione prima della vendita. Tuttavia, molti dei molluschi provenienti da altre aree del Mediterraneo non sono soggetti a processi di depurazioni o a controlli sullo stoccaggio dopo la raccolta (UNEP/WHO, 1996).

Attualmente, gli agenti disinfettanti utilizzati per le acque di depurazione dei molluschi sono il cloro, gli iodofori, l'ozono, i raggi ultravioletti e la filtrazione. L'ozono e UV eliminano efficacemente sia batteri che virus, inoltre non interferiscono con i normali processi metabolici dei molluschi, al contrario degli ionofori ed il cloro. In Italia, secondo la normativa vigente (DL.vo 530/92), i molluschi vengono posti in acqua depurata in vasche di stabulazione, a temperatura e salinità costante, per 48 h. Ma questo tempo, sufficiente ad eliminare i batteri attraverso la filtrazione, non garantisce la completa purificazione dai virus. Anche la cottura in alcuni casi non assicura la completa inattivazione dei virus, in quanto gli stessi componenti degli alimenti (ad esempio l'ambiente proteico) possono fornire protezione ai virus dall'effetto della temperatura. Dopo l'immersione in bagnomaria a 100°C per 1 min, il virus (HAV) presente in un

omogenato di mollusco si riduce, ma è ancora quantitativamente determinabile (da 105 TCID50/ml a 102 TCID50/ml). Per i molluschi sembra che i normali processi di depurazione non siano sufficienti ad eliminare la carica virale all'interno dei tessuti, ed inoltre alcuni virus, tra cui il virus dell'epatite A rimangono attivi anche dopo processi di cottura ad elevate temperature (Crocì e Suffredini, 2003).

BALNEAZIONE

Le acque ricreative generalmente contengono sia microrganismi patogeni sia non patogeni. Questi potrebbero derivare da scarichi di acque reflue civili, industriali, di industrie farmaceutiche, dai bagnanti stessi, da allevamenti, da animali domestici e selvatici.

Il rischio di contrarre malattie virali associate alla balneazione dipende da fattori sociali e ambientali; ad esempio la diffusione e prevalenza delle patologie virali all'interno di una comunità, la configurazione fisica dell'area, il clima della regione (una elevata insolazione contribuisce ad eliminare i microrganismi più sensibili), la temperatura dell'acqua, le caratteristiche idrologiche e meteo-marine (livelli di marea, direzione dei venti e correnti, moto ondoso), gli eventi meteorologici, la torbidità (il particolato sospeso favorisce la presenza di microrganismi, in quanto fornisce nutrimento ed azione protettiva) e la vicinanza dalla fonte di inquinamento. Nel rischio legato alla balneazione devono essere inoltre considerati la durata del bagno, la modalità di immersione (nuotare con la testa sott'acqua può comportare rischi diversi da quelli che si corrono tenendo la testa al di fuori), distanza dalla riva, condizione individuale, età e sesso (Bonadonna, 2003).

La popolazione maggiormente suscettibile tra cui le persone con ridotte funzioni immunitarie, ad esempio come conseguenza di malattie (cancro, HIV), suscettibilità genetica o mancanza di immunità a malattie locali (turisti), potrebbero essere ad alto rischio di contrarre gravi patologie. Inoltre grazie allo sviluppo di indumenti protettivi utilizzati soprattutto in climi freddi, i periodi di contatto ed immersione in mare stanno diventando sempre più frequenti e le attività legate alle acque ricreative si svolgono per tutto il corso dell'anno e non solo in una stagione ristretta (K. Pond, 2005). Molte delle infezioni poi si verificano su base stagionale e quindi gli utenti potrebbero venir esposti a patogeni differenti e non familiari in luoghi e tempi diversi (K. Pond, 2005).

In uno studio condotto in Italia (Dionisi et al., 2003) sulla balneazione come fattore di rischio per l'insorgenza di infezioni gastrointestinali, malgrado l'enorme mole di dati non sono stati riportati casi chiaramente associati ad attività ricreative in acque marine.

Solo alcune segnalazioni sporadiche di casi di infezione intestinale seguita da infezione sistemica sono state riportate in soggetti immunodepressi o con gravi patologie di base a seguito di esposizione ad acqua marina. Il presente studio, sia per la parte relativa ad uno studio caso controllo che ad una sorveglianza attiva sembra confermare l'assenza di una associazione tra balneazione e sviluppo di infezioni gastroenteriche. Uno dei più importanti fattori di rischio per l'insorgenza di queste infezioni rimane il consumo di prodotti ittici, molluschi in particolare. (Dionisi et al., 2003).

In numerosi studi il virus dell'epatite A è stato isolato nelle acque superficiali utilizzate a scopo ricreazionale e ciò può rappresentare un potenziale rischio per la salute umana. Attualmente nessun caso di epatite A è stato associato alla balneazione in acqua di mare, ma potrebbero essersi verificati casi non riportati. Per quanto riguarda il virus dell'epatite E, alcuni casi di infezione sono stati segnalati negli Stati Uniti e in Europa centrale e occidentale in individui che hanno soggiornato in paesi ad elevata endemicità. La maggior parte dei casi sembra attribuibile al consumo di molluschi contaminati. Ma la possibilità di trasmissione del virus attraverso la balneazione non si può escludere del tutto (UNEP, 2007).

Gli studi epidemiologici svolti per verificare l'accertamento del rischio correlato alla balneazione sono numerosi, ma anche contraddittori e non univoci. Anche perché, come detto, sono numerosi i fattori da prendere in considerazione (Bonadonna, 2003). Inoltre le malattie e infezioni più frequentemente associate al contatto e all'esposizione con le acque ricreative sono generalmente lievi e di breve durata (ad esempio le gastroenteriti auto-limitanti) e per questo molto spesso non vengono segnalate negli ospedali o presidi sanitari (WHO, 2003). Anche quando queste si manifestano in forme più gravi, potrebbe essere difficile attribuirle alla sola esposizione con acque contaminate (WHO, 2003). Per esempio le occasioni di infezione dell'apparato gastroenterico, legato a fattori non balneari (soprattutto tossinfezioni alimentari), sono così frequenti nel periodo estivo che certamente non è facile rilevare la frazione di disturbi gastroenterici correlabili con la sola balneazione (Bonadonna, 2003).

Da gran parte degli studi epidemiologici svolti risulta evidente una correlazione tra balneazione e comparsa di sintomi minori che possono interessare l'apparato uro-genitale, la cute, le mucose dell'orecchio e dell'occhio. Tuttavia, la maggior parte di questi studi tendenti a mettere in evidenza una eventuale correlazione tra qualità igienica delle acque di balneazione e patologie nelle popolazioni esposte sono stati finalizzati al rilevamento di infezioni gastroenteriche, ritenute più facilmente rilevabili e quantificabili da parte delle

strutture di sorveglianza. L'insorgenza di patologie gastroenteriche è ragionevolmente prevista in situazioni di elevata contaminazione microbiologica, in quanto il quantitativo di acqua di mare che può essere ingerito è relativamente basso (100-200 ml) (Bonadonna, 2003).

L'Organizzazione Mondiale della Sanità nel "Guidelines for Safe Recreational Water Environments" pubblicato nel 2003, dopo aver esaminato le prove scientifiche inerenti a problemi di salute connessi con l'utilizzo di acque a scopo ricreativo, ha concluso che, nella letteratura scientifica, le malattie più frequentemente investigate e di cui sono stati riportati risultati negativi per la salute pubblica sono le infezioni enteriche, come le gastroenteriti auto-limitanti, e AFRI (Acute Febrile Respiratory Illness) (K. Pond, 2005).

Gli studi disponibili suggeriscono che tra i più frequenti malanni associati all'esposizione con acqua contaminata da inquinamento fecale ci sono le malattie enteriche, tra le quali le gastroenteriti autolimitanti, che molto spesso a causa della loro breve durata potrebbero non essere registrate dai sistemi di sorveglianza. La trasmissione di agenti patogeni che causano gastroenteriti è biologicamente plausibile ed è analoga alla trasmissione di microrganismi attraverso l'ingestione di acqua potabile (waterborne disease), la quale è stata ben documentata (WHO, 2003)

La maggior parte delle indagini epidemiologiche o non hanno affrontato le gravi conseguenze sulla salute umana (come l'epatite, la febbre enterica o poliomielite) o sono state intraprese in zone a bassa o nessuna endemicità per queste malattie (WHO, 2003).

Considerando i forti elementi di prova per la trasmissione di gastroenteriti auto-limitanti, la maggior parte delle quali possono essere di origine virale, anche la trasmissione di epatiti infettive (epatite A ed E virus) e della poliomielite è biologicamente plausibile, e ciò potrebbe verificarsi soprattutto a seguito dell'esposizione di persone maggiormente suscettibili (WHO, 2003).

Esistono comunque numerosi studi epidemiologici (Tab. 2) effettuati in tutto il mondo a partire dal 1950, che concludono che esiste una associazione tra i sintomi della gastroenterite, AFRI e concentrazione di batteri indicatori (UNEP, 2007).

First author	Year	Country	Type of water
Wiedenmann	2006	Germany	Fresh
Fleisher*	1996	United Kingdom	Marine
Haile*	1996	United States	Marine
Van Dijk	1996	United Kingdom	Marine
Van Asperen	1995	The Netherlands	Fresh
Bandaranayake*	1995	New Zealand	Marine
Kueh*	1995	Hong Kong	Marine
Medical Research Council*	1995	South Africa	Marine
Kay*	1994	United Kingdom	Marine
Pike*	1994	United Kingdom	Marine
Fewtrell	1994	United Kingdom	Fresh
Von Schirnding	1993	South Africa	Marine
McBride	1993	New Zealand	Marine
Corbett	1993	Australia	Marine
Harrington	1993	Australia	Marine
Von Schirnding	1992	South Africa	Marine
Fewtrell*	1992	United Kingdom	Fresh
Alexander	1991	United Kingdom	Marine
Jones	1991	United Kingdom	Marine
Balarajan	1991	United Kingdom	Marine
UNEP/WHO*	1991	Israel	Marine
UNEP/WHO*	1991	Spain	Marine
Cheung*	1990	Hong Kong	Marine
Ferley*	1989	France	Fresh
Lightfoot	1989	Canada	Fresh
New Jersey Department of Health	1989	United States	Marine
Brown	1987	United Kingdom	Marine
Fattal, UNEP/WHO*	1987	Israel	Marine
Philipp	1985	United Kingdom	Fresh
Seyfried*	1985	Canada	Fresh
Dufour*	1984	United States	Fresh
Foulon	1983	France	Marine
Cabelli*	1983	Egypt	Marine
El Sharkawi	1982	Egypt	Marine
Calderon	1982	United States	Marine
Cabelli*	1982	United States	Fresh and Marine
Mujeriego*	1982	Spain	Marine
Public Health Laboratory Service	1959	United Kingdom	Marine
Stevenson*	1953	United States	Fresh and Marine

Tabella 2 - Maggiori studi epidemiologici riguardanti effetti sulla salute umana derivanti dall'esposizione con acque ricreative condotti tra il 1953 e 2006 (Da UNEP, 2007).

Attualmente i criteri igienico-sanitari su cui ci si basa per determinare la qualità delle acque prevedono la determinazione di parametri batterici (batteri indicatori di contaminazione fecale) che costituirebbero un indice della potenziale presenza di microrganismi patogeni (batteri, virus e parassiti). Il controllo degli indicatori di contaminazione fecale nelle acque è da sempre utilizzato in alternativa a quello diretto dei patogeni perché attualmente non è possibile determinare, su base “routinaria”, le concentrazioni di tutti i patogeni eventualmente presenti nelle acque.

La principale difficoltà nella ricerca dei patogeni è legata alla scarsa disponibilità di metodi che, di routine, permettano di rilevare basse concentrazioni di patogeni in grandi

volumi di acqua. Oltretutto questi metodi non sono in grado di determinare per ogni singolo patogeno la vitalità o la virulenza. Quindi il monitoraggio della qualità sanitaria delle acque di balneazione è stato tradizionalmente basato sulla misura degli indicatori, che non sono di per sé causa di infezioni o malattie, ma che dovrebbero predire il rischio potenziale legato alla presenza, che essi segnalerebbero, di patogeni enterici. Vengono usati come indicatori i coliformi e gli streptococchi, perché più facili da isolare e da identificare e che, vivendo nel tratto gastrointestinale degli animali a sangue caldo e dell'uomo, entrano a far parte del ciclo a trasmissione fecale-orale (Bonadonna, 2003).

Qualità delle acque del Mar Mediterraneo

La presenza di turisti nel bacino del Mediterraneo è molto elevata e questi da una parte possono contribuire ad aumentare il numero di patogeni nelle acque di scarico e dall'altra potrebbero essere suscettibili alle locali condizioni di inquinamento (UNEP, 2007)

L'Organizzazione Mondiale per il Turismo (WTO) stima che per il 2026, 346 milioni di turisti visiteranno le maggiori località del Mediterraneo (Fig.7) ogni anno, rappresentando il 22% di tutti gli arrivi mondiali (K. Pond, 2005).



Figura 7 - I paesi del Mediterraneo e le loro regioni costiere (Da UNEP, 2005).

Gli standard di qualità delle acque di balneazione possono variare ampiamente in tutto il mondo. Per quanto riguarda l'area del Mediterraneo, i paesi della Comunità Europea che si affacciano su questo mare sono vincolati dalla Direttiva Europea sulla qualità delle acque 76/160 CEE (1976) che è stata recentemente sostituita dalla direttiva 2006/7/EC (Tab 3). Sebbene la legislazione nazionale dei paesi membri sia basata sulla suddetta Direttiva, in

Francia, Grecia, Italia e Spagna sono in vigore misure ancora più restrittive (Tab.4)(UNEP, 2007).

Parametri (cfu/100ml)	Qualità Eccellente	Qualità Buona	Sufficiente	Metodo di analisi di riferimento
Enterococchi intestinali	100*	200*	185**	ISO 7899-1 o ISO 7899-2
<i>Escherichia coli</i>	250*	500*	500**	ISO 9308-3 o ISO 9308-1

*Basato sulla valutazione del 95° percentile

** Basato sulla valutazione del 90° percentile

Tabella 3 - Direttiva Europea 2006/7/CE in materia di qualità delle acque di balneazione (da UNEP, 2007 modificato).

	Coliformi totali per 100 ml	Coliformi fecali per 100 ml	Streptococchi fecali per 100 ml	Salmonella per 1 litro	Enterovirus per 10 litri	Commento
Cipro	500 (80%) 10000 (95%)	100 (80%) 500 (95%)	100 (90%)	0	0	
Francia	500 (80%) 10000 (95%)	100 (80%) 2000 (95%) ≤ 100 (80%) ≤ 2000 (95%)	100 (90%) ≤ 100 (90%)	0	0	A Buona qualità
		≤ 2000 (95%)				B Media qualità
		≥ 2000 (5%<n<33%)				D scarsa qualità
		≥ 2000 (n>33,3%)				C cattiva qualità
Grecia	500 (80%) 10000 (95%)	100 (80%) 500 (95%)	100 (90%)	0	0	
Italia	500 (80%) 2000 (95%)	100 (80%) 2000 (95%)	100 (90%)	0	0	
Malta		100 (80%) 100 (50%) 1000(90%)		0	0	I Classe II Classe
Slovenia	500 (80%)	100 (80%)	100 (80%)	0	0	Solo per scopi speciali (non vincolanti dal punto di vista legale), ad esempio il programma della bandiera blu
	10000 (95%)	2000 (95%)		0	0	
Spagna	500 (80%) 10000 (95%)	100 (80%) 2000 (95%)	100 (90%)	0	0	
EEC Europa	80%< 500 95%< 10000	80%< 100 95%< 2000	100 (90%)	0	0	Enterococchi 90%< 100

Tabella 4 - Criteri di qualità microbiologica per le acque di balneazione dei Paesi appartenenti all'Unione Europea (Da UNEP, 2007 modificato).

I paesi del Mediterraneo non UE si basano leggi nazionali, ma questi hanno raggiunto un accordo su linee guida comuni che permette loro di usare quelle più severe. E' noto che alcune nazioni non Europee basano la loro legislazione nazionale sulla Direttiva Europea 1976/60/CEE (rivista), che è più restrittiva rispetto alle linee guida UNEP/WHO (Tab.5)(UNEP, 2007).

	Coliformi totali per 100 ml	Coliformi fecali per 100 ml	<i>Escherichia coli</i> per 100 ml	Streptococchi fecali per 100 ml	Commento
Albania			200 - 400		Non dovrebbe in genere superare il valore
Algeria					Legislazione UE
Bosnia- Herzegovina					Standards basati su <i>E.coli</i> , enterococchi fecali
Croazia	500 (100%)	100 (80%)		100 (80%)	Acqua marina adeguata per la balneazione
	1000	200		200	Acqua marina moderatamente inquinata
	>1000				Acqua marina inquinata
					La Direttive UE usata per scopi speciali , ad es. programma bandiera blu
Egitto	500 cfus/ 100 ml		100 cfus/ 100 ml	100 cfus/ 100 ml	Ogni 2 mesi per tutti i parametri ISO 9308-1 (coliformi tot.) ISO 7899/2 (Streptococchi fec.) ISO 9308/1 (<i>E.coli</i>)
Israele		200 400 (80%)			Medie geometriche Campioni individuali
Libano	10000 (M) 500 (G)	2000 (M) 100 (G)		100 (G)	Nessuna tolleranza per Salmonella (G) - enterovirus(G)
Libia		100 (50%) 1000 (90%)			
Monaco					Legislazione Francese - UE
Montenegro	500 (80%) 10000 (95%)	100 (80%) 500 (95%)	100 (90%)	0	
Marocco			100 (80%) 200 (95%)	100 (90%)	
			≤100 (80%) ≤2000 (95%)	≤100 (90%)	Buona qualità
			≤2000 (95%)		Media qualità
			≥ 2000 (95%) 5%<n<33%		Scarsa qualità
			≥ 2000 n>33,3%		Cattiva qualità
Siria		0-100 (50%)			Buona qualità
		101-1000 (90%)			Qualità appena sufficiente
		>1001			Inaccettabile
Tunisia	500 (80%)	100 (80%)		100 (90%)	Direttiva UE utilizzata non ufficialmente per determinati scopi come il programma bandiera blu
Turchia	1000 (100%)	200 (100%)			Dirett. UE ufficialmente in uso
UNEP/WHO	50%<100 90%<1000				

Tabella 5 - Criteri di qualità microbiologica delle acque di balneazione dei Paesi del Mediterraneo non appartenenti alla Comunità Europea (Da UNEP, 2007 modificato).

Le acque di balneazione del Mediterraneo sono state analizzate dal 1996 al 2005, il numero di nazioni che ha partecipato a questo progetto è passato negli anni da 13 a 20. Con una leggera flessione nel biennio 1998-99, il numero complessivo dei punti di campionamento ha registrato un aumento costante ad indicare che un'area sempre più estesa del Mediterraneo è monitorata.

La maggior parte delle acque di balneazione analizzata nel periodo 1996-2005 rientra nei limiti di legge (Tab. 6). Se è vero che vi è stato un lieve aumento globale (92,3%-92,85) nella percentuale delle acque di balneazione conformi ai parametri di legge, il miglioramento non è stato costante nel corso degli anni. La qualità dell'acqua ha mostrato un lieve incremento costante fino al 2003, a cui è seguito un peggioramento nel 2004, e di nuovo un miglioramento tra la fine del 2004 e l'inizio del 2005 (UNEP, 2007).

YEAR	Bathing waters CONFORMING	Bathing waters NOT CONFORMING	CONFORMING %	NOT CONFORMING %
1996	8747	734	92.3	7.7
1997	9036	769	92.2	7.8
1998	9390	619	93.8	6.2
1999	8873	534	94.3	5.7
2000	8818	620	93.4	6.6
2001	9617	593	94.2	5.8
2002	9745	608	94.1	5.9
2003	9887	549	94.5	5.3
2004	9803	834	92.2	7.8
2005	10842	839	92.8	7.2

Tabella 6 - Sommario dei dati per anno delle acque di balneazione monitorate conformi (conformino) e non conformi (not conforming) agli standard di legge nazionali (1996-2005) (Da UNEP, 2007).

Ma i dati raccolti anno dopo anno non sono comparabili a causa del numero variabile dei paesi partecipati allo studio e dalle diverse disposizioni di legge in materia di qualità delle acque. Va evidenziato che i dati si riferiscono ad acque di balneazione ufficialmente monitorate, vi sono comunque, lungo le coste del Mediterraneo, un numero di aree utilizzate per la balneazione non ancora soggette a controlli. Un'ulteriore osservazione va fatta sulla distribuzione dei punti di campionamento che sono in numero maggiore lungo le coste settentrionali e occidentali del Mar Mediterraneo, piuttosto che lungo le coste meridionali e orientali (UNEP, 2007).

Conclusioni

I cambiamenti climatici possono influire sulle tossicità delle acque sia in maniera diretta che indiretta. Fattori ambientali quali la temperatura, radiazioni solari, pH, salinità ecc. possono modificare il ciclo biologico di microrganismi autoctoni, cioè normalmente presenti in ambiente marino, ed influire sulla sopravvivenza di organismi patogeni introdotti nell'ambiente naturale da attività umane (scarichi fognari, agricoltura, zootecnia ecc...).

La presenza di microrganismi patogeni, in particolare di virus enterici, è un fattore di rischio per la salute umana che potrebbe essere esacerbato dai cambiamenti climatici in atto.

L'aumento crescente della temperatura delle acque superficiali del mare, se da un lato riduce i tempi di sopravvivenza dei virus enterici, dall'altra favorisce fenomeni quali l'eutrofizzazione. La maggiore torbidità delle acque, proprio a seguito dell'eutrofizzazione, in particolare nelle zone di estuario e lagunari, conferisce protezione alle particelle virali, che grazie alla loro capacità di formare aggregati con qualsiasi tipo di materiale particolato organico e inorganico (Gandolfi, 2003), sopravvivono e rimangono infettive per tempi più lunghi (CIESM, 2007).

La maggiore frequenza di piogge improvvise e violente, magari dopo lunghi periodi di siccità, e le mareggiate favoriscono la fuoriuscita di liquami e di acque reflue da impianti di depurazioni, da collettori fognari e la risospensione dei sedimenti. Ciò determina una crescente contaminazione di aree di costa e delle lagune. Queste ultime sono particolarmente vulnerabili all'accumulo di patogeni, a causa dell'enorme carico inquinante che ricevono, per lo scarso turn-over delle acque ed una limitata della profondità (CIESM, 2007).

Le variazioni nella frequenza ed intensità delle precipitazioni ed una diminuzione della disponibilità e della qualità delle acque superficiali aumenta il rischio nella popolazione umana di contrarre malattie legate al consumo di acqua e alimenti (Rose et al., 2001). La maggiore via di esposizione ai virus enterici rimane il consumo di molluschi, soprattutto nell'area del Mediterraneo, dove questi prodotti della pesca sono considerati un alimento tradizionale e spesso volte vengono consumati crudi o poco cotti.

L'importanza dei molluschi come veicolo di trasmissione di virus patogeni dipende dall'ambiente in cui essi vivono e dalla modalità di alimentazione. Molte delle aree di

allevamento si trovano in lagune, ambienti sensibili ai cambiamenti climatici e all'accumulo di patogeni.

Inoltre i molluschi si alimentano attraverso la filtrazione di grandi volumi d'acqua che permette loro di intrappolare particelle alimentari ma anche virus e batteri (Gandolfi, 2003).

I normali processi di depurazione a cui vengono sottoposti, spesso non si rivelano efficaci per l'eliminazione di virus enterici, che resistono molto più dei batteri anche alla disinfezione e alla cottura.

Gli indicatori batterici come *E. coli* utilizzati per valutare la qualità microbiologica delle acque e dei molluschi stessi, non sono strettamente correlati alla presenza di virus, che molto spesso vengono isolati in campioni di molluschi già sottoposti a depurazione e ritenuti idonei per la vendita (Crocì e Suffredini, 2003).

I cambiamenti climatici sono già in atto nel bacino del Mediterraneo. Come descritto nei capitoli precedenti, soprattutto in base ai modelli di previsione dell'IPCC 2007, la regione del Mediterraneo diventerà sempre più arida, le estati si prolungheranno ed aumenterà la frequenza delle giornate estremamente calde "hot days". L'Europa, ed in particolare l'area orientale e meridionale, si sta riscaldando più velocemente rispetto alla media globale (EEA, 2007). Per quanto riguarda il Mar Mediterraneo la temperatura dell'acqua superficiale è aumentata dal 1982 al 2003 di 2,2-2,6 °C (EEA, 2007) e nell'ultima decade sono stati registrati aumenti di temperatura e salinità negli strati d'acqua superficiali, intermedi e profondi (Fuda et al., 2006).

Questo riscaldamento è testimoniato anche dalla migrazione di specie termofile dai settori meridionali a quelli settentrionali del bacino (ESF, 2007) e la costante introduzione di specie tropicali dal Canale di Gibilterra e di Suez (Taraletto, 2004).

Anche se le precipitazioni diminuiranno da un punto di vista quantitativo, si verificherà su tutta l'area del Mediterraneo un aumento dell'intensità delle piogge giornaliere, con maggiori rischi di improvvise e violente inondazioni (IPCC, 2007).

L'innalzamento del livello del mare nel Mediterraneo, invece, non si sta verificando con lo stesso ritmo degli oceani globali. L'aumento della temperatura e la diminuzione delle precipitazioni unite ad un sistema di alte pressioni su questa area, sembrano mantenere il livello del Mar Mediterraneo stazionario (V. Ferrara, 2002).

Le coste mediterranee, ad ora non sembrano minacciate da un aumento del livello del mare, ad eccezione di casi particolari in cui la subsidenza antropica e naturale

amplificano il fenomeno, ma da un incremento di eventi meteomarinari (mareggiate) che si presenteranno con più forza e con frequenze irregolari (APAT, 2007b).

Un peggioramento della qualità delle acque, anche a causa di fuoriuscite accidentali, potrebbe favorire la diffusione di malattie ancora poco conosciute.

I cambiamenti climatici, demografici ed ecologici hanno portato ad una maggiore diffusione di batteri, virus e parassiti che per questo sono considerati “emergenti” (Carraio et al., 2004). I virus, specialmente virus a RNA e a RNA segmentato, sono soggetti a frequenti mutazioni e riassortimenti genetici, ed hanno quindi una maggiore probabilità di emergere come nuovi patogeni (WHO, 2004).

Esempi sono la rapida diffusione in tutta Europa una nuova variante di norovirus GII-4, probabilmente più virulenta e più stabile in ambiente naturale di ceppi già esistenti (Lopman, 2004). Oppure la presenza in aree non endemiche del virus dell’epatite E (HEV), che da analisi molecolari sembra divergere geneticamente da ceppi delle aree di endemia (Casares et al., 2003).

Non sono ancora stati segnalati casi di trasmissione zoonotica di virus animali all’uomo, comunque ci sono virus che potenzialmente potrebbero essere trasmessi tra le specie e l’acqua servirebbe da veicolo in questo caso (WHO, 2004).

Ne sono un esempio ceppi ricombinanti di rotavirus A trovati nelle acque di scarico del Cairo (Egitto) e Barcellona (Spagna) (Villena et al., 2003) ed il virus dell’epatite E dei maiali che presenta un’organizzazione genetica per il 92% simile a quella umana (Casares et al., 2003). Le zoonosi virali idrotrasmesse potrebbero verificarsi con maggiore probabilità in aree in cui si riscontra una elevata contaminazione fecale di origine animale e dove le risorse idriche non vengono sufficientemente depurate o protette (WHO, 2004). Il rischio di trasmissione zoonotica è molto basso anche se non può essere escluso del tutto data l’elevata frequenza di mutazione dei virus a RNA (ISS, 2005a).

Rimangono ancora difficoltose le attività di monitoraggio delle acque di balneazione e di allevamento dei molluschi, poiché non sono ancora disponibili metodi di analisi di routine per la determinazione di virus. Attualmente i criteri di valutazione della qualità microbiologica delle acque si basano sulla presenza di indicatori batterici quali coliformi e streptococchi, i quali però non sembrano avere sempre una correlazione diretta con la presenza di virus enterici. La maggior parte dei dati raccolti provengono dai paesi del Mediterraneo della sponda europea, nonostante anche in queste nazioni la maggior parte dei laboratori non sia attrezzata per eseguire test che rivelano la presenza di virus in acqua (UNEP, 2003).

Appendice

Gruppi di microrganismi patogeni per l'uomo associati alle acque e alimenti.

Virus:

Adenovirus: Appartengono alla grande famiglia di *Adenoviridae*, sono virus di medie-grandi dimensioni (70-80nm), il cui genoma è costituito da una molecola lineare di DNA a doppio filamento.

Porzioni di DNA virale possono permanere all'interno dell'ospite, dopo il termine della replicazione virale, come elemento genetico circolare extracromosomiale oppure integrandosi nel DNA dell'ospite (Hogg, 2000). La persistenza di porzioni di DNA virale, all'interno della cellula ospite, potrebbe determinare infezioni latenti da adenovirus e quindi rendere croniche le malattie respiratorie da essi causate. Questi virus sono inusualmente resistenti ad agenti chimici e fisici, a condizioni avverse di pH, ciò permette loro di sopravvivere per lungo tempo nell'ambiente esterno (Pond K., 2005). Sono stati isolati 51 sierotipi, umani, suddivisi in sei gruppi (A-F); virus generalmente poco patogeni, causano infezioni lievi e autolimitanti. Nella maggior parte dei casi colpiscono l'epitelio mucoso dell'apparato respiratorio, ma alcuni sierotipi sono responsabili di congiuntiviti e gastroenteriti (Pond K., 2005).

I sierotipi 3 e 7 (Gruppo B) sono implicati nell'infiammazione del tratto superiore dell'apparato respiratorio, e sono causa di congiuntivite.

Molti adenovirus possono moltiplicarsi nell'intestino ma solamente il sierotipo 40 e 41 (Gruppo F) causano gastroenteriti. Dopo i rotavirus, gli adenovirus 40 e 41 sono considerati tra i maggiori responsabili di disturbi gastrointestinali nei bambini (Pond K., 2005).

La via di trasmissione è prevalentemente oro-fecale, attraverso l'ingestione di cibo e acqua contaminata. Il virus può diffondersi anche tramite contatto con superfici contaminate. E' comune la anche diffusione aerea tramite tosse e starnuti di persone infette. Gli adenovirus diventano ubiquitari di ambienti dove si è verificata una contaminazione fecale o da acque di scarico (Pond K., 2005).

In acqua di mare gli adenovirus sono molto più stabile dei poliovirus e dell'HAV. Resistono meglio all'inattivazione tramite UV, e possono quindi sopravvivere in ambiente per tempi lunghi, aumentando potenzialmente il rischio di infezioni attraverso contatto e ingestione di acqua di mare. Comunque, la maggior parte dei casi di trasmissione del virus

attraverso l'acqua è stata riscontrata principalmente in piscine e piccoli laghi (Pond K., 2005).

Rotavirus A e C : Appartengono all'importante famiglia di *Reoviridae*, virus animali caratterizzati da genoma a doppio filamento di RNA di medie-grandi dimensioni (60-75nm). Questo è il solo gruppo di virus animali a doppio filamento di RNA, tutti gli altri gruppi di virus ad RNA sono caratterizzati da un singolo filamento. Il genoma dei reovirus è segmentato, cioè consiste in 10-12 segmenti di RNA a doppio filamento.

Una caratteristica peculiare dei virus segmentati è la loro capacità di generare virioni riassortanti, in seguito ad infezioni contemporanee di due o più ceppi virali.

La sopravvivenza dei reovirus nell'ambiente è notevole, studi di laboratorio riportano che in acqua superficiale a temperatura tra 9-15 °C va oltre i 200gg. Nelle acque di estuario la sopravvivenza a 20 °C è di 3-14gg.

Il genere rotavirus è suddiviso in 5 sierogruppi (A-E); il gruppo A e C sono patogeni per l'uomo, mentre tutti i gruppi sono patogeni per gli animali. Sono tra le maggiori cause di gastroenteriti soprattutto nei bambini.

Il tipo di trasmissione avviene per via oro-fecale, ma è possibile anche una trasmissione per via aerea o per contatto. L'infezione da rotavirus è ubiquitaria; nei paesi a clima temperato ha una stagionalità caratteristica con un picco invernale, mentre nei paesi tropicali, sebbene si possano verificare picchi di incidenza, il virus è presente tutto l'anno.

Calicivirus: Virus di piccole dimensioni (20-30nm) privi di involucro, genoma costituito da un singolo filamento di RNA a polarità positiva. In base all'attività biologica e all'analisi filogenetica dell'RNA sono stati individuati quattro gruppi di calicivirus; *Versivirus* e *Logovirus*, causano malattie nelle specie animali, mentre i gruppi dei *Norovirus* (NV) e *Sapovirus* (SV) sono associati a gastroenteriti trasmesse all'uomo. A differenza dei NV, che causano malattie in persone di tutte le età, i SV colpiscono specificatamente i bambini (ISS, 2005a). La trasmissione dei Calicivirus è principalmente di tipo oro-fecale ed è stata stimata una dose minima infettante tra 10 e 100 particelle virali (Schaub, 2000).

L'analisi genetica dei norovirus ha permesso di identificare due genogruppi principali GI e GII, e più di 15 genotipi. Dati epidemiologici raccolti nell'ambito del progetto europeo "Foodborne viruses in Europe" evidenziano che la maggior parte delle epidemie che annualmente si susseguono in Europa sono causate da un singolo genotipo di

NV (GII-4), che dimostra avere notevoli mutazioni sul gene della polimerasi (ISS,2005a). Questi virus sono stati a lungo riconosciuti come causa frequenti tenui gastroenteriti, classificate come “malattie invernali da vomito”. Mentre le infezioni possono verificarsi durante tutto l’arco dell’anno, le epidemie presentano invece dei picchi invernali (Lopman et al. 2003).Va però rilevato che un recente studio (Lopman et al. 2003) ha evidenziato un aumento dei casi di gastroenteriti da NV nel Regno Unito durante i mesi primaverili ed estivi. Tale differenza di picco epidemico sembra essere dovuto alla diffusione in di un nuova variante del genogruppo GII-4che oltre ad avere un picco epidemico diverso sembra possedere un potere di virulenza superiore ai ceppi precedentemente circolanti in Europa. (ISS, 2005a). La incapacità di amplificare NV mediante coltura cellulare, la mancanza di semplici saggi per determinarli in campioni clinici e ambientali hanno ostacolato gli studi epidemiologici. Nei primi studi, che utilizzarono il microscopio elettronico per determinare tali virus, NV furono spesso con i “classici calicivirus” (conosciuti ora come Saporovirus), astrovirus, e piccoli virus sferici (es. enterovirus), organismi che possono avere caratteristiche epidemiologiche e modalità di infezione diverse. Recentemente sono stati sviluppati nuovi saggi molecolari, tra cui reverse transcriptase–polymerase chain reaction (RT-PCR) e ELISA antigene – specifica, i quali hanno facilitato lo studio di NV virus , aumentando notevolmente la conoscenza e l’epidemiologia di questi virus (Mounts, et al., 2000).

Astrovirus: Famiglia *Astroviridae*, sono piccoli virus (28-30 nm) a singolo filamento di RNA a polarità positiva, privi di involucro; il loro nome deriva dalla caratteristica forma stellata a 5 o 6 punte osservata al microscopio elettronico. Sono stati isolati 8 sierotipi umani, di cui astrovirus 1 è il più comune. Le Infezioni da astrovirus causano gastroenteriti caratterizzate da diarrea, nausea vomito e dolori addominali. Le infezioni colpiscono soprattutto i bambini. La via di trasmissione è Oro – fecale, attraverso l’ingestione di cibo e acqua contaminata.

Coxsackievirus: Appartengono alla famiglia di dei *Picornaviradae*, sono piccoli virus (25-30 nm) con genoma a singolo filamento di RNA a polarità positiva. Sono suddivisi in due gruppi, A e B; al gruppo A appartengono 23 sierotipi, mentre 6 sierotipi al gruppo B (Pond K., 2005). I virus A16 e A 5 sono responsabili delle malattie delle mani, piedi e bocca soprattutto nei bambini, A 24 della congiuntivite acuta emorragica. coxakievirus B sono tra i più comuni agenti di miocardite e cardiomiopatie dilatate e

costituiscono il 50% delle infezioni da miocardite virale (Pond K., 2005). Virus appartenenti al gruppo B sono associati a diverse malattie. La diffusione del virus avviene attraverso diretto contatto con secrezioni nasali e della faringe di persone infette, tramite la via oro-fecale e inalazione di aerosol infetto (Pond K., 2005).

Hanno distribuzione mondiale, la frequenza di infezioni aumenta nei mesi caldi nelle zone a clima temperato. Possono rimanere vitali per anni a bassissime temperature (da -20 a -70 °C) e per settimane a 4 °C, ma perdono infettività all'aumentare della temperatura (Pond K., 2005).

Sono stati registrati pochi casi di epidemie da coxsackievirus direttamente correlate alle acque superficiali a scopo ricreazionale, comunque il virus è stato spesso isolato da campioni di acque marine e dolci, quindi la trasmissione del virus è possibile e biologicamente plausibile nelle persone suscettibili (Pond K., 2005).

Echovirus: appartengono alla famiglia *Picornaviridae*, genere *Enterovirus*, delle dimensioni di circa 24-30 nm. Sono stati distinti 31 sierotipi, sono il più ampio subgruppo appartenente agli *Enterovirus*. Echovirus causano una ampia varietà di malattie umane, che variano dalle infezioni subcliniche alle normali influenze, fino alle fatali encefaliti (Auvinen and Hyypiä, 1990).

La via di trasmissione è quella oro-fecale, possono verificarsi infezioni per via respiratoria. echovirus 7 può causare sporadici casi di piccole epidemie di violente o fatali encefaliti in bambini già malati (Pond K., 2005).

Echovirus 9 e 30 sono frequentemente associati ad epidemie di meningite asettica (Pond K., 2005). In numerosi casi di studio echovirus sono stati isolati da acque dolci, piscine e acque di scarico. L'Applicazione della tecnica PCR ha indicato la presenza di echovirus in campioni di acqua di mare. (Muscillo et al., 1995).

Sono stati pubblicati pochi casi di infezioni da echovirus in acque superficiali a scopo ricreazionale, la maggior parte di questi riguardano piscine. La fonte principale di contaminazione è quella fecale, anche se è possibile la diffusione attraverso la secrezione degli occhi o della gola (Pond K., 2005).

Virus dell'Epatite A: Appartenente alla famiglia di *Picornaviridae* ed è l'unico membro del genere *Hepatovirus*. Le dimensioni del virus sono comprese 27 e 32 nm, è privo di involucro, ed il genoma è costituito da un singolo filamento di RNA a polarità positiva (Pond K., 2005). L'infezione da HAV avviene usualmente attraverso il contatto

diretto con feci infette o mediante l'ingestione di cibo (in particolare molluschi) e acque contaminati con il virus. Occasionalmente può essere trasmesso per via sessuale o trasfusioni di sangue. La sequenza di eventi, che porta dalla penetrazione del virus per via orale alla replicazione nel fegato, non è ancora stata completamente chiarita. Sebbene il sito bersaglio della replicazione dell'HAV sia l'epatocita, da molti anni si cerca di determinare se il virus abbia anche siti di replicazione differenti dalle cellule epatiche (ISS, 2005a). HAV ha una distribuzione mondiale, con un'incidenza maggiore in paesi in cui il livello delle condizioni igienico-sanitarie è molto basso. Il bacino del mediterraneo è ritenuto un'area a endemia medio – alta (Puglia e Campania epidemia di HAV tra il 1992 ed il 1997)

Il virus dell'epatite A è estremamente resistente alle diverse condizioni ambientali, tale capacità consente a questo di sopravvivere per lungo tempo, ad esempio in acqua di mare, aumentando quindi il rischio di diffusione tra la popolazione. Il virus è termoresistente, cioè resiste a processi di pastorizzazione ad elevate temperature (vitale per 10 ore a 60 °C), a soluzioni acide (pH 3) ed anche al congelamento (Pond K., 2005).

Virus dell'Epatite E: piccolo virus (27-34) a filamento singolo filamento di RNA a polarità positiva. La trasmissione del virus avviene prevalentemente per via oro – fecale o stretto contatto con persone infette e attraverso il consumo di cibo e acqua contaminata, è stata suggerita anche una trasmissione zoonotica. Originariamente era stato classificato come un Calicivirus, ora costituisce un genere indipendente (WHO, 2001). L'infezione da HEV è la maggior causa di epatiti acute endemiche e sporadiche in molte zone dell'Asia, Africa e Messico, dove il virus è considerato endemico. Il nord America e l'Europa sono state tradizionalmente considerate non endemiche; la maggior parte delle infezioni da HEV sono dovute all'importazione del virus in questi paesi, sebbene la presenza di antigeni Anti –HEV nella popolazione varia da dall' 1% al 5%. Alcuni ceppi di HEV associati a epatite acute sporadiche sono stati isolati in campioni di siero umano in nord America e Europa (es. Italia, Grecia, Spagna ed Inghilterra). Analisi molecolari hanno dimostrato che i ceppi isolati in questi paesi formano un gruppo geneticamente divergente rispetto ai ceppi rilevati nei paesi riconosciuti come endemici. (Cesares et al., 2003).

La malattia itterica causata dal virus dell'epatite E è molto simile a quella causata dal virus dell'epatite A. La malattia ha un periodo di incubazione medio di 6 settimane, con un range di 2-9 settimane. La malattia generalmente è autolimitante, senza lunghi tempi di cronicizzazione (sequela). Si possono verificare casi di epatite fulminate in

soggetti sensibili, come nelle donne in gravidanza, dove il tasso di mortalità raggiunge 20%, specialmente al terzo trimestre (ISS, 2005a). Recentemente è stato isolato nei maiali un virus dell'epatite E (Swine HEV); dal punto di vista genetico è molto simile al virus isolato negli umani (Meng et. Al, 1997). Il rischio di trasmissione zoonotica, da maiale a uomo, è molto basso, anche se non può essere del tutto escluso data l'elevata frequenza di mutazione che dimostrano avere i virus a RNA.

Batteri

Molti organismi potenzialmente patogeni per l'uomo, come il genere *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, *Aeromonas*, *Psychrobacter*, sono naturalmente presenti in acque di estuario e in mare aperto. Le attività umane hanno contribuito ad aumentare il carico di patogeni in ambiente marino, attraverso contaminazione fecale e scarichi di reflui urbani e di attività zootecniche. Una volta in acqua, questi patogeni possono persistere per lungo tempo e ed infettare l'uomo attraverso l'esposizione diretta (balneazione) e l'ingestione di alimenti contaminati. La temperatura dell'acqua è un fattore importante nel ciclo vitale dei batteri, in quanto regola il tasso di crescita, e in alcuni casi l'espressione della virulenza. Nelle acque temperate- fredde la comunità batterica è costituita da batteri psicrofili gram-positivi, la cui temperatura ottimale di crescita è inferiore o uguale a 15 °C (range 0-20°C). Nelle regioni tropicali, invece, la comunità batterica è formata da batteri mesofili, gram-negativi con temperature ottimali di crescita medie (20-30°C). I soli batteri sicuramente patogeni per l'uomo, costituenti naturali della microflora dell'ambiente e degli animali marini, sono il *Clostridium botulinum* e le *Vibrionaceae* (ISS, 2005a).

Clostridium botulinum: deriva prevalentemente da sedimenti e i sierotipi e i ceppi non proteolitici di tipo B e F possono essere anche isolati dall'intestino, e più raramente dalla pelle dei pesci. Il botulino può costituire un patogeno per i pesci stessi quando questi si cibano di resti di organismi morti (ISS, 2005a). Speciaimente le condizioni di acquicoltura possono aumentare notevolmente l'incidenza di *C. botulinum*, del quale sono state descritte epidemie in allevamenti di trote e salmoni (ISS, 2005a).

Famiglia *Vibrionaceae*:

Il genere *Vibrio* è costituito da bacilli gram negativi mobili, per la presenza di un flagello monotrico o multitrice racchiuso in un rivestimento continuo con la membrana esterna della parete cellulare. I vibrioni presentano metabolismo sia fermentativo che

aerobio e non producono spore (Crocì e Suffredini, 2003). Sono batteri mesofili, si riproducono rapidamente a temperature tra 20-40 °C, e sono praticamente assenti nelle acque fredde (ISS, 2005a). I vibrioni, come la maggior parte dei batteri autoctoni, sono notevolmente influenzati da fattori ambientali quali la temperatura, salinità, concentrazione dei nutrienti e pH. Alle avverse condizioni ambientali rispondono con una serie di adattamenti fisiologici e biochimici, ed entrano in uno stadio di quiescenza. In questo stadio il batterio è vitale e patogeno, ma non sono coltivabili con i tradizionali metodi di isolamento, inoltre subiscono cambiamenti morfologici e fisiologici come la diminuzione delle dimensioni, riduzione del ritmo di respirazione, arresto del ciclo di divisione cellulare (ISS, 2005a). Al di sotto di 15 °C il vibrione entra nella fase di quiescenza.

Vibrio cholera: *Vibrio cholera* è presente in acque relativamente calde e a bassa salinità, ed è molto spesso associato allo zooplancton. E' stato isolato in tutto il mondo Africa, Asia, Sud e Nord America, Europa, ma solo in alcune regioni, soprattutto tropicali e sub tropicali rimane endemico.

L'aumento globale della temperature può modificare ed ampliare le zone di incidenza di questo patogeno, esponendo un maggior numero di persone al rischio di infezione (Lipp et al., 2002).

Il sierogruppo responsabile del colera endemico è *V. cholera* O1, suddiviso in due biotipi: il "classico" e O1 El tor. Tutti i sierogruppi diversi da O1 vengono definiti come non-O1. Essi sono associati a casi sporadici di gastroenterite e lievi forme di malattia simili al colera e, fino a qualche anno fa, erano ritenuti incapaci di provocare colera epidemico. Recentemente è stato isolato un ceppo emergente O139, responsabile di un epidemia in Bangladesh nel 1992 (Crocì e Suffredini, 2003).

Sembra che O139 derivi dalla ricombinazione genetica tra O1 el tor e non-O1, infatti O139 presenta una capsula tipica di non – O1, ma non di El tor. Nuovi ceppi patogeni sembrano derivare, indipendentemente dal progenitore non patogeno non- O1. quest'ultimo sopravvive bene in ambiente e resiste a detergenti chelanti più di O1. La sierocoverzione da non-O1 a O1 avviene a tutte le temperature, ma è più rapida a una temperatura di circa 35 °C. La temperatura contribuisce a aumentare il tasso di crescita in *V. cholera* e la ricombinazione genetica. Sembra che la conversione sia dovuta all'azione di fagi temperati (trasferimento orizzontale), favoriti da condizioni ottimali di luce e temperatura (Lipp et al., 2002).

Vibrio parahaemolyticus: Fa parte della flora batterica delle acque marine costiere delle regioni tropicali e temperate. Nelle zone temperate la proliferazione di questi batteri avviene soprattutto nei mesi estivi, mentre viene raramente isolato nei mesi invernali. La maggiore via di esposizione al batterio è il consumo di prodotti della pesca. Il potenziale rischio per la salute umana, è dovuto al fatto che un aumento eccessivo della temperatura del mare, permetterebbe di raggiungere rapidamente concentrazioni tali da indurre malattie in individui adulti (Crocì e Suffredini, 2003).

Vibrio vulnificus: naturalmente presente nelle acque di estuario e ambienti marini. L'organismo ha un'ampia distribuzione, ma si riscontra principalmente in ambienti tropicali al di sopra di 18 °C. Gram negativo, un singolo flagello polare, bastoncello curvo, fermenta il lattosio, Esistono due biotipi, il biotipo1 è patogeno per l'uomo.

Il *V. vulnificus* è comunemente isolato dai molluschi. Si trova solitamente in concentrazione inferiore rispetto al *V. parahaemolyticus* ma il suo numero può raggiungere 10⁵ cellule per g di mollusco, quando vengono raccolti da acque molto calde. A differenza del *V. parahaemolyticus* sembra dimorare anche in acque fredde tanto che, in alcuni casi, è stato isolato nelle coste del Maine e della Nuova Scozia, nonché in acque costali dell'Olanda (Crocì e Suffredini, 2003). Le infezioni da *V. vulnificus* sono abbastanza sporadiche e sono solitamente associate al consumo di ostriche, mentre pesci e crostacei sembrano avere minore peso nella trasmissione dell'infezione. La dose infettante per questa specie però è, a differenza degli altri vibrii, molto bassa (10³ unità) specialmente in alcuni gruppi con patologie predisponenti (malattie epatiche, diabete, immunodepressione, tumori maligni) o con comportamenti a rischio (abuso di alcol). I sintomi delle infezioni alimentari da *V. vulnificus* si manifestano principalmente al di fuori dell'intestino ed includono febbre, brividi e nausea piuttosto che gastroenterite. Il batterio, inoltre, causa setticemia e, in molti casi, lesioni cutanee, come vesciche e ulcere necrotizzanti, che si sviluppano nelle estremità e nel tronco (Crocì e Suffredini, 2003).

Aeromonas spp.: batterio a bastoncello, gram negativo, ubiquitario di tutti gli ambienti acquatici. La sua presenza è stata associata a casi di gastroenteriti, ma il suo ruolo nell'eziologia delle patologie da gastroenteriti non è del tutto chiara. Finora sono state distinte specie psicrofile come *A. salmonicida* e specie mesofile come *A. hydrophila*, *A. sobria*, *A. caviae*, *A. veronii* e *A. schubertii*.

I due gruppi si distinguono dal range di temperatura ottimale per la crescita, che corrisponde a 15-20°C per le specie psicrofile, le quali possono anche crescere a temperature più basse (0-10°C), mentre per la specie mesofile l'optimum è intorno ai 35°C, ma possono crescere anche a temperature di 40-45 °C.

Sembra che i batteri patogeni per l'uomo sono quelli adattati a vivere nelle acque calde. L'espressione di virulenza in alcuni casi sembra sia influenzata da fattori ambientali e stagionali. Rischio di infezione è basso. Contatto può avvenire per ingestione di acqua e cibo (ISS, 2005a).

I batteri naturalmente presenti nelle acqua marina e di estuario, si moltiplicano con un tasso maggiore all'aumentare della temperatura ambientale. Come avviene per il colera, scambi di materiale genetico possono verificarsi con maggiore frequenza, nuovi ceppi emergenti potenzialmente patogeni potrebbero derivare anche da ceppi non patogeni presenti in natura.

Batteri enterici da contaminazione fecale

Campylobacter spp.: Famiglia *Campylobacteriaceae*, genere *Campylobacter*, sono virus mobili, gram negativi. Questi organismi crescono bene a temperature elevate; *C. jejuni* è caratterizzato da una temperatura di crescita ottimale di 42 °C, per le altre specie la temperatura ottimale si aggira intorno ai 37 °C, comunque per tutte le specie del genere la crescita si arresta al di sotto dei 30 °C.

L'habitat naturale per campylobacter è il tratto intestinale di animali a sangue caldo, in ambiente esterno è in grado di sopravvivere in una forma dormiente ma vitale, ma non può moltiplicarsi (Carraro et al., 2004). Disturbi associati al genere *Campylobacter* sono dolori addominali e diarrea acuta, sintomi tipici di gastroenteriti batteriche. La trasmissione del batterio può avvenire attraverso il consumo di carne infetta o tramite contatto con acqua contaminata da escrezioni infette animali e umane (Pond K., 2005).

Campylobacter è spesso isolato nelle acque superficiali ad uso ricreazionale, anche se in pochissimi casi è stata riportata una associazione diretta tra gastroenteriti e balneazione (Pond K., 2005).

Escherichia coli O157: Appartiene alla famiglia delle *Enterobacteriaceae*, di cui fanno parte 15 generi, ognuno dei quali è caratterizzato dal sierotipo H e O. *E. coli* è un batterio ubiquitario dell'intestino umano e nella maggior parte dei casi non è patogeno per l'uomo,

ma vi sono però 5 gruppi patogeni, tra cui *E. coli* 0157, che possono causare disturbi nell'uomo (Pond K., 2005). La presenza di *E. coli* in ambiente acquatico è sicuro indice di contaminazione fecale. L'esposizione più frequente al batterio avviene per contatto ed ingestione di cibo e acqua contaminati. Sono stati riportati numerosi casi di infezione associate ad acque superficiali a scopo ricreazionale, ma la maggior parte di questi è riferita a piscine pubbliche, laghi e fiumi (Pond K., 2005)..

Altri batteri patogeni per l'uomo come *Helicobacter pylori*, *Leptospira spp.*, *Salmonella thiphy* derivano tutti da contaminazione fecale, si moltiplicano a temperatura superiore o uguale a 37 °C, generalmente non si moltiplicano in ambiente esterno ma persistono sotto forma dormiente, non coltivabile.

Bibliografia

Capitolo 1

APAT, 2007a. Cambiamenti climatici e eventi estremi: Rischi per la salute in Italia. Agenzia di Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici, Roma, 182 pp.

APAT, 2007b. Cambiamenti Climatici. Workshop Conferenza Nazionale 2007. Agenzia di Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici, Roma, 216 pp.

Bindoff N., Willebrand J., Artale, A. V. Cazenave, Gregory J., Gulev, K. Hanawa S., LeQuéré C. and Co-authors, 2007: Observations: Oceanic climate change and sea level. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, S. Solomon, D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M.

Cerrano C., Bavestrello G., Bianchi C.N., Cattaneo-vietti R., Bava S., Morganti C., Morri C., Picco P., Sara G., Schiaparelli S., Siccardi A. and Sponga F., 2000. A catastrophic mass-mortality episode of gorgonians and other organisms in the Ligurian Sea (North-western Mediterranean), summer 1999. *Ecology Letters* 3: 284–293.

CIESM, 2002. Tracking long-term hydrological change in the Mediterranean Sea. CIESM Workshop Monograph n°26, 116 pages, Monaco
www.ciesm.org/publications/Monaco02.pdf

Confalonieri U. et al. (2007, in press). Human Health. In: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.: Cambridge University Press.

EEA, 2005. Climate change and river flooding in Europe. European Environment Agency Briefing 1/2005, Copenhagen, 4 pp.

EEA, 2006. The changing faces of Europe's coastal areas. European Environment Agency Report 6/2006, Copenhagen, 112 pp.

EEA, 2007a. Europe's environment. The fourth assessment. European Environment Agency, Copenhagen, 452 pp.

EEA, 2007b. Climate change and water adaptation issues. European Environment Agency Report 2/2007, Copenhagen, 114 pp.

ESF, 2007. Impacts of Climate Change on the European Marine and Coastal Environment, Ecosystems Approach. Philippart, R. Anadón, R. Danovaro, J.W. Dippner, K.F. Drinkwater, S.J. Hawkins, T. Oguz, P.C. Reid (eds.)). European Science Foundation Position Paper 9. Marine Board. www.esf.org/marineboard

European Commission, DG joint research centre, 2006. Coastal dimension of climate change in Europe. A report to European water directors. EUR 22554 EN, pg. 123.

Ferrara V., 2002. Evoluzione del clima ed impatti dei cambiamenti climatici in Italia. Sintesi del contributo ENEA alla Terza Comunicazione Nazionale dell'Italia alla UN-FCCC. Enea, Progetto Speciale Clima.

Fuda J.L., Millot C. and CIESM group, 2006. The CIESM observational network for understanding long-term hydrological changes in the Mediterranean Sea. In: European Operational Oceanography: Present and Future, eds. H. Dahlin, N. C. Flemming, P. Marchand, and S. E. Petersson, Proceedings of the 4th International Conference on EuroGOOS, 6-9 June 2005, Brest, France. European Commission EUR 21697, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg

Giorgi F., Bi X., Pal J.S., 2004. Mean, interannual variability and trends in a regional climate change experiment over Europe. I. Present-day climate (1961-1990). *Climate Dynamics*, 22 (6-7):733-756.

IACMST (Inter-Agency Committee on Marine Science and Technology), 2004. UK marine waters. Marine processes and climate: Sea temperature.

http://www.oceannet.org/meddag/reports/IACMST_report/ch_temp/MCPreport_temp.htm

IPCC, 2007a. Climate Change 2007 - The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller Eds.. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 996 pp.

IPCC, 2007b. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden and C.E. Hanson, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 976pp.

IPCC, 2007c. Climate Change 2007: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Core Writing Team, R.K. Pachauri and A. Reisinger, Eds. IPCC, Geneva, Switzerland, 102 pp.

Marullo S. e Guarracino M., 2003. L'anomalia termica del 2003 nel mar Mediterraneo osservata da satellite. ENEA - Progetto Speciale Clima Globale.

Räisänen J. et al., 2004. European climate in the late twenty-first century: regional simulations with two driving global models and two forcing scenarios. *Climate Dynamics*, 22: 13-31.

Rayner N. A., Brohan, P., Parker, D. E., Folland C. K., Kennedy J. J., Vanicek M., Ansell T. and Tett S. F. B., 2006. Improved analyses of changes and uncertainties in sea surface temperature measured in situ since the mid-nineteenth century: the HadSST2 data set. *Journal of Climate* 19(3) pp. 446–469. <http://hadobs.metoffice.com/hadsst2/diagnostics/hemispheric/northern/>.

Rixen M., Beckers J.M., Levitus S., Antonov J., Boyer T., Maillard C., Fichaut M., Balopoulos E., Iona S., Dooley H., Garcia M.J., Manca B., Giorgetti A., Manzella G., Mikhailov N., Pinardi N., Zavatarelli M., 2005. The Western Mediterranean Deep Water: A proxy for climate change. *Geophys Res. Letters*, 32: L12608, doi:10.1029/2005GL022702.

Roether W., Manca B.B., Klein B., Bregant D., Georgopoulos D., Beitzel V., Kovaevi V. and Luchetta A. (1996) Recent changes in the Eastern Mediterranean Deep Waters. *Science* 271: 333-335.

SINAPSI, 2004. Marine Ecosystem. Relazione finale.

WBGU, 2006. The Future Oceans—Warming up, Rising High, Turning Sour. German Advisory Council on Global Change Special Report, Berlin, 2006, 123 pp.

Capitolo 2

Abad F. X., Villana C., Guix S., Caballero S., Pintò R. M. and Bosh A., 2001. Potential Role of Fomites in the Vehicular Transmission of Human Astroviruses. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (9): 3904-3907.

Aulicino F.A., Mauro L., Marranzano M., Biondi M., Ursino A. and Carere M., 2000. Microbiological qualità of the Catania costal seawater. *Annali di Ingegneria*, 12: 533-541.

Auvinen P. and Hyypiä T., 1990. Echovirus include genetically distinct serotypes. *Journal of General Virology*, 71: 2133 – 2139.

Brock T.D., Madigan M.D., Martino J.M. and Parker J., 2002. *Microbiologia*. Città Studi Edizioni

Caballero S., Abad F.X., Loisy F., Le Guyader F.S., Cohen J., Pintò R. M. and Bosh A., 2004. Rotavirus Virus-Like Particles as Surrogates in Environmental Persistence and Inactivation Studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (7): 3904-3909.

CIESM, 2004. Novel contaminants and pathogens in coastal waters. CIESM Workshop Series n°16, 134 pages, Monaco www.ciesm.org/publications/Neuchatel04.pdf.

CIESM, 2007. Marine sciences and public health – some major issues. CIESM Workshop Monograph n°31, Monaco www.ciesm.org/online/monograph/geneva07.pdf.

Clemente-Casares P., Pina P., Buti M., Jardi R., Martín M., Bofill-Mas S. and Girones R., 2003.

Hepatitis and Virus Epidemiology in Industrialized Countries. *Emerging Infectious Diseases*, 9(4): 448-454.

Croci L. e Suffredini L., 2003. Rischio microbiologico associato al consumo di prodotti ittici. *Annali Istituto Superiore di Sanità*, 39(1):35-45.

Dulbecco R. e Ginsberg H.S., 1993. *Virologia*. Ed Zanichelli.

Fong T. and Lipp E.K., 2005. Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69(2):357-371

Gandolfi C., 2003. I virus enterici trasmessi attraverso il consumo di molluschi bivalvi. ASL Bergamo, Dipartimento Prevenzione Veterinario. www.asl.bergamo.it/web/intvet.nsf/

Griffin D.W., Donalson K.A., Paul J.H. and Rose J.B., 2003. Pathogenic human viruses in costal water. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1): 129-143.

Hejkal T.W. and Gerba C.P., 1981. Uptake and Survival of Enteric Viruses in the Blue Crab, *Callinectes sapidus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 41: 208-211.

Hogg, J., 2000. Latent adenoviral infection in the pathogenesis of emphysema. *Chest*, 117: 282S-285S.

ISS, 2004. Workshop di aggiornamento su problematiche emergenti nel settore dei prodotti ittici. Istituto Superiore di Sanità, Roma, 24-25 maggio 2004.

Labelle R. and Gerba C.P., 1979. Influence of pH, Salinity, and Organic Matter on the Adsorption of Enteric Viruses to Estuarine Sediment. *Applied and environmental Microbiology*, 38: 93-101.

Labelle R. and Gerba C.P., 1980. Influence of Estuarine Sediment on Virus Survival Under Field Conditions . *Applied and environmental Microbiology*, 39: 749-755.

Labelle R., Gerba C.P., Goyal S.M, Melnick J.L., Cech I. and Bogdan G.F., 1980. Relationships Between Environmental Factors, Bacterial Indicators, and the Occurrence of Enteric Viruses in Estuarine Sediments. *Applied and environmental Microbiology*, 39: 588-596.

Lipp E.K., Hug A. and Colwell R.R., 2002 . Effects of global climate on infectious diseases: the Cholera model. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(4): 757-770.

Lo S., Gilbert J. and Hertrich, 1976. Stability of Human Enteroviruses in Estuarine and Marine Waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 32: 245-249.

Loisy F., Atmar R.L. , Cohen J., Bosch A. and Le Guyader F.S., 2004. Rotavirus VLP2/6: a new tool for tracking rotavirus in the marine environment. *Research in Microbiology* 155: 575–578

Lopman B.A., Reacher M., Gallimore C, Adark G.,K., Gray J.J., Brown W.G., 2003. A summertime peak of "winter vomiting disease": Surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. *BMC Public Health* 2003, 3:13

Meng X., Purchell R.H., halbur P.G., Lehmans J.R., Webb D.M., Tsareva T.S., Haynes JS.,Thacker B.J., and Emerson S.U., 1997.A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proceedings of the National Academy of Science USA*, 94: 9860–9865.

Metcalf T.G., Melnick L. and Estes M.K., 1995. Environmental virology: from detection of virus in sewage and water by isolation to identification by molecular biology. A trip of over 50 years. *Annual Reviews of Microbiology*, 46: 461-67.

Mounts A. W., Ando T., Koopmans M.,Bresee J.B., Noel J. and Glass R.I., 2000. Cold Weather Seasonality of Gastroenteritis Associated with Norwalk-like Viruses. *The Journal of Infectious Diseases*,181 (Supl 2):S284–7.

Muscillo M., 2007. Isolamento ed identificazione di enterovirus, adenovirus e norovirus nell'acqua e nelle altre matrici ambientali. Istituto Superiore di Sanità.
www.iss.it/binary/aqua/cont/Muscillo.1194270195.pdf

Muscillo M. and La Rosa G., 1995. Rapporto sulle malattie infettive di origine idrica. La reazione di polimerizzazione a catena per l'identificazione dei virus enterici nell'acqua. Rapporti Istituto Superiore di Sanità 95/33.

Muscillo M., La Rosa G., Manoocher P. e Iaconelli M., 2008. I virus nell'acqua e le malattie idrotrasmesse. Istituto Superiore di Sanità.

Muscillo M., La Rosa G., Aulicino F.A., Orsini P., Bellucci, C. and Micarelli, R., 1995. Comparison of cDNA probe hybridizations and RT-PCR detection methods for the identification and differentiation of enteroviruses isolated from sea water samples. *Water Research*, **29**(5), 1309–1316.

Pond Kathy, 2005. Water recreation and disease. World Health Organization

Seymour I.J. and Appleton H., 2001. Foodborne viruses and fresh produce. *Journal of Applied Microbiology* 91: 759-773.

Shaub S.A., Oshiro R.K., 2000. Public Health Concerns about Caliciviruses as Waterborne Contaminants. *The Journal of Infectious Diseases*, 181 (Supp.2): S347-80.

Sinton L.W., Finlay R.K. and Lynch P., 1999. Sunlight Inactivation of Fecal Bacteriophages and Bacteria in Sewage-Polluted Seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 65 (8): 3605-3613.

Wait D.A. and Sobsey M.D., 2001. Comparative survival of enteric viruses and bacteria in Atlantic ocean seawater. *Water Science and Technology*, 43: 139-142.

Weinbauer M.G., Wilhelm S.W, Suttle C.A. and Garza D.R. Photoreactivation Compensates for UV Damage and Restores Infectivity to Natural Marine Virus Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(6): 2200-2205.

WHO, 2001. Epatitis E. WHO Department of Communicable Disease Surveillance and Response, Geneva. WHO/CDS/CSR/EDC/2001.12.

Wommak K.E. and Colwell R.R., 2000. Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 64 (1): 69-114.

Capitolo 3

Clemente-Casares P., Pina P., Buti M., Jordi R., Martín M., Bofill-Mas S. and Girones R., 2003. Hepatitis and Virus Epidemiology in Industrialized Countries. Emerging Infectious Diseases, 9(4): 448-454.

Carraro E., Bonatto S., Palumbo F. e Gilli G., 2004. Rischio microbiologico associato al consumo di acqua potabile nei paesi industrializzati. Annali Istituto Superiore di Sanità, 40(1): 117-140.

CIESM, 2004. Novel contaminants and pathogens in coastal waters. CIESM Workshop Series n°16, 134 pages, Monaco www.ciesm.org/publications/Neuchatel04.pdf.

CIESM, 2007. Marine sciences and public health – some major issues. CIESM Workshop Monograph n°31, Monaco www.ciesm.org/online/monograph/geneva07.pdf.

Cunningham W.P., Cunningham M.A. and Saigo Woodworth B., 2003. Ecologia Applicata. Edizione italiana, Mc Graw Hill.

EEA, 2006a. Priority issues in the Mediterranean environment. European Environment Agency Report 4/2006, Copenhagen, 92 pp.

EEA, 2007a. Europe's environment. The fourth assessment. European Environment Agency, Copenhagen, 452 pp.

Gallimore C.I, Green J., Lewis D., Richards A.F., Lopman B.A., Hale A.D., Eglin R., Gray J.J. and Brown D.W.G., 2004. Diversity of Noroviruses Cocirculating in the North of England from 1998 to 2001. *Journal of Clinical Microbiology* 42(4): 1396–1401.

IPCC, 2007b. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden and C.E. Hanson, Eds., Cambridge University Press, Cambridge, UK, 976pp.

ISS, 2005a. Workshop di aggiornamento su problematiche emergenti nel settore dei prodotti ittici. Rapporti Istituto Superiore di Sanità Roma, 24-25 maggio 2004.

ISS, 2005b. Workshop nazionale di virologia veterinaria. Diagnostica ed epidemiologia delle infezioni virali degli animali. Congressi Istituto Superiore di Sanità, Roma, 28-29 novembre 2005.

Lopman B.A., Reacher M., Gallimore C, Adark G.,K., Gray J.J., Brown W.G., 2003. A summertime peak of "winter vomiting disease": Surveillance of noroviruses in England and Wales, 1995 to 2002. *BMC Public Health* 2003, 3:13

Lopman B., Vennema H., Kohli E., Pothier P., Sanchez A., Koopmans M., et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *Lancet*, 28 (363): 682–8.

Morse, 1997. The Public Health Threat of Emerging Viral Disease. *The Journal of Nutrition*, 127(5 Suppl): 951S-957S.

Rose J.B, Epstein P.R, Lipp E.K., Sherman B.H., Bernard S.M. and Patz Jonathan A., 2001. Climate Variability and Change in the United States: Potential Impacts on Water and Foodborne Diseases Caused by Microbiologic Agents. *Environmental Health Perspectives*, 109 (S2): 211-221.

Simmonds P. and Welch J., 2006. Frequency and Dynamics of Recombination within Different Species of Human Enteroviruses. *Journal of Virology*, 80(1): 483–493.

Smith A.W., Skilling D.E, Cherry N., Mead J.H. and Matson D.O., 1998. Calicivirus Emergence from Ocean Reservoirs: Zoonotic and Interspecies Movements. *Emerging Infectious Diseases*, 4:13-20.

Smith A. W., Berry E. S., Skilling D. E., Barlough J. E., Poet S. E., Berke T. , Mead J. and Matson D. O., 1998. In Vitro Isolation and Characterization of a Calicivirus Causing a Vesicular Disease of the Hands and Feet. *Clinical Infectious Diseases*, 26: 434-439.

Villena C., El-Senousy W. M., Abad F. X., Pinto' R. M., and Bosch A., 2003. Group A Rotavirus in Sewage Samples from Barcelona and Cairo: Emergence of Unusual Genotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(7): 3919-3923.

WHO, 2003. Emerging Issues in Water and Infectious Disease. World Health Organization, Geneva

WHO, 2004. Waterborne Zoonoses. World Health Organization, Geneva

Capitolo 4

APAT, 2007a. Cambiamenti climatici e eventi estremi: Rischi per la salute in Italia. Agenzia di Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici, Roma, 182 pp.

Bonadonna L., 2003. Il rischio associato alle attività di balneazione e le difficoltà legate alla sua previsione attraverso l'uso degli indicatori di contaminazione fecale. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 39 (1): 47-52.

Burkhardt W. et Calci K.R., 2000. Selective accumulation may account for shellfish-associated viral illness. *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (4):1375-1378.

Carraro E., Bonatto S., Palumbo F. e Gilli G., 2004. Rischio microbiologico associato al consumo di acqua potabile nei paesi industrializzati. *Annali Istituto Superiore di Sanità*, 40(1): 117-140.

Croci L., De medici D., Scalfaro C., Fiore A., Dovizia M., D. Donia D., Cosentino A.M., Moretti P. and Costantini G., 2000. Determination of enteroviruses, hepatitis A virus, bacteriophages and *Escherichia coli* in Adriatic Sea mussels. *Journal of Applied Microbiology* 88: 293–298

Croci L., De medici D., Cicozzi M., Di Pasquale S., Suffredini E. and Toti L., 2004. Contamination of mussels by hepatitis A virus: a public- health problem in southern Italy. *Food Control*, 14: 559-563.

Di Girolamo, R., J. Liston, and J. Matches. 1977. Ionic bonding, the mechanism of viral uptake by shellfish mucus. *Applied and Environmental Microbiology* 33:19–25.

Dionisi A., Schinaia N., Arcieri R., Ripabelli G., e Luzzi I., 2003. Associazione tra balneazione ed infezioni gastroenteriche. *Annali Istituto Superiore di Sanità*, 39(1):29-34.

Enriquez C.E. and C.P. Gerba. 1995. Concentration of enteric adenovirus 40 from tap, sea, and waste water. *Water Research*, 29: 2554-2560.

Formiga-Cruz M., Tofin~o-Quesada G., Bofill-Mas S., Lees D. N., Henshilwood K., A. K. Allard A. K., A.C. Conden-Hansson A.C., B. E. Hernroth B. E., Vantarakis A., Tsibouxi A., Papapetropoulou M., Furones M. D. and Girones R., 2002. Distribution of Human Virus Contamination in Shellfish from Different Growing Areas in Greece, Spain, Sweden, and the United Kingdom. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(12): 5990-5998.

Gandolfi C., 2003. I virus enterici trasmessi attraverso il consumo di molluschi bivalvi. ASL Bergamo, Dipartimento Prevenzione Veterinario. www.asl.bergamo.it/web/intvet.nsf/

Germinario C., Lopalco P. L., Chironna M., Da Villa G., 2000. From hepatitis B to hepatitis A and prevention: the Puglia (Italy) experience. *Vaccine* 18: S83-S85.

Girones R., Allard A., Wadell G. and Jofre J., 1993. Application of PCR to the detection of adenoviruses in polluted water. *Water Science and Technology* 27: 235–241.

Koopmans M., Von Bonsdorff C.H., Vinje J., De Medici D., and Monroe S., 2002. Foodborne viruses. *FEMS Microbiology Reviews* 26: 187-205.

Le Guyader F.S., Loisy F., Atmar R.L., Huston A.M., Estes M.K., Ruvoën-Clouet N., Pommepuy M. and Le Pendu J., 2006. Norwalk Virus-specific binding to oyster digestive tissues. *Emerging Infectious Diseases*, 12(6): 931 – 936.

Muscillo M., La Rosa G., Manoocher P. e Iaconelli M., 2008. I virus nell'acqua e le malattie idrotrasmesse. Istituto Superiore di Sanità.
www.iss.it/binary/aqua/cont/Riferimenti%20Malattie%20virali%20idrotrasmesse.1206530058.pdf

Pond Kathy, 2005. Water recreation and disease. World Health Organization

Prato R., Lo palco P., Chironna M.2, Barbuti G., Germinarlo G. and Quarto M., 2004. Norovirus gastroenteritis general outbreak associated with raw shellfish consumption in South Italy. *BMC Infectious Diseases* 2004, 4:37-42.

Puig M., Jofre J., Lucena F., Allard A., Wadell G. and Girones R.,1994. Detection of adenoviruses and enteroviruses in polluted water by nested PCR amplification. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 2963–2970

Rippey S.R., 1994. Infectious Diseases Associated with Molluscan Shellfish Consumption. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4):419-425

Rockx B., De Wit M., Vennema H., Vinjè J., De Bruin E., Van Duynhoven Y. and Koopsman M., 2002. Natural history of human calicivirus infection. *Clinical Infectious Diseases*

Rose J.B, Epstein P.R, Lipp E.K., Sherman B.H., Bernard S.M. and Patz Jonathan A., 2001. Climate Variability and Change in the United States: Potential Impacts on Water and Foodborne Diseases Caused by Microbiologic Agents. *Environmental Health Perspectives*, 109 (S2): 211-221.

Seymour I.J. and Appleton H., 2001. Foodborne viruses and fresh produce. *Journal of Applied Microbiology* 91: 759-773.

Taralietto A., 2004. Il Mediterraneo, nuovo paradiso tropicale. *Nautes* 2/2004, IPSEMA.

UNEP, 2003. Assessment of transboundary issues in the Mediterranean Sea. Mediterranean action plan, Athens 2003, 316 pp.

UNEP, 2005. Transboundary diagnostic analysis for the Mediterranean sea. UNEP/MAP/MEDPOL Athens 2005, 232 pp.

UNEP, 2007. Assessment of the state of microbial pollution of the Mediterranean Sea. Meeting of MED POL National Coordinators, Hammamet (Tunisia), 25-28 June 2007, 98 pp.

UNEP/WHO, 1996. Assessment of the state of microbial pollution of the Mediterranean Sea. Mediterranean Action Plan Technical Reports Series No. 108, Athens 1996, 283 pp.

WHO, 2003. Guidelines for Safe Recreational Water Environments, vol. 1, Coastal and Freshwaters. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 260 pp.