

RELAZIONE SAL 4 ADAMO

WP7

Sapienza Università di Roma

Massimo Reverberi*, Daniela Uccelletti#, Maria Laura Santarelli**

* Dipartimento Biologia Ambientale

Dipartimento Biologia e Biotecnologie

** Dipartimento Ingegneria Chimica Materiali e Ambiente

Durante il progetto sono stati effettuati campionamenti nella zona ipogea della Chiesa di S. Nicola in Carcere a Roma, sito culturale soggetto ad un'alta presenza di umidità; per questo i muri sono caratterizzati da efflorescenze saline che hanno danneggiato gli affreschi presenti nella zona suddetta. I prelievi biologici sono stati ottenuti usando nastro adesivo o tamponi sterili sulle zone dell'ipogeo colpite dai danni maggiori. È stata analizzata la presenza di organismi appartenenti a batteri, funghi o piante, usando specifici primers per l'amplificazione della regione del rDNA 16S. L'amplificazione di DNA da microrganismi presenti su due campioni di nastro adesivo ha permesso di osservare la presenza di tutti i regni presi in esame (Figura 1).

L'amplificazione del rDNA 16S e il successivo sequenziamento di batteri isolati dal muro nella zona ipogea della basilica ha rilevato la presenza di quattro specie batteriche: *Paenibacillus pabuli* IP3 (accession number: MN493858), *Kocuria rhizophila* IP5 (accession number: MN493859), *Bacillus licheniformis* IP7 (accession number: MN493860) and *Stenotrophomonas maltophilia* IP9 (accession number: MN493861). Il test di suscettibilità agli antibiotici è stato effettuato usando 19 antibiotici coinvolti nell'inibizione della sintesi della parete batterica, della sintesi proteica e degli acidi nucleici. Come riportato in Tabella 1, tutti i ceppi batterici sono risultati resistenti all'aztreonam. Inoltre, *S. maltophilia* IP9 ha mostrato una resistenza agli antibiotici più alta rispetto agli altri ceppi batterici. In particolare, è risultato resistente a 12 antibiotici, tra cui penicillina, eritromicina e ampicillina. Al contrario, *B. licheniformis* IP7 ha mostrato una bassa resistenza, dal momento che gli aloni di inibizione erano visibili solo nel caso della tetraciclina, fosfomicina e aztreonam.

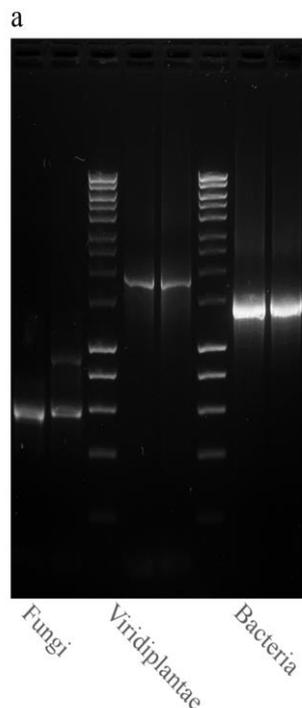


Figura 1. Gel elettroforetico mostrante le differenti PCR per entrambi i campioni analizzati.

Tabella 1. Suscettibilità agli antibiotici dei quattro ceppi batterici isolati dalla zona ipogea.

Antibiotico	<i>P. pabuli</i>	<i>K. rhizophila</i>	<i>B.</i>	<i>S. maltophilia</i>
-------------	------------------	----------------------	-----------	-----------------------

	IP3	IP5	<i>licheniformis</i> IP7	IP9
Vancomicina	- (1,3 cm)	- (0.8 cm)	- (1 cm)	- (0.5 cm)
Clindamicina	+	+	- (0.6 cm)	+
Cefalotina	+	+	- (1 cm)	+
Tobramicina	- (0.7 cm)	- (0.5 cm)	- (0.7 cm)	- (0.5 cm)
Ampicillina	- (0.8 cm)	- (0.9 cm)	- (1.2 cm)	+
Cefotaxima	+	+	- (0.7 cm)	+
Cloramfenicolo	- (0.6 cm)	- (1 cm)	- (1 cm)	- (1 cm)
Tetraciclina	- (1.7 cm)	- (0.8 cm)	+	- (0.5 cm)
Eritromicina	- (1.5 cm)	+	- (0.5 cm)	+
Amikacina	- (1.1 cm)	- (0.6 cm)	- (0.9 cm)	- (0.5 cm)
Oxacillina	+	+	- (0.5 cm)	+
Fosfomicina	+	- (1.1 cm)	+	+
Rifampicina	- (1.2 cm)	- (1.2 cm)	- (1.5 cm)	+
Gentamicina	- (0.7 cm)	- (0.7 cm)	- (0.7 cm)	- (0.4 cm)
Penicillina	- (1 cm)	+	- (1 cm)	+
Aztreonam	+	+	+	+
Carbenicillina	- (0.4 cm)	+	- (0.7 cm)	+
Mezlocillina	- (1 cm)	- (0.7 cm)	- (1.2 cm)	+
Streptomicina	+	+	- (1 cm)	- (0.7 cm)

Poichè il biodeterioramento è causato principalmente dalla capacità dei microorganismi di aggregarsi e produrre matrice extracellulare in grado di proteggerli dalle condizioni avverse, è stata valutata la capacità di questi isolati batterici di formare biofilm su superfici in plastica e vetro. *K. rhizophila* IP5, *B. licheniformis* IP7 e *S. maltophilia* IP9 hanno mostrato un'alta abilità di produrre biofilm su entrambe le superfici, mentre *P. pabuli* IP3 è risultato incapace di proliferare su plastica e vetro (Figura 2).

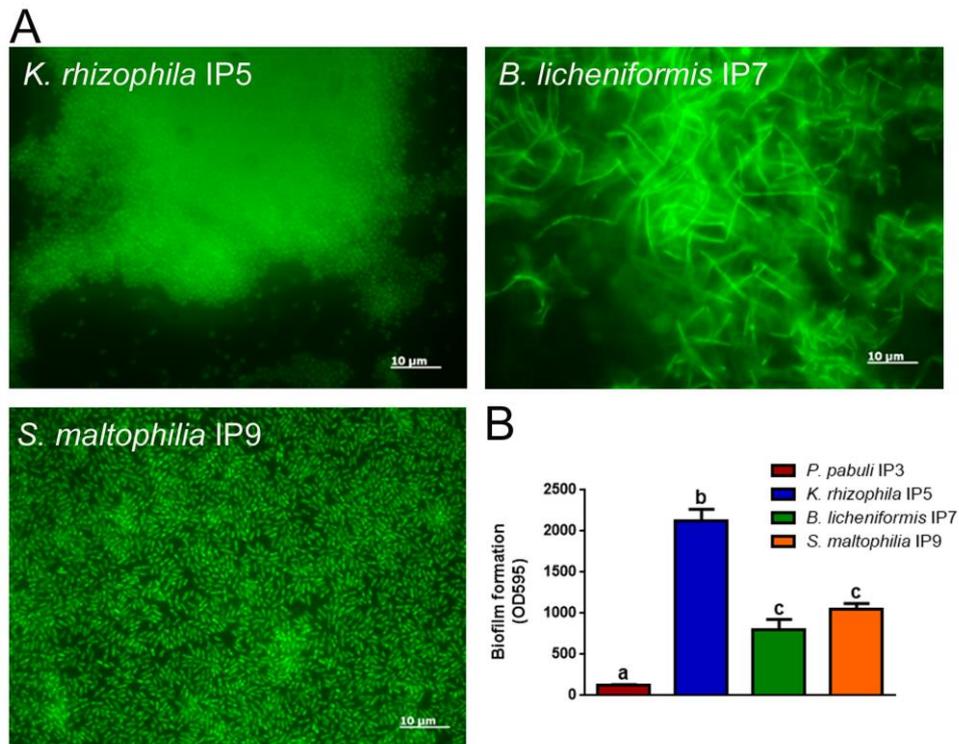


Figura 2. a) Immagini di microscopia a fluorescenza dei diversi isolati batterici formanti biofilm su vetro. b) Capacità di formare biofilm su plastica (lettere diverse indicano * $p < 0.05$).

Analisi di Spettroscopia IR in trasformata di Fourier (FTIR) sono state effettuate per valutare la composizione chimica delle efflorescenze saline diffuse sui muri della zona ipogea. Gli spettri IR hanno rilevato la presenza di solfato di calcio idrato, anche conosciuto come gesso, e bande di silicati (Figura 3). La formazione del gesso è dovuta alla presenza di solfati nelle murature del monumento per l'aumento della capillarità dell'acqua dal suolo. Un forte scambio di cationi tra la calcite delle malte con i solfati diluiti in acqua crea la condizione per la cristallizzazione del gesso. I silicati sono presenti per lo stesso motivo.

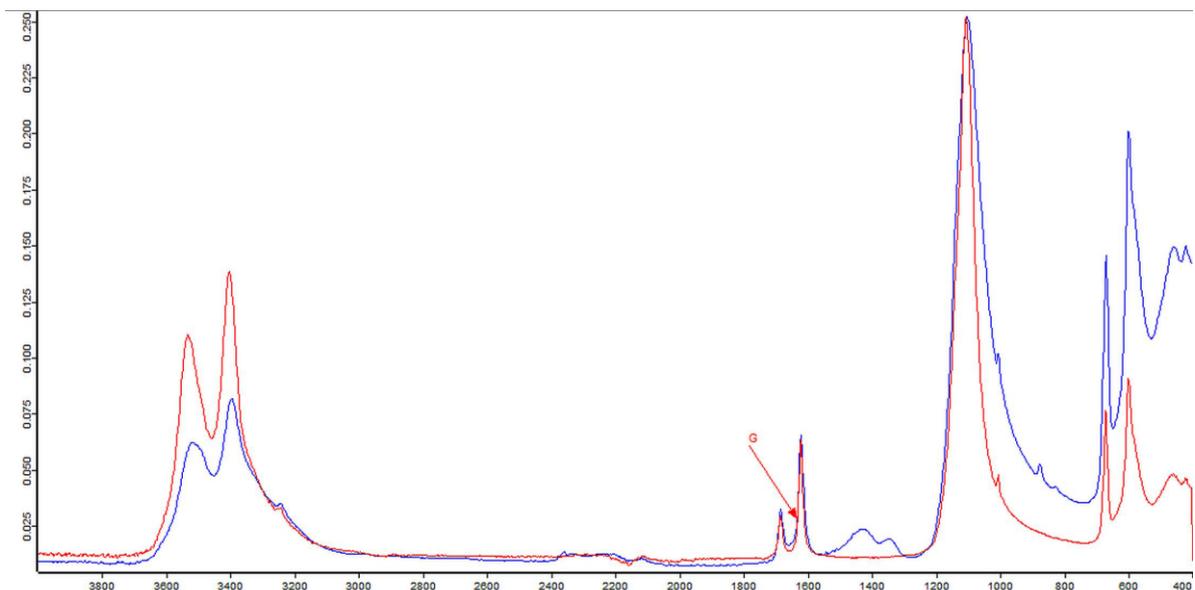


Figura 3. Spettro FTIR delle efflorescenze saline presenti sulle mura.

L'umidità presente nella chiesa di S. Nicola in Carcere, come in altri antichi monumenti ed edifici, favorisce la crescita di microrganismi. L'umidità induce una riduzione della stabilità della matrice della pietra, causando dissoluzione di carbonati, solubilizzazione di altri elementi e, successivamente, corrosione. I microrganismi, insieme a questi fattori abiotici, usano materiali lapidei come substrato, contribuendo all'aumento del deterioramento e del danno estetico. In effetti, è noto che il processo di biodeterioramento può essere dovuto alla produzione di acidi inorganici come acido nitrico e nitroso e sali prodotti da batteri nitrificanti. I generi *Bacillus*, *Kocuria* e *Paenibacillus* sono infatti in grado di crescere in presenza di nitrati senza ossigeno su substrati organici ed è riportato che siano coinvolti anche nella formazione delle efflorescenze saline. Pertanto, i risultati delle analisi FTIR, che hanno evidenziato la presenza di residui di nitrato e gesso su efflorescenze saline, sono risultati in accordo con la caratterizzazione di specie batteriche isolate dalla parete dell'ipogeo. In effetti, il metabolismo batterico di questi batteri nitrificanti potrebbe causare l'accumulo di sali sul muro della chiesa, causando macchie e scolorimento. Nel complesso, i dati ottenuti hanno sottolineato la necessità di integrare diversi approcci per comprendere e prevenire il fenomeno di biodeterioramento.

Attualmente sono in corso le caratterizzazioni per quanto riguarda i microrganismi isolati dalla parte bassa dell'abside.