Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale

biologia ambientale

6
novembre
dicembre
1997

BOLLETTINO **C.I.S.B.A.**

Spediz. in abbon. post. art. 2, comma 20/c, L. 662/96, filiale Reggio Emilia. Tassa pagata - Taxe perçue

Bimestrale, anno XI, n. 6/1997.

SOMMARIO

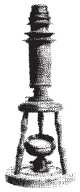
EDITORIALE 1

IGIENE AMBIENTALE 3
Indicatori batteriologici e controllo di qualità delle acque minerali naturali
*di **H. Leclerc** (traduzione di C. Francalanci e E. Papini)*

DEPURAZIONE 24
La rimozione biologica degli inquinanti gassosi
*Rassegna bibliografica a cura di **R. Azzoni***

RINATURAZIONE 35
Tempi duri per i cementificatori dei fiumi
Delibera del Consiglio Regionale Toscano n. 155 del 20 maggio 1997

NATUROPA 39
Formazione alla torre del Valat
di P. de Rancourt
Protezione dell'erpetofauna
di K. Corbett
WWF International nel Mediterraneo
di P. Guglielmi



biologia ambientale

Bollettino C.I.S.B.A. n. 6/1997

Autorizzazione del Tribunale di Reggio Emilia n. 837 del 14 maggio 1993

proprietario
Paola Manzini
(Presidente del Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale)

direttore responsabile
Rossella Azzoni

REDAZIONE

Rossella Azzoni	responsabile di redazione
Giuseppe Sansoni	responsabile grafico
Roberto Spaggiari	responsabile di segreteria

Hanno collaborato a questo numero:
Rossella Azzoni
Carlo Francalanci
Enrico Papini

Numero chiuso in redazione il 20/12/1997

Il **C.I.S.B.A.** - Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale si propone di:

- ☐ divenire un punto di riferimento nazionale per la formazione e l'informazione sui temi di biologia ambientale, fornendo agli operatori pubblici uno strumento di documentazione, di aggiornamento e di collegamento con interlocutori qualificati
- ☐ favorire il collegamento fra il mondo della ricerca e quello applicativo, promuovendo i rapporti tecnico-scientifici con i Ministeri, il CNR, l'Università ed altri organismi pubblici e privati interessati allo studio ed alla gestione dell'ambiente
- ☐ orientare le linee di ricerca degli Istituti Scientifici del Paese e la didattica universitaria, facendo della biologia ambientale un tema di interesse nazionale
- ☐ favorire il recepimento dei principi e dei metodi della sorveglianza ecologica nelle normative regionali e nazionale concernenti la tutela ambientale.

Per iscriversi al **C.I.S.B.A.** o per informazioni scrivere al:
Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale,
via Amendola 2, 42100 Reggio Emilia
o telefonare al Segretario: *Roberto Spaggiari*
tel. 0522/295460 – 0338/6252618; fax 0522/330546

Quote annuali di iscrizione al Centro Italiano Studi di Biologia Ambientale: socio ordinario: £ 70.000; socio collaboratore £ 50.000; socio sostenitore £ 600.000.
conto corrente postale n. 10833424 intestato a: CISBA, RE

I soci ricevono il bollettino ***Biologia Ambientale*** e vengono tempestivamente informati sui corsi di formazione e sulle altre iniziative del **C.I.S.B.A.**

Gli articoli originali e altri contributi vanno inviati alla Redazione: *Rossella Azzoni Gastaldi, via Cola di Rienzo, 26 - 20144 Milano.*

I dattiloscritti, compreso il materiale illustrativo, saranno sottoposti a revisori per l'approvazione e non verranno restituiti, salvo specifica richiesta dell'Autore all'atto dell'invio del materiale.

Le opinioni espresse dagli Autori negli articoli firmati non rispecchiano necessariamente le posizioni del **C.I.S.B.A.**

Tipografia NUOVA FUTURGRAF, Via Soglia 1, REGGIO EMILIA

EDITORIALE

La fine dell'anno è tradizionalmente occasione di bilanci e di esame delle prospettive future. È d'obbligo quindi una rassegna degli avvenimenti che abbiamo vissuto ed un'autocritica impietosa del nostro comportamento per cercare di redigere una sorta di bilancio consuntivo di quanto abbiamo realizzato, raffrontandolo con quanto avevamo pensato di poter realizzare.

È stato un anno, come altri, ricco di notizie di cronaca belle, brutte, molto spesso fastidiose.

Poche cose sono da ricordare per la loro risonanza internazionale, tra le quali la fine terrena di Madre Teresa di Calcutta e quella, per troppi aspetti ancora misteriosa, di Diana d'Inghilterra. Per quelle di importanza nazionale, è ancora vivo il dramma delle popolazioni dell'Umbria e delle Marche colpite dal terremoto prima e dai rigori dell'inverno poi, e il dolore per i danni subiti dal patrimonio artistico nazionale colpito duramente ad Assisi, a Foligno e in tante altre località. Com'è ancora vivo il ricordo della tragedia del Galeazzi di Milano con la morte di dieci malati ed un infermiere, e della solita partita di ping-pong fra tutti coloro che avevano responsabilità, come sempre avviene nel nostro Paese.

Forzatamente, la fine dell'anno impone anche l'esame dell'attività della nostra Associazione e la redazione del bilancio di quanto è stato realizzato.

Vorremmo tanto potervi assicurare che il CISBA è un'officina di programmi, è un laboratorio di idee, è un nucleo operativo impegnato a studiare e risolvere problemi piccoli e grandi relativi alle tematiche ambientali.

Vorremmo poter scrivere che discutiamo solo di progetti e di come attuarli e che, dopo averne discusso, tentiamo di tradurli in realtà consci del fatto che potremo riuscirci o no, ma avremo almeno il conforto di averci provato.

L'anno appena trascorso ha segnato, invece, una sorta di battuta d'arresto: dodici mesi passati senza promuovere azioni concrete, senza esplorare nuovi percorsi.

Abbiamo sprecato tempo, ma sprecare tempo è un peccato che non possiamo e non vogliamo più consentirci.

Ci proponiamo, dunque, di aprire il nuovo anno con rinnovata energia, di discutere per promuovere azioni concrete, dimostrare la nostra capacità di affrontare la realtà che ci circonda ed i suoi problemi: in poche parole, esprimere l'utilità della nostra esistenza.

È certo che così facendo, se anche uno solo dei nostri progetti diventerà realtà, il nostro tempo non sarà stato sprecato.

IGIENE AMBIENTALE

Nonostante il titolo, riferito alle acque minerali, questo lavoro rappresenta una rassegna puntuale ed aggiornata sull'intero gruppo dei coliformi e sul loro significato di indicatori di contaminazione fecale in tutti gli ambienti acquatici. Sebbene la ricerca e il conteggio dei coliformi, fecali e non, siano ampiamente effettuati in tutti i laboratori da molti decenni, le usuali temperature di coltura non sono quelle ottimali. Raramente, inoltre, la loro identificazione viene spinta fino a livello della specie e raramente, nell'espressione del giudizio, si tiene conto dell'ecologia e del significato indicatore di ciascuna specie. Riteniamo quindi tutt'altro che superfluo pubblicare la traduzione di questa rassegna di H. Leclerc, comparsa sul n. 5-6 (sett.-dic. 1990) della Rivista Italiana d'Igiene *(Atti del meeting internazionale sulle "Acque minerali naturali", Pisa, 23-24-25 Maggio 1990) col titolo* "Indicateurs bactériens et controle de qualité des eaux minérales naturelles".

Indicatori batteriologici e controllo di qualità delle acque minerali naturali

H. Leclerc[1]
Traduzione di Carlo Francalanci[2] e Enrico Papini[3]

La qualità delle acque minerali naturali può essere valutata utilizzando tre categorie principali di indicatori batterici.

Gli *indicatori di specificità biologica*, rappresentati da batteri eterotrofi oligotrofi, caratterizzano l'acqua alla sorgente e, in seguito, quella imbottigliata. Le altre due categorie sono, invece, l'espressione di una contaminazione e possono quindi comportare un rischio potenziale per il consumatore.

Gli *indicatori di contaminazione tecnologica* sono batteri che si introducono nell'acqua lungo le condotte di adduzione, nei serbatoi o nel corso dell'imbottigliamento. I lavori di SCHMIDT-LORENZ[50, 51] e di LECLERC e MOSSEL[37] rappresentano un approccio alla soluzione di questo problema.

La terza categoria è quella degli *indicatori di contaminazione fecale*, universalmente utilizzati nel controllo batteriologico dell'acqua e degli alimenti, acque minerali naturali comprese.

L'obiettivo di questo lavoro è limitato ai soli *indicatori di contaminazione fecale*.

Gli immensi progressi compiuti negli ultimi 20 anni nel campo della tassonomia batterica, in particolare per le Enterobacteriaceae (e, di conseguenza,

1 Università di Lille, Facoltà di Medicina
2 ARPAT, Dipartim. di Arezzo, Viale Maginardo 1 - 52100 Arezzo
3 ARPAT, Dipartim. di Arezzo (tirocinante)

nella loro ecologia), impongono una rivisitazione del concetto di indicatori di contaminazione fecale, sia nei suoi contenuti che nel suo utilizzo.

Come esempio di studio verrà preso un gruppo sul quale le nostre conoscenze sono particolarmente progredite: quello degli indicatori coliformi.

I. Aspetti batteriologici

I.1. Classificazione

Escherichia Coli è stata descritta nel 1885 da Escherich[12] col nome di *Bacterium Coli*.

Più o meno nello stesso periodo sono state descritte altre specie dello stesso significato: *Klebsiella pneumoniae*, citata per la prima volta da Zopf[59] nel 1885 sotto il nome di *Bacterium pneumoniae crouposae* ed *Enterobacter cloacae*, descritta da Jordan[30] nel 1890 come *Bacterium cloacae*. Un po' più tardi, nel 1928, Braak[3], nella sua tesi di laurea, descriveva *Bacterium freundii*, conosciuto oggi come *Citrobacter freundii*.

Il termine di coliforme, che raggruppa queste specie ed altre apparentate, venne utilizzato inizialmente da batteriologi inglesi[1, 8, 25, 38, 48, 49, 55]. Negli Stati Uniti venne proposto da Breed e Norton[4] per indicare i batteri fermentanti il lattosio, ricercati come indicatori di contaminazione delle acque. In quel periodo si utilizzavano comunemente e indistintamente i termini di "coliformi" o "gruppo colon"[31] o "*coli-aerogenes*"[54] o, ancora, *Escherichia-aerobacter*[53].

Oggi, attenendosi alle definizioni ammesse sul piano internazionale (ISO) i *coliformi* sono dei bacilli: Gram negativi, non sporigeni, ossidasi negativi, aerobi o anaerobi facoltativi, capaci di moltiplicarsi in presenza di sali biliari o di tensioattivi e capaci di fermentare il lattosio con produzione di acido e gas in 48 ore ad una temperatura di 35-37 °C (± 0,5 °C).

Il termine di *coliformi termotolleranti* si riferisce ai coliformi aventi le stesse proprietà a 44 °C; quello di "*E. coli presunti*" riguarda i coliformi termotolleranti che producono indolo a 44 °C a partire dal triptofano; *E. coli*, infine, è un "*E. coli* presunto" rosso metile +, acetoina -, citrato -, KCN -, e dotato di una glutammico decarbossilasi.

Sulla base degli studi di tassonomia tradizionale, la conoscenza del gruppo dei coliformi non ha fatto progressi fino al passato recente (1975-1980): la maggior parte degli autori descriveva le nuove forme qualificandole come atipiche, trovandosi nell'impossibilità di inquadrarle negli schemi esistenti. Noi stessi, nel corso di precedenti studi sulle *Enterobacteriaceae pigmentate*[32], su *alcuni enterobatteri β galattosidasi +*[33], sulle *Hafnia*[34] e sui *Citrobacter*[35], abbiamo segnalato la loro esistenza. Tutto il periodo precedente, circa un secolo, pur essendo stato relativamente fecondo per la classificazione di alcuni gruppi di enterobatteri, in particolare dei "patogeni" per l'uomo e per gli animali (*Salmonella, Shigella*), è stato praticamente infecondo per la conoscenza delle specie che vegetano nelle acque, nel suolo, sulle piante, ecc. e, di conseguenza, sul loro ruolo come indicatori di contaminazione.

Lo sviluppo dei moderni metodi tassonomici, numerico, genetico (ibridazione DNA/DNA), molecolare (studi immunologici sulle proteine), ha radicalmente trasformato la classificazione dei batteri, in particolare quella delle Enterobacteriaceae e –ancor più precisamente– quella degli enterobatteri detti "Coliformi". Tra tutti gli approcci tassonomici che tentano di definire la specie batterica, quello genetico –che porta, senza alcun dubbio, il maggior numero d'informazioni perché s'indirizza all'insieme del genoma del batterio– è considerato il più importante. In accordo con Brenner[5] e Grimont[23,24], la specie può essere definita come un gruppo di ceppi aventi almeno il 70% di omologia genomica alla temperatura ottimale di reazione (Tm + 25 °C) ed un $DT_{m(e)}$, cioè un'instabilità termica degli ibridi, lieve (meno di 5 °C). Fra specie differenti, l'omologia è abitualmente inferiore al 60% e l'instabilità termica degli ibridi è superiore a + 7°C. All'interno della specie si possono riconoscere dei sottoinsiemi caratterizzati da particolarità biochimiche (biotipi), immunologiche (sierotipi), tossinogene (tossitipi) o da schemi di sensibilità (lisotipi, antibiotipi, ...).

I numerosissimi lavori di tassonomia degli enterobatteri coliformi non potranno essere analizzati in questa rassegna. È pertanto fondamentale riportare l'elenco delle specie corrispondenti alla definizione dei coliformi o che possono corrispondere a questa definizione in quanto batteri fermentanti il lattosio e provvisti quasi sempre di una β galattosidasi.

Le tabelle 1 e 2, che sintetizzano questi dati, permettono di misurare l'incredibile distanza che è stata percorsa in pochi anni grazie ai nuovi approcci

Tab. 1. Enterobatteri coliformi: classificazione tradizionale.

Specie	Sinonimi
Escherichia coli	-
Klebsiella pneumoniae	-
Klebsiella oxytoca	-
Enterobacter cloacae	-
Enterobacter aerogenes	*Klebsiella mobilis*
Citrobacter freundii	-
Citrobacter diversus	*Levinea malonatica*
Citrobacter amalonaticus	*Levinea amalonatica*

tassonomici. Si comprende meglio perché, nel passato, numerosi enterobatteri detti "coliformi" venivano classificati come irregolari o atipici. Si trattava, infatti, di nuove specie che le tecniche di studio convenzionali erano incapaci di distinguere e di classificare.

Tutte queste specie sono β galattosidasi + con una bella costanza e, poiché la fermentazione del lattosio in 24 o 48 ore non è stata riscontrata con una frequenza così elevata, si può ritenere che il criterio della β galattosidasi sia certamente più caratterizzante del gruppo coliformi che non quello della fermentazione del lattosio.

I.2. Identificazione

La nuova classificazione dei coliformi ha importanti conseguenze sui metodi messi a punto per la loro ricerca e, soprattutto, per la loro identificazione. I tassonomisti "puristi" si sono sempre opposti con forza alla nozione di coliformi poiché questo termine comprende una grande diversità di specie tassonomiche che possono avere una grande diversità di significati. Tuttavia gli igienisti, pur perfettamente coscienti di queste difficoltà e di questa ambiguità, hanno utilizzato questo concetto –indispensabile per semplificare i metodi d'analisi– sperando, senza esserne certi, che conduca a interpretazioni giustificabili. La rivoluzione tassonomica di questi ultimi anni può permettere di riconciliare gli uni e gli altri, sia perché il gruppo "coliformi" è oggi perfettamente conosciuto sul piano tassonomico, sia perché esistono ormai metodi semplici d'identificazione delle differenti specie.

I metodi tradizionali d'identificazione si basano su chiavi dicotomiche che attribuiscono arbitrariamente un peso ai caratteri. Questi sistemi gerarchizzati conducono necessariamente ad errori di diagnosi tenuto conto delle eterogeneità fenotipiche delle specie e della esistenza di ceppi atipici[29]. L'attuale inflazione delle specie di Enterobacteriaceae aumenta ulteriormente i rischi di errore.La maggior parte delle nuove specie descritte, infatti, non può essere identificata con i test tradizionali, come l'IMVIC.

Nell'esempio delle tabelle 3 e 4, in effetti, si nota che i caratteri chiave "rosso di metile" e "acetoina" dei test IMVIC (Indolo; Rosso Metile; Voges Proskauer; Citrato) non hanno alcun valore discriminante per l'identificazione di *Klebsiella pneumoniae* e di *Enterobacter cloacae*.

I taxa D e J, pur essendo rispettivamente RM + e acetoina -, RM + e acetoina +, appartengono senza dubbio alla specie *Klebsiella pneumoniae*. Analogamente, il taxon E, RM - e acetoina -, è un biotipo di *Enterobacter cloacae*. Il carattere aleatorio di questi test è stato già sottolineato in numerose occasioni, in particolare nei lavori di Duncan e Razzel[9] e di Brown e Seidler[6].

Un altro esempio di queste difficoltà, evidenziato nel lavoro di Gavini[18], è riportato nella tabella 5: diversi ceppi di enterobatteri, che secondo i test IMVIC appartengono alla specie *E. coli*, presentano in realtà percentuali di omologia genetica con questa specie (ibridazione DNA/DNA) estremamente basse.

Si tratta, in effetti, di specie nuove. Inversamente, alcuni ceppi di *E. coli* possono presentare caratteri atipici a determinismo plasmidico come presenza di H_2S, di ureasi, di tetrationato reduttasi, fermentazione di saccarosio e di raffinosio, utilizzazione di citrato (tests IMVIC); anche in questo caso i sistemi dicotomici falliranno nell'identificazione .

In conclusione, l'insieme dei nostri lavori mostra che i test IMVIC non possono essere considerati criteri utilizzabili per l'identificazione dei coliformi. Per sopperire a questi inconvenienti, i sistemi di identificazione attuali, di tipo probabilistico, non sono più basati su una gerarchia di caratteri, ma sul confronto fra il profilo dei ceppi studiati in rapporto a quello di ceppi tipo delle specie repertate e classificate.

Nei sistemi commerciali attuali (kit automatici) questi profili contengono un certo numero di caratteri selezionati, perché fortemente discriminanti. Sulla base dei nostri lavori di tassonomia noi abbiamo potuto stabilire un programma d'identificazione selezionan-

Tab. 2. Enterobatteri coliformi: classificazione contemporanea.

Genere / Specie		β galattosidasi (%)	Fermentazione lattosio in 24 e 48 h (% ceppi)	Origine
Budvicia aquatica			100	ambientale
Buttiauxella	*B. agrestis*	100	100	ambientale
Cedecea	*C. davisae*	90	19	clinica
	C. lapagei	99	60	clinica
	C.neteri	100	35	clinica
Citrobacter	*C. freundii*	95	50	fecale
	C. diversus (L. malonatica)	96	35	fecale
	C. amalonaticus (L. amalonatica)	100	50	fecale
	C. amalonaticus biogruppo 1	100	19	clinica
Enterobacter	*E. aerogenes (K. mobilis)*	100	95	fecale
	E. cloacae	99	93	fecale
	E. agglomerans	90	40	ambientale
	E. gergoviae	97	55	clinica
	E. sakazakii	100	99	clinica
	E. tailorae	100	10	clinica
	E. amnigenus biogruppo 1	91	70	ambientale
	E. amnigenus biogruppo 2	100	35	ambientale
	E. intermedium	100	100	ambientale
Escherichia	*E. coli*	95	95	fecale
-Shigella	*S. sonnei*	90	2	clinica
	E. hermanii	98	45	clinica
	E. vulneris	100	15	clinica
Ewingella	*E. americana*	85	70	clinica
Hafnia	*H. alvei*	90	5	ambientale
Klebsiella	*K. pneumoniae*	99	98	fecale
	K. oxytoca	100	100	fecale
	K. groupe	100	100	clinica
	K. panticola	100	100	ambientale e clinica
	K. ozaenae	80	30	clinica
	K. terrigena	100	100	ambientale
	K. trevisanii			clinica
Kluyvera	*K. ascorbata*	100	98	clinica
	K. cryocrescens	100	95	clinica
Koserella	*K. trabulsii*	100	0	clinica
Leclercia adecarboxylata		100	100	clinica e ambientale
Moellerella	*M. wisconsensis*	90	100	fecale
Rahnella	*R. aquatilis*	100	100	ambientale
Salmonella	Sorrogruppo 3a *(Arizona)*	100	15	clinica e fecale
	Sottogruppo 3b *(Arizona)*	100	85	
Serratia	*S. marcescens*	95	2	clinica e ambientale
	S. marcescens biogruppo 1	75	4	
	S. liquefaciens	93	10	ambientale
	S. rubidaea (S. marinorubra)	100	100	
	S. odorifera biogruppo 1	100	70	clinica
	S. odorifera biogruppo 2	100	97	clinica
	S. plymuthica	70	80	ambientale
	S. ficaria	100	15	fichi
	S. fonticola	100	97	ambientale
	S. grimesii			clinica
Yersinia	*Y. enterocolitica*	95	5	ambientale e clinica
	Y. frederiksenii	100	40	ambientale e clinica
	Y. intermedia	90	35	ambientale e clinica
	Y. kristenseenii	70	8	ambientale e clinica

Tab. 3. Caratteri biochimici (test IMVIC) di *Klebsiella pneumoniae* e dei due taxa D e J: solo i test RM e acetoina differiscono.

	K. pneumoniae	Taxon D	Taxon J
Glucosio GAS	+	+	+
Lattosio	+	+	+
Dulcitolo	D	D	D
Indolo	–	–	–
Rosso di metile	–	+	+
Acetoina	+	–	+
Ureasi	+	+	+
Utilizzazione:			
Citrato	+	+	+
Malonato	+	+ o –	+
Mucate	+	+	+

Tab. 4. Caratteri biochimici (test IMVIC) di *Enterobacter cloacae* e del taxa E: solo il carattere acetoina differisce.

	Enterobacter cloacae	Taxon E
KNC	+	+
Indolo	–	–
Rosso di metile	–	–
Acetoina	+	–
Ureasi	+ o –	+ o –
Gelatinasi	(+)	(+)
Malonato	+	+
Tartrato Jordan	– o +	– o +
LDC	–	–
ADH	+	+
ODC	+	+
Tween esterasi	–	–

Tab. 5. Enterobatteri identificati come *E. coli* secondo i test IMVIC.

	Ibridazione DNA/DNA
CA_1 (citrato +)	77 ± 2
CA_3 (ureasi +)	88 ± 10
CA_5 (ureasi +)	80 ± 1
	27 ± 1
CB_1	17 ± 1
	15 ± 1
	29 ± 2
CB_2	29 ± 2
	26 ± 2
	26 ± 7
CB_3	29 ± 7
	24 ± 7
	29 ± 4
CB_4	31 ± 4
	30 ± 3

do tra i 2000-3000 enterobatteri studiati i caratteri più significativi. L'efficacia del sistema, descritto sul piano tecnico da GAVINI e collaboratori[22], è stata valutata con successo su circa 279 ceppi β galattosidasi + isolati in clinica e identificati comparativamente secondo i metodi API e MICRO ID. Il metodo è stato ugualmente applicato senza alcuna difficoltà tecnica per l'identificazione di 564 ceppi isolati da campioni d'acqua ed è oggi largamente diffuso. La preparazione d'anticorpi monoclonali anti *E. coli* può essere un'alternativa semplice e rapida alla identificazione biochimica, soprattutto se viene dimostrato che essi sono specifici di specie.

I.3. FISIOLOGIA; TEMPERATURA DI CRESCITA

La diversa attitudine di crescita dei batteri in funzione della temperatura è nota da molti anni. Si distinguono infatti batteri mesofili, psicrofili, psicrotrofi, termotrofi, termofili[40]. Sebbene su tali definizioni gli autori siano lontani dall'essere d'accordo, si potrebbe schematizzare dicendo che i mesofili crescono in modo ottimale alla temperatura di 37 °C; gli psicrotrofi ne sono ugualmente capaci ma si sviluppano anche alle basse temperature mentre gli psicrofili hanno un optimum di crescita situato tra 10 °C e 20 °C; i termotrofi e i termofili hanno analoghe caratteristiche, ma a temperature elevate.

Questa attitudine è stata sfruttata con successo per separare i ceppi di coliformi termotolleranti, detti "fecali", dagli altri. Da decenni infatti, test ad alta temperatura sono stati proposti per ricercare i coliformi fecali. Per stabilire questa distinzione conviene scegliere una temperatura di crescita capace di ottenere nel minor tempo il massimo di capacità discriminante tra i ceppi delle due categorie considerate. Le temperature elevate che selezionano i germi fecali sono a priori le più favorevoli perché le più rapide. Questi test ad "alta temperatura", proposti per la prima volta da EIJKMAN nel 1904[11], sono stati largamente applicati per la ricerca di *Escherichia coli* o dei coliformi fecali[7,13,39,47]. Tutti utilizzano una temperatura di 44 °C o 44,5 °C.

Lo sviluppo della tassonomia e l'esistenza di numerose nuove specie ci hanno spinto a riesaminare questo aspetto: le tabelle 6 e 7 riassumono i dati estratti da lavori di GAVINI e collaboratori[17, 19, 21]. Le curve di crescita di diverse specie di enterobatteri

Tab. 6. Enterobatteri coliformi termotrofi: tempi di generazione (in minuti).

Specie	6°C	8°C	10°C	12°C	14°C	16°C	18°C	20°C	38°C	40°C	41°C	42°C	43°C	44°C	45°C	46°C	47°C
Enterobacter aerogenes	–	367	350	230	109	74	55	35	15	15	15	16	20	31	–	–	–
Enterobacter cloacae	–	–	–	295	150	98	81	47	15	15	17	20	28	–	–	–	–
Enterobacter gergoviae	–	–	–	270	170	123	80	52	22	32	41	–	–	–	–	–	–
Enterobacter sakazakii	–	–	392	270	186	156	93	54	15	15	15	15	15	15	18	33	49
Escherichia coli	–	–	615	288	165	115	94	49	19	34	40	48	57	60	99	+	+
Kluyvera ascorbata	–	438	325	166	105	62	59	39	15	17	17	32	48	–	–	–	–
Klebsiella pneumoniae	–	–	523	260	132	88	62	48	12	12	13	13	15	18	46	+	–
Levinea amalonatica	–	–	–	330	195	136	105	52	18	17	19	24	36	65	–	–	–

+ crescita; – assenza di crescita

Tab 7. Enterobatteri coliformi psicrotrofi: tempi di generazione (in minuti).

Specie	1°C	2°C	4°C	6°C	8°C	10°C	12°C	14°C	16°C	18°C	20°C	30°C	38°C	40°C
Buttiauxella agrestis	1219	782	538	363	170	155	105	96	80	62	40	20	48	–
Enterobacter amnigenus	–	–	795	472	260	220	165	115	100	70	52	–	31	117
Enterobacter intermedium	–	–	–	593	240	212	161	90	86	58	32	–	34	66
Klebsiella terrigena	–	–	–	697	214	204	172	103	87	73	49	–	28	69
Rhanella aquatilis	1010	650	515	293	210	176	140	105	89	70	40	30	100	–
Serratia fonticola	952	711	478	420	205	174	120	93	79	60	41	25	38	–
Serratia odorifera	–	–	605	512	210	201	167	103	89	59	47	–	52	88
Serratia liquefaciens	–	610	450	230	170	140	112	84	65	56	36	24	27	–

+ crescita; – assenza di crescita

conosciuti e di altri recentemente denominati sono state studiate a varie temperature (da 1 °C a 44 °C e a 47 °C) con un fotometro automatico gestito da microprocessore che fornisce le caratteristiche di crescita (tasso di crescita-tempo di generazione),

A titolo d'esempio, è interessante, nelle figure 1 e 2, confrontare le curve di crescita di specie che si coltivano ad alta e a bassa temperatura. Come si può constatare dalla tabella 6, la temperatura di 44 °C – che è quella abitualmente impiegata– impedisce la crescita di un numero importante di ceppi fecali; ciò conferma le nostre osservazioni precedenti[17, 19, 21] e quelle di altri autori[41].

È dunque sempre possibile distinguere due categorie di coliformi, con alcuneprecisazioni:

- gli uni hanno una temperatura ottimale di crescita situata tra 36 e 38°C (probabilmente 37°C); essi sono capaci di moltiplicarsi a temperature elevate, sempre a 41 °C e spesso a 44 °C (in 16 ore in brodo nutritivo); essi sono invece incapaci di svilupparsi a 4 °C in 30 giorni; si tratta dei coliformi termotrofi, spesso chiamati termotolleranti. I coliformi fecali appartengono a questa categoria ma sarebbe azzardato pretendere che questa categoria comprenda esclusivamente coliformi fecali:
- gli altri hanno una temperatura ottimale di crescita compresa tra 30 °C e 34 °C (probabilmente 32 °C); si moltiplicano rapidamente a 4 °C in 2-4 giorni e a 10 °C in un giorno; sono invece incapaci di svilupparsi a 41 °C e, ancor meno, a 44 °C; si tratta dei coliformi psicrotropi nel senso definito nel lavoro di MOSSEL e SWART[41], STOCES, INGRAM[28] e MORITA[40] che non fanno parte della flora fecale degli animali a sangue caldo.

II. Aspetti ecologici

II.1. HABITAT FECALE

Il tubo digestivo dell'uomo costituisce un vasto ecosistema microbico composto essenzialmente da comunità di microrganismi autoctoni o indigeni che possono essere contaminate da microrganismi alloctoni semplicemente in transito o che si insediano in un habitat lasciato vacante.

La flora più studiata, quella fecale, rappresenta il bilancio delle fermentazioni cecali e delle putrefazioni coliche associate alla disidratazione sigmoidiana. Sebbene questa flora sia stata oggetto di una moltitudine di lavori, nessuno di questi fa riferimento ad enterobatteri diversi da *Escherichia coli*. In effetti, la predominanza di *E. coli* rispetto agli altri enterobatteri è tale da impedire, nella maggior parte dei casi, il loro isolamento e quindi il loro riconoscimento. In questo ambito possono rivelarsi utili le sole analisi quantitative realizzate con l'aiuto di terreni selettivi. Per questa ragione, abbiamo affrontato lo studio della distribuzione dei coliformi nei materiali fecali avvalendoci di due terreni, uno per *E. coli* (agar lattosato) e l'altro per le altre specie appartenenti ai generi *Klebsiella*, *Citrobacter-Levinea ed Enterobacter*.

Le tabelle 8 e 9 sintetizzano i risultati riguardanti, in particolare, la frequenza e le concentrazioni delle diverse specie[36].Gli enterobatteri isolati diversi da *E.*

Tab. 8. Flora fecale umana: studi quantitativi.

Gruppo	specie	UFC/g	%	Frequenza
Batteri totali (aerobi + anaerobi)	...	$1{,}5 \cdot 10^{10}$	30	
Batteri aerobi	...	$7 \cdot 10^{8}$	30	
Aerobi Gram negativi	*E. coli*	$4 \cdot 10^{8}$	30	costante
	Citrobacter-Levinea	$1 \cdot 10^{6}$	20	elevata
	Klebsiella pneumoniae	$4 \cdot 10^{4}$	14	media
	Enterobacter cloacae	$1 \cdot 10^{5}$	3	rara
Anaerobi Gram negativi	*Bacteroïdes*	$1 \cdot 10^{10}$	30	costante
	Lactobacillus	$1 \cdot 10^{9}$	30	costante
Anaerobi Gram positivi	*Clostridium*	$4 \cdot 10^{6}$	23	elevata
Lieviti	...	$5 \cdot 10^{4}$	20	elevata
Muffe	...	$4 \cdot 10^{4}$	16	media

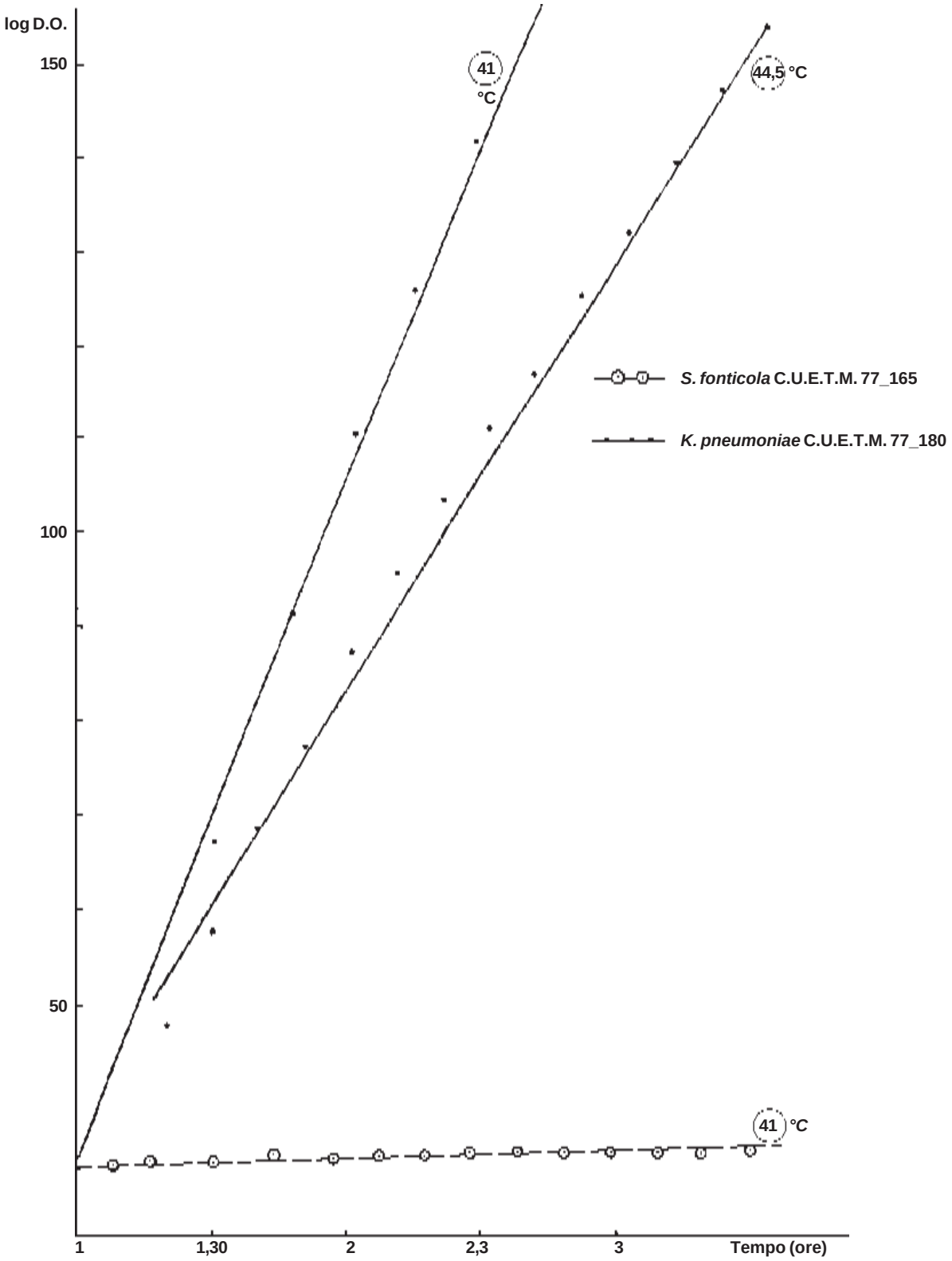


Fig. 1. Curve di crescita di *S. fonticola* (psicrotrofi) e *K. pneumoniae* (termotrofi) a temperature alte

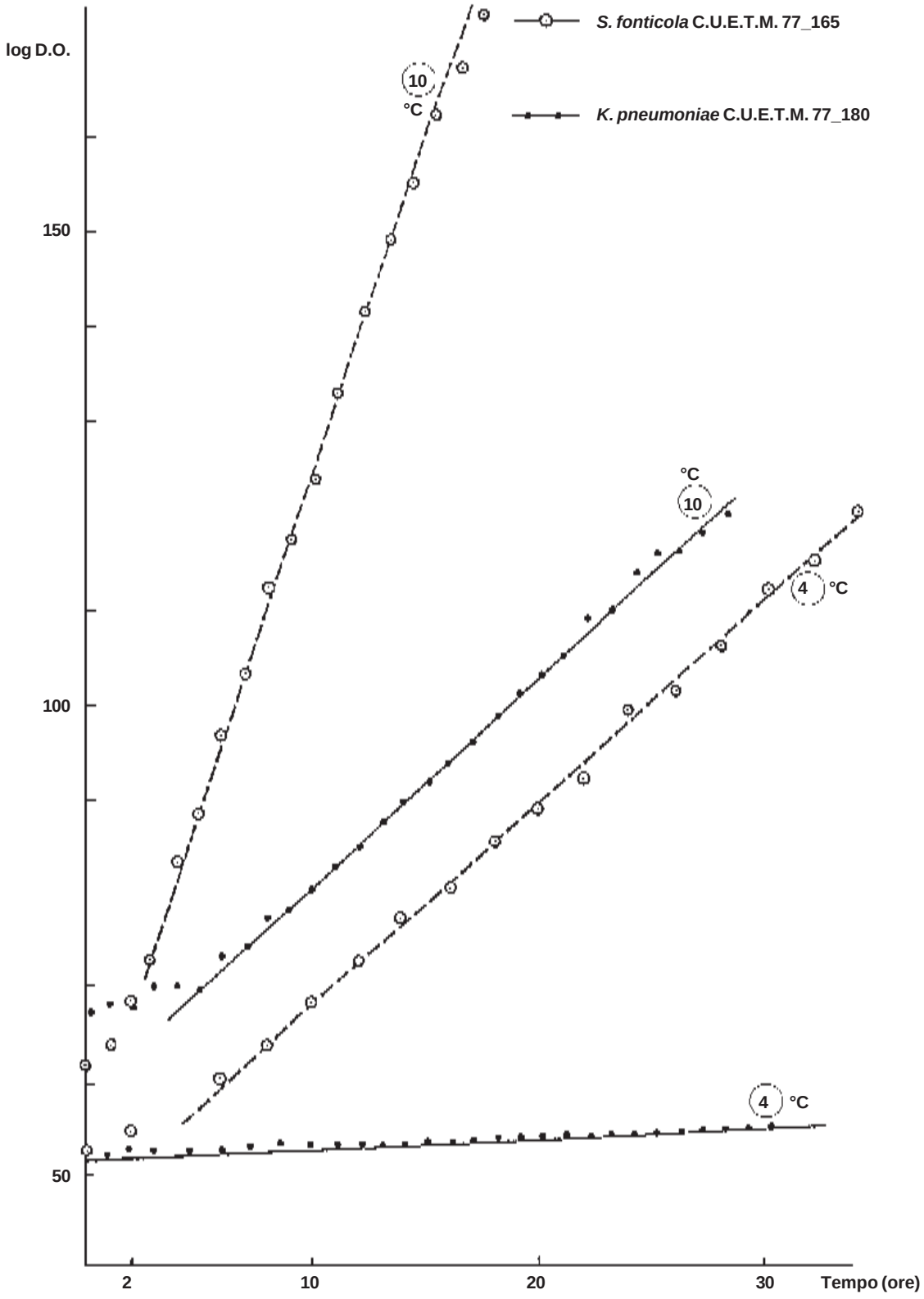


Fig. 2. Curve di crescita di *S. fonticola* (psicrotrofi) e *K pneumoniae* (termotrofi) a temperature basse.

Tab. 9. Flora fecale umana (adulti)

Flora	Genere o specie	conc./g
DOMINANTE	ANAEROBI E BACILLI LATTICI	
	Bacteroïdes	10^9 - 10^{10}
	Bifidobacterium	10^8 - 10^9
	Lactobacillus	10^8 - 10^9
SUB-DOMINANTE	AEROBI	
	Escherichia coli	10^7 - 10^8
	Enterococco	10^7 - 10^8
FLUTTUANTE	BATTERI GRAM NEGATIVI	
	Citrobacter-Levinea	10^5 - 10^6
	Klebsiella	10^4 - 10^5
	Enterobacter	10^4 - 10^5
	Proteus-Providencia	10^2 - 10^3
	Pseudomonas aeruginosa	10^2 - 10^3
	BATTERI GRAM POSITIVI	
	Clostridium	10^5 - 10^6
	Staphylococcus	10^5 - 10^6
	Bacillus	10^4 - 10^5
	LIEVITI	10^2 - 10^3
	FUNGHI	10^2 - 10^3

coli corrispondono a specie ben conosciute dei generi *Citrobacter-Levinea, Klebsiella e Enterobacter*. Va precisato che questo lavoro, che risale al 1980, non aveva l'obiettivo di ricercare sistematicamente specie insolite; pertanto le identificazioni sono state tutte ottenute con una fortissima probabilità. Appare dunque poco probabile, allo stato attuale delle nostre conoscenze, che l'una o l'altra delle nuove specie appartenga alla flora fecale autoctona. È auspicabile la realizzazione di studi ecologici in questo campo.

II.2. DISTRIBUZIONE NELL'AMBIENTE

I risultati dei nostri studi sulla distribuzione delle differenti specie di coliformi nell'ambiente acquatico e tellurico[17, 19, 21] sono riassunti nelle tabelle 10 e 11.

Tenendo conto della contaminazione fecale o meno degli ambienti studiati, è possibile distinguere chiaramente due categorie di coliformi. La prima comprende le specie già note dei generi *Citrobacter* e *Levinea, Klebsiella pneumoniae* ed *Enterobacter cloacae*, rinvenibili abitualmente nei materiali fecali umani o

Tab. 10. Habitat e temperature di crescita degli enterobatteri acetoina negativi (apparentati a *Citrobacter*).

Specie	Feci	Acque usate	Acque superfic.	Acque potabili	Terre vergini	Crescita a 4°C	Crescita a 41°C	Crescita a 44°C
Levinea malonatica	+	+	-	-	-	0%	100%	75%
Levinea amalonatica	+	+	+	-	-	0%	100%	80%
Citrobacter freundii (biotipo H_2S)	+	+	+	-	-	40%	100%	67%
Serratia fonticola	-	-	-	+	+	100%	0%	0%
Klebsiella pneumoniae	+	+	+	-	-	30%	100%	70%
Enterobacter cloacae (acetoina -)	+	+	+	-	-	0%	100%	80%
Buttiauxella agrestis	-	-	-	+	+	90%	0%	0%

Tab. 11. Habitat e temperature di crescita degli enterobatteri acetoina positivi (apparentati a *Enterobacter*).

Specie	Feci	Acque usate	Acque superfic.	Acque potabili	Terre vergini	Crescita a 4°C	Crescita a 41°C	Crescita a 44°C
Enterobacter cloacae	+	+	+	-	-	9%	100%	46%
Enterobacter intermedium	-	-	-	+	+	91%	0%	0%
Enterobacter cloacae	-	-	-	+	+	95%	0%	0%
Enterobacter amnigenus	-	-	-	+	+	86%	0%	0%
Hafnia alvei (biotipo lattosio -)	-	+	+	+	-	100%	42%	0%
Hafnia alvei (biotipo lattosio +)	+	+	-	-	-	100%	75%	0%

animali, nelle acque usate, nelle acque superficiali inquinate e mai isolate dalle acque potabili (non inquinate e controllate) o da terre vergini. La seconda corrisponde a specie nuove come *Serratia fonticola, Buttiauxella agrestis, Enterobacter intermedium, Enterobacter amnigenus, Klebsiella terrigena, K. trevisanii* che, al contrario, provengono unicamente da acque potabili e da terre vergini. Questi studi mostrano chiaramente l'esistenza di una relazione privilegiata tra il biotipo dei ceppi e la loro nuova appartenenza tassonomica.

La notevole frequenza di isolamento di queste specie dalle acque, in particolare dalle reti acquedottistiche, ci ha indotto a studiare la loro distribuzione mondiale[20] esaminando 1017 ceppi di coliformi isolati da acque potabili provenienti da 23 laboratori ripartiti su più continenti (8 in Francia; altri 8 in Europa; 3 in Africa del Nord: Algeria, Tunisia, Marocco; 2 in Canada; 2 in America del Sud). La tabella 12 mette in evidenza la varietà delle specie isolate e la larga distribuzione dei ceppi non fecali (così come indicato nelle nostre osservazioni preliminari) in paesi e continenti differenti e nei più diversi orizzonti geografici e climatici.

II.3. Dinamica delle popolazioni di coliformi nell'ambiente acquatico

È possibile studiare la dinamica delle popolazioni microbiche nell'ambiente acquatico, in particolare quella dei coliformi, grazie a bacini sperimentali (lagunaggio) nei quali il flusso idrico può essere seguito mediante marcatori e le cellule batteriche e le particelle virali possono essere ricercate e quantificate in funzione del tempo di ritenzione. In un bacino alimentato da un'acqua di fiume fortemente inquinata le abbondanti popolazioni di "bioindicatori" possono essere seguite nella loro evoluzione spazio-temporale. I risultati ottenuti nel corso di una sperimentazione[57, 58, 59] con una modesta portata influente di acqua inquinata (2,6 l/min) e un tempo di permanenza elevato sono interpretati graficamente (figura 3) secondo la teoria di Marais e Shaw[57], espressi cioè come percentuali di sopravvivenza in funzione dei tempi di ritenzione.

Si può supporre che le popolazioni di coliformi si evolvano nell'ambiente in funzione dei loro biotipi d'origine, della loro propria fisiologia, legata probabilmente alla loro appartenenza tassonomica. Si osserva infatti una grande differenza nel decadimento

Tab. 12. Ripartizione degli enterobatteri coliformi in funzione dell'origine dell'acqua e della sua distribuzione.

Origine			Sorgenti		Pozzi		Trivellazioni		Fiumi		Laghi	
Tipi	Tot.	% [a]	D	F	D	F	D	F	D	F	D	F
↓Specie n° ceppi→	1017	100	119	186	163	178	61	57	12	226	12	3
C. freundii	184	18	15	25	38	29	29	18	1	28	1	0
E. agglomerans[b]	113	11	13	12	12	6	5	2	1	62	0	0
S. fonticola[b]	86	8	12	12	2	53	0	0	3	1	3	0
R. aquatilis[b]	73	7	5	53	4	9	0	0	0	0	2	0
E. cloacae	68	7	0	8	16	5	5	2	1	31	0	0
K. trevisanii[b]	63	6	3	1	13	5	0	7	4	29	1	0
K. oxytoca	50	5	3	4	7	4	2	4	0	26	0	0
E. amnigenus[b]	46	5	10	7	12	5	1	2	0	8	1	0
K. terrigena[b]	44	4	8	11	8	6	4	2	0	4	1	0
E. coli	36	4	1	10	6	10	0	3	6	0	0	0

K. pneumoniae (2%); *B. agrestis* (2%); *H. alvei* (2%); *S. liquefaciens* (2%); *E. sakazakii* (1%); *E. intermedium* (1%); *K. mobilis* (1%); *S. plymuthica* (1%); *S. marcescens* (1%); *Y. intermedia* (1%); *Y. enterocolitica* (1%); *Y. frederiksenii* (1%); non identificati (10%).

[a] percentuale sul numero totale di ceppi (1017)

[b] ceppi non fecali D= distribuzione; F= captazione

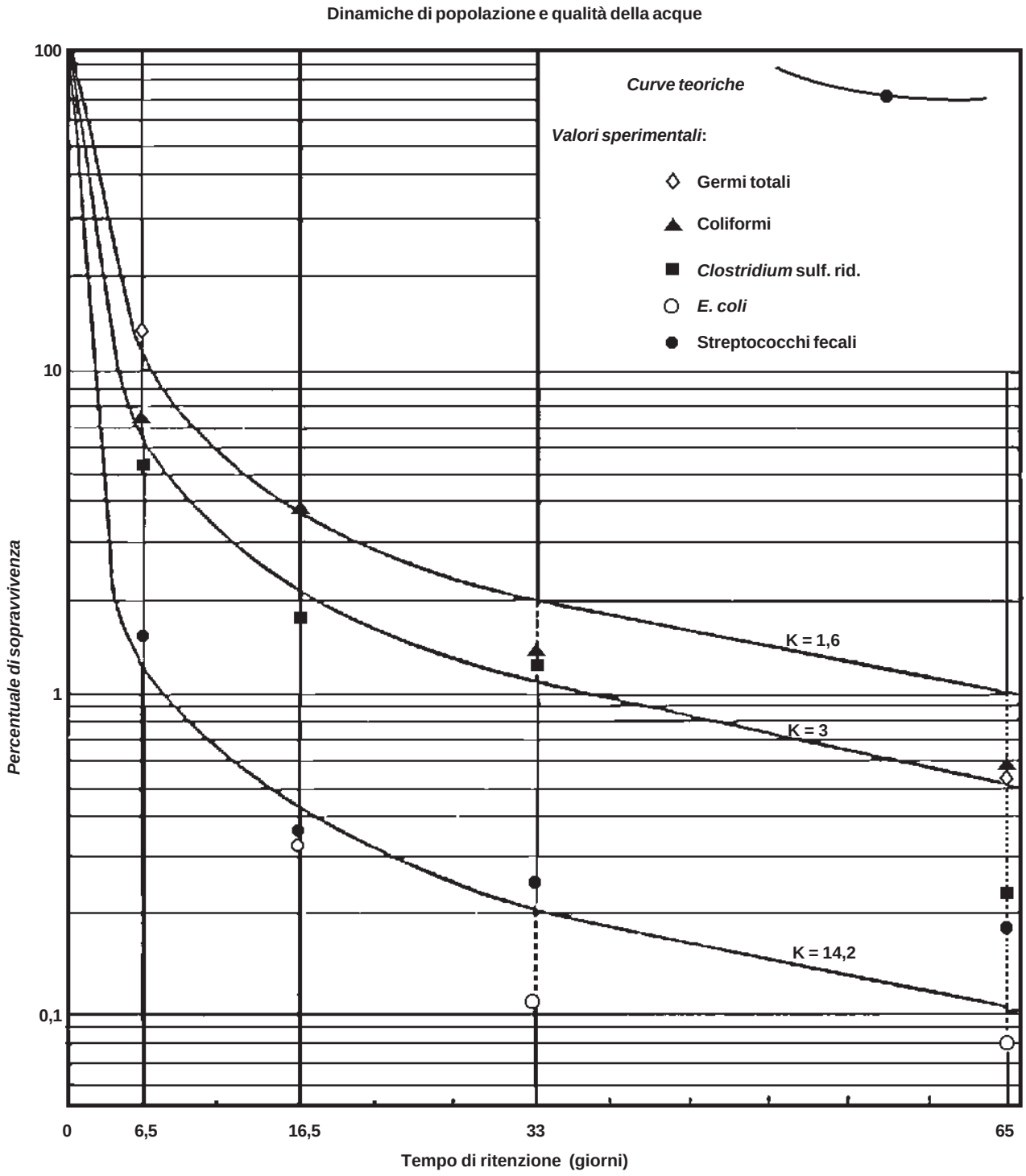


Fig. 3. Evoluzione delle differenti specie batteriche. Le curve sono calcolate a partire dall'equazione di MARAIS e SHAW ($N/N_0\%=100/KR + 1$).
(N/N_0) = percentuale di sopravvivenza,
K = costante d'eliminazione, R = tempo di ritenzione.

fra le popolazioni di *Escherichia coli* e quelle dei coliformi, con costanti di eliminazione rispettivamente di 19,2 (K_1) e di 3 (K_2). I fattori suscettibili di spiegare questi effetti di autodepurazione sono di ordine fisico (temperatura, pH, energia solare incidente, energia radiante trasmessa), chimico (concentrazione di ossigeno e di materie organiche) e biologico (clorofilla, predatori). Sembra che i nuovi dati tassonomici permettano di interpretare queste differenze d'eliminazione fra *E. coli* e coliformi. In effetti, gli *E. coli* ospiti dell'intestino umano ed animale non possono sopravvivere in un ambiente ostile, troppo differente dal loro habitat naturale. I coliformi, soprattutto le nuove specie isolate nell'ambiente acquatico, hanno sicuramente un vantaggio ecologico maggiore rispetto ad *E. coli* sia in termini di sopravvivenza sia, più verosimilmente, per la loro facoltà di moltiplicarsi a temperature che non sono loro necessariamente sfavorevoli. Questa ipotesi potrebbe spiegare l'inversione del rapporto coliformi/*E. coli* che, attestato da 1:1000 a 1:10000 nei materiali fecali, diviene uguale a 1:1 o superiore a uno nelle acque usate e dell'ordine di 10:1 e perfino 100:1 nell'ambiente recettore (fiumi, laghi, stagni, estuari, litorali).

Questo andamento dell'evoluzione microbica è ancora più netto nel caso di certi effluenti industriali ricchi in materie organiche, come quelli provenienti da industrie conserviere, distillerie, cartiere, ecc.[2, 10, 26, 52] I coliformi isolati da questi effluenti, in assenza di ogni contaminazione fecale, potrebbero appartenere proprio a queste nuove specie.

II.4. Colonizzatori. Patogeni opportunisti

Molte di queste nuove specie sono state isolate e descritte pressoché esclusivamente in clinica, come mostra la tabella 13, che precisa l'origine dei campioni. Si tratta, evidentemente, di germi "colonizzatori" che contaminano i malati e la loro flora, o si moltiplicano nei campioni. Essi sono particolarmente frequenti nell'espettorato e nelle piaghe e, in certe occa-

Tab. 13. Enterobatteri coliformi isolati in clinica.

	Sangue	Liquor cef.-rac.	Espettorato	Urina	Feci	Piaghe
Cedecea						
C. davisae	-	-	+++	-	+	+
C. lapagei	-	-	+++	-	-	-
C. neteri	+	-	+	-	-	+
Enterobacter						
E. gergoviae	+	-	+++	+	-	+
E. sakazakii	++	+	+++	+	+	+++
E. taylorae	-	-	+	+	+	+++
Escherichia						
E. hermanii	+	+	+	+	+++	+++
E. vulneris	+		+	+		+++
Ewingella						
E. americana	++	-	+++	+	+	++
Kluyvera						
K. ascorbata	+	-	+++	++	++	-
Koserella						
K. trabulsii	-	-	+++	-	+	+++
Leclercia						
L. adecarboxylata						
Serratia						
S. odorifera 1	-	-	+++	-	+	+
S. odorifera 2	++	+	+++	+	+	+

sioni, possono rivelarsi patogeni. Sono quindi batteri patogeni opportunisti che infettano solo soggetti le cui difese locali o generali sono diminuite, sia per un deficit immunitario reale, sia in seguito a terapia immunodepressiva. Questi malati sono particolarmente frequenti in certi reparti ospedalieri detti "a rischio". L'isolamento privilegiato di certi germi opportunisti nell'ambiente ospedaliero è dovuto in parte alla maggior frequenza di questi malati "recettori" e in parte al miglioramento dei metodi di diagnostica che prendono in considerazione le nuove specie man mano che vengono descritte.

Questo potere patogeno opportunistico ha una relazione privilegiata con lo stato dell'organismo, non con una specie batterica. Tutte le specie riconosciute come indicatori, appartenenti ai generi *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter-Levinea,* elencate nelle tabelle 1 e 2 sono state descritte come patogeni opportunisti da molto tempo. Oltre ad esse, anche le specie che sembrano specificatamente legate all'habitat acquatico possono rivelarsi opportuniste. È così, per esempio, per *Klebsiella planticola (K. trevisanii*) che abbiamo isolato frequentemente dalle acque superficiali, di scarico, potabili e dai terreni vergini e che si incontra oggi nell'ambiente ospedaliero, come "colonizzatore", e nelle infezioni nosocomiali. Non sembra dunque che questa capacità di potere patogeno opportunistico possa essere presa in considerazione nella nostra riflessione sugli indicatori batterici.

III. Epidemiologia

Per valutare il significato degli indicatori dal punto di vista epidemiologico –cioè come fonte di rischi infettivi– ad esempio per il consumatore di acqua contaminata, è necessario il supporto di indagini epidemiologiche che accertino l'esistenza di una correlazione tra la presenza dell'indicatore e la comparsa dell'infezione (maggiore è il numero dei germi indicatori, più frequente è l'infezione).

Sfortunatamente questo tipo di indagine, seducente sul piano teorico, è di difficile realizzazione. Si può citare, ad esempio, la ricerca di PETERSEN e HINES[46] sui tassi di infezioni gastro-intestinali in popolazioni servite da acque di diversa qualità (tabelle 14 e 15).

Nella comunità A, con acqua potabile pessima, il tasso di gastroenteriti nel corso dei 3 mesi d'estate è del 17,1% cioè circa il doppio di quello riscontrato nella comunità D, E, F, servite da acqua di qualità soddisfacente. La tabella 15 illustra l'effetto dell'acclimazione in aree con acque di scadente qualità.

Più recentemente in Francia, negli anni 1983-84, è stato condotto da FERLEY e coll.[14] uno studio longitudinale di 18 mesi sui rischi digestivi (diarrea, vomito, nausea, dolori addominali) legati al consumo di acqua potabile non conforme alle norme batteriologiche. In alcune regioni rurali francesi, in effetti, permangono comuni alimentati con acqua non trattata di qualità batteriologica fluttuante (talvolta buona, talvolta cattiva). A differenza dei comuni serviti da acque di buona qualità, quelli con popolazioni a rischio rappresentano campioni privilegiati per l'indagine (tabella 16).

Nei 50 comuni selezionati (29272 abitanti), i casi di infezioni digestive acute sono stati registrati dai medici, dai farmacisti e dai maestri per un periodo di 18 mesi durante il quale le acque potabili venivano analizzate per 4 indicatori (batteri totali, coliformi totali, coliformi fecali, streptococchi fecali). Il rischio relativo, cioè il rapporto tra il tasso di malattia nei soggetti esposti al probabile fattore causale (gruppo cattivo) e il tasso nei non esposti (gruppo buono) è

Tab. 14. Infezioni gastro-intestinali e qualità batteriologica dell'acqua potabile: tasso d'infezione.

Comunità	% di campioni + (in tubi)	Tasso di infezione nel corso dei 3 mesi estivi
A	100	17,1
B	90	14
C	72,5	11,9
D	0	9,9
E	2,5	9,1
F	1,7	7,5

Tab. 15. Infezioni gastro-intestinali e qualità batteriologica dell'acqua potabile: effetto dell'acclimazione.

	Tasso di infezione nei 3 mesi estivi	
	3 comunità con acqua scadente	3 comunità con acqua di elevata qualità
meno di 2 anni di residenza	21,6	9,4
più di 2 anni di residenza	10,8	8,5

risultato 3,5 per i casi notificati dai medici e dai farmacisti nella popolazione generale e 1,7 per i disturbi osservati dai maestri nei bambini (intervalli di confidenza 95%). Questa differenza tra le popolazioni esposte e non esposte è concordante e significativa, ma non è costante nell'arco di tempo di durata dell'indagine.

Questa indagine confermerebbe sia l'effettiva correlazione degli indicatori scelti ad un reale rischio infettivo, sia la validità della normativa sulle acque potabili. Per confermare quest'ultimo aspetto sarebbe necessario accertare la natura di queste gastro-enteriti. D'altronde, alla luce delle nuove conoscenze tassonomiche, sarebbe auspicabile analizzare la relazione non in rapporto ad una popolazione eterogenea di coliformi, ma rispetto alle singole specie che la costituiscono.

IV. Applicazioni dei nuovi dati al controllo batteriologico

Occorre dunque indagare sull'incidenza della presenza di queste nuove specie nei campioni d'acqua potabile e sul loro significato. In uno studio su 8005 campioni d'acqua potabile abbiamo isolato e identificato 564 ceppi di coliformi; i risultati, riassunti nella tabella 17, mostrano che nel 65,5% dei casi i coliformi isolati non sono di origine fecale. Cinque specie rappresentano da sole più del 50% degli isolamenti: le più importanti sono *Buttiauxella agrestis* (24,3%), *Rahnella aquatilis* (8,5%) e *Klebsiella terrigena* (5,3%). Tutti i ceppi di queste specie sembrano provenire da ambienti acquatici (trivellazioni, pozzi, sorgenti) per evolversi, transitare –e probabilmente moltiplicarsi– a livello delle stazioni di pompaggio, dei serbatoi o delle reti di distribuzione, soprattutto quando le acque non sono trattate.

La tabella 18 mostra che, su 8005 campioni d'acqua esaminati, 771 contengono batteri considerati indicatori di contaminazione fecale. Tuttavia, 283 di questi 771 campioni (il 36,7%) contengono coliformi che non hanno alcun significato di contaminazione fecale: ciò dimostra che nel 36,7% dei campioni d'acqua risultati positivi (contenenti cioè dei coliformi) – pari al 3,6% del totale dei campioni analizzati– l'interpretazione analitica data dalle norme della Comunità Europea[43] (che considera queste acque "non potabili") è errata. Questa percentuale varia secondo l'origine delle acque; essa, in effetti, è del 41,1% per le acque potabili soggette a disinfezione, del 32,4% per quelle non disinfettate e del 57,1% per le acque imbottigliate. Le concentrazioni di coliformi riscontrate nei campioni sono abitualmente basse: il 34% dei 771 campioni considerati conteneva meno di 5 coliformi per 100 ml.

V. Indicazioni pratiche e normative.

Sarebbe colpevole per l'igienista ignorare questo insieme di dati, strettamente interdipendenti, di natura batteriologica (tassonomica), fisiologica (temperatura di crescita) e ecologica (distribuzione) che ci invitano a rivedere le nostre concezioni sulla natura degli indicatori e sul loro uso nel controllo batteriologico dell'acqua.

V.1. Necessità di una classificazione aggiornata degli indicatori

Come tutte le scienze, la tassonomia evolve. La proliferazione delle specie che ne risulta è considerata da alcuni come una spiacevole fonte di confusione. In effetti, come fa osservare Brenner[5] il problema non è

Tab. 16. Disturbi digestivi acuti osservati fra la popolazione generale in gruppi di villaggi con diversa qualità dell'acqua, secondo la fonte d'informazione.

	Gruppo buono	Gruppo variabile	Gruppo scadente	Totale
Persone; settimane	530; 858	824; 576	481; 869	1837; 303
Medici + farmacisti	44	74	139	257
incidenza ‰	0,08	0,09	0,29	0,14
Medici + farmacisti + maestri ("casi obiettivi")	213	380	319	912
incidenza ‰	0,40	0,46	0,66	0,50
Medici + farmacisti + maestri ("tutti i casi")	431	770	749	1950
incidenza ‰	0,81	0,93	1,55	1,06

Tab. 17. Distribuzione e identificazione dei coliformi nei campioni d'acqua analizzati.

Origine	Trivel-lazioni	Stazioni di pompaggio	Serbatoi	Acquedotti trattati	Acquedotti non trattati	Pozzi	Sorgenti	Acque imbottigliate	Totale
Specie	61	40	78	162	143	30	25	25	564
COLIFORMI NON FECALI (%)									
Buttiauxella agrestis	21,3	30,0	32,0	17,3	34,2	20,0	12,0	4,0	24,3
R. aquatilis	6,6	12,5	5,1	12,4	6,3	6,7	4,0	12,0	8,5
K. terrigena	18,0	7,5	5,1	5,5	4,9	6,7	-	20,0	7,3
E. amnigena	1,6	5,0	6,4	6,8	5,6	6,7	12,0	8,0	6,0
S. fonticola	6,6	12,5	3,85	3,7	4,9	3,3	16,0	-	5,3
K. trevisanii	4,9	2,5	1,3	2,5	1,4	6,7	-	4,0	2,5
E. sakazakii	-	-	2,6	3,0	1,4	3,3	-	-	1,8
E. intermedium	-	-	-	1,25	3,5	3,3	-	-	1,4
S. plymuthica	1,6	-	1,3	1,25	-	-	-	4,0	0,9
S. liquefaciens	-	-	-	1,85	1,4	-	-	-	0,9
S. marcescens	-	-	-	-	-	-	4,0	-	0,2
ceppi non identificati	4,9	7,5	10,25	6,2	5,6	6,7	4,0	12,0	6,7
% su totale CNF[1]	65,5	77,5	67,9	61,75	69,2	63,4	52,0	64,0	65,8
COLIFORMI DI POSSIBILE ORIGINE FECALE (%)									
E. cloacae	8,2	5,0	12,8	10,5	14,0	10,0	12,0	20,0	11,5
C. freundii	14,7	17,5	12,8	14,2	7,0	10,0	12,0	20,0	11,5
K. oxytoca	3,3	-	1,3	6,8	4,2	10,0	16,0	4,0	5,0
E. coli	6,6	-	5,1	4,3	3,5	3,3	-	-	3,7
K. pneumoniae	-	-	-	1,2	2,1	3,3	4,0	12,0	1,8
H. alvei	1,6	-	-	1,25	-	-	4,0	-	0,7
% su totale CF[2]	34,4	22,5	32,0	38,3	30,8	36,6	48,0	36,0	34,2

[1] CNF= Coliformi non fecali; [2] CF= Coliformi di possibile origine fecale

Tab. 18. Batteri contaminanti le acque dichiarate non potabili secondo le norme europee.

Batteri indicatori	Acque in rete disinfettate (5533)	Acque in rete non disinfettate (2381)	Acque imbottigliate (91)	Totale (8005)
solo CF	125	208	5	338
solo SF	32	39	2	73
solo CNF	132	139	12	283
CNF + SF	6	9	0	15
CNF + CF	13	17	2	32
CF + SF	13	17	0	30
Totale	321	429	21	771

CF= Coliformi non fecali; SF= Streptococchi fecali; CNF= Coliformi non fecali, isolati a 37 °C.

quello dell'aumento del numero delle specie, ma quello della loro migliore definizione e della loro accettazione da parte di tutti. Al contrario, l'aumento del numero delle specie deve andare di pari passo con una migliore conoscenza del loro ruolo e del loro significato in ecologia, in epidemiologia, in igiene, ecc. Il gruppo dei coliformi –che comprendeva nel passato numerose specie intermedie o atipiche non identificabili– diviene così un insieme di specie geneticamente distinte e, d'ora in poi, perfettamente identificabili.

L'accoppiamento dei dati tassonomici con le particolarità fisiologiche ed ecologiche consente di stabilire una classificazione aggiornata degli enterobatteri coliformi (tabella 19). Questa classificazione, utile nell'igiene e nella sanità pubblica, permette di legare la tassonomia all'interesse igienico o epidemiologico di ciascuna specie. È così chiaro, finalmente, che certe specie –come *E. coli, K. pneumoniae* ed *E. cloacae*– sono di origine fecale e che altre –come *Buttiauxella agrestis, Rahnella aquatilis* e *Enterobacter amnigenus*– non sono di origine fecale. Le specie appartenenti ai tre gruppi della tabella 19 possono essere semplici colonizzatrici o patogene opportuniste. Alcune sono dei patogeni "specifici", possono cioè determinare disturbi patologici anche ad individui in buona salute: è il caso di *Yersinia enterocolica*, delle

Tab. 19. Classificazione aggiornata degli enterobatteri coliformi.

Coliformi fecali	**Coliformi non fecali**	
	acquatici o tellurici	**isolati in clinica**
Citrobacter freundii	*Budvicia aquatica*	*Cedecea davisae*
Citrobacter diversus		*Cedecea lapagei*
Citrobacter amalonaticus	*Buttiauxella agrestis*	*Cedecea neteri*
Enterobacter aerogenes	*Enterobacter amnigenus*	*Enterobacter agglomerans*
Enterobacter cloacae	*Enterobacter intermedium*	*Enterobacter gergoviae*
	Hafnia alvei	*Enterobacter sakazakii*
Escherichia coli	*Klebsiella terrigena*	*Enterobacter taylorae*
Klebsiella pneumoniae	*Leclercia adenocarboxylata*	*Escherichia hermanii*
Klebsiella oxytoca		*Escherichia vulneris*
	Rahnella aquatilis	
Moellerella wisconsensis		*Ewingella americana*
	Serratia liquefaciens	
Salmonella (sottogenere III Arizona)*	*Serratia plymuthica*	*Klebsiella trevisanii*
	Serratia fonticola	*Klebsiella ozenae*
*Yersinia enterocolitica**	*Yersinia frederiksenii*	*Kluyvera ascorbata*
	Yersinia intermedia	*Kluyvera cryocrescens*
	Yersinia kristensenii	
		Koserella trabulsii
		Serratia marcescens
		Serratia rubidea
		Serratia odorifera
		Serratia grimesii
Tutti eterotrofi o termotolleranti**	Tutti psicrotrofi o psicrotolleranti	Mesofili o termotrofi o psicrotrofi

* Le *Salmonella* del gruppo III (*Arizona*) e *Yersinia enterocolitica* sono patogeni specifici

** *Yersinia enterocolitica* è psicrotrofa ma si sviluppa anche a temperature elevate (42 °C)

Salmonella del gruppo III (*Arizona*) e di *Shigella sonnei*, responsabili di gastroenteriti o di diarree.

V.2. L'interesse di una identificazione a livello di specie

L'identificazione di specie, nel gruppo dei coliformi, si basava artificialmente su qualche carattere; Parr[45] aveva portato questa identificazione al suo più alto grado di perfezione con il test IMVIC. I metodi d'identificazione numerica, che poggiano sulla più o meno grande probabilità di un ceppo d'appartenere a un profilo di riferimento, sono invece i soli soddisfacenti. Il programma che noi abbiamo proposto[22] fornisce le migliori identificazioni.

La possibilità, che esiste d'ora in avanti, di esprimere la contaminazione dell'acqua in termini di specie batteriche riconosciute è un passo in avanti nella conoscenza della natura della contaminazione e del suo significato. Questa possibilità dovrà essere esplorata, in particolare nei casi delle acque minerali naturali. È evidente, infatti, che l'isolamento in un'acqua minerale di un ceppo di *Rahnella aquatilis* non può avere lo stesso significato di quello di un ceppo di *Escherichia coli* o di *Klebsiella pneumoniae*.

V.3. Il permanere dell'interesse per i coliformi termotolleranti

Se ci si riferisce, da una parte, ai criteri fisiologici sopra rammentati e, dall'altra, alle proprietà e ai comportamenti di questi indicatori appare chiaramente che, fra i coliformi, solo quelli termotolleranti ed *E. coli* conservano il loro significato. *E. coli* resta l'indicatore privilegiato, specifico, sensibile, con comportamento quasi simile a quello dei batteri patogeni, facile da identificare con l'aiuto dei metodi probabilistici. La ricerca dei coliformi termotolleranti rappresenta l'alternativa semplificata alla ricerca di *E. coli*. D'altronde, procedendo all'identificazione dei coliformi termotolleranti[44], ci si accorge che essi sono rappresentati per oltre il 99% da *E. coli*. È più che probabile che –alla temperatura di 44 °C o 44,5 °C, che è quella dei test utilizzati– gli *E. coli* siano avvantaggiati nella crescita rispetto ad altri coliformi termotolleranti compresenti, come mostrato dal nostro lavoro e da quello di Niemela e coll.[42] È dunque altrettanto probabile che questa temperatura elimini una certa percentuale di coliformi termotolleranti diversi da *E. coli*, conducendo così a "falsi negativi". La temperatura ideale di coltura, che sarà sempre un compromesso tra il massimo recupero di coliformi fecali e la massima eliminazione di coliformi non fecali, resta ancora da definire. Quella da noi proposta (41 °C) è, in ogni caso, più vicina alla realtà di quella di 44 °C o 44,5 °C.

Nei casi in cui i test ad alta temperatura risultino positivi, sembra indispensabile procedere all'identificazione dei ceppi termotolleranti con l'aiuto dei metodi probabilistici. I test semplificati per la ricerca e il conteggio dei coliformi termotolleranti non sono metodi d'identificazione ma metodi di screening per rivelare popolazioni o gruppi di specie aventi un significato. L'identificazione nel senso batteriologico del termine non può farsi che a livello di specie. Essa può essere eventualmente completata, a fini epidemiologici e per un approccio più preciso, fino all'identificazione del biotipo, del sierotipo, del lisotipo o del patotipo qualora si tratti di un germe patogeno, cosa che si verifica raramente. L'identificazione di *E. coli* o delle specie appartenenti ai coliformi termotolleranti, oggi accessibile a tutti, deve essere il passaggio obbligato (intermedio o conclusivo) per meglio definire e precisare la natura di una contaminazione e, dunque, il suo reale significato.

V.4. L'interesse di una "ponderazione" degli indicatori

I dati finora illustrati conducono, naturalmente, a riattualizzare il valore o il significato degli indicatori in quanto specie batteriche. Rapportandosi alla classificazione della tabella 17, si constata che le specie ben note dei generi *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter* e *Citrobacter* –che sono di origine fecale e appartengono ai coliformi termotolleranti– sono degli indicatori di contaminazione fecale di alto significato e che, pertanto, occorre continuare a prenderle in considerazione.

Tra le specie non fecali è importante distinguere quelle di origine acquatica o tellurica, riscontrabili frequentemente nell'acqua, e quelle isolate in clinica come colonizzatori o patogeni opportunisti. Fra questi ultimi, alcuni si rinvengono raramente e costituiscono più che altro curiosità di laboratorio. Altre sono più frequenti ma, in effetti, tutte le specie elencate sono potenzialmente colonizzatori o patogeni opportunisti.

Queste specie, frequentemente isolate dall'acqua sotto il nome di coliformi totali, non hanno in realtà alcun significato, non essendo di origine fecale.

Questa distinzione fondamentale deve essere tenuta ben presente sia a livello dell'interpretazione che della normativa. Essa suggerisce la necessità di attribuire un peso ben diverso alle specie fecali e non fecali come già avviene, ad esempio, nella normativa sugli alimenti e come potrebbe essere recepita dalla normativa europea sulle acque.

Conclusioni

I progressi realizzati nel corso degli ultimi venti anni nel campo della tassonomia batterica e delle sue relazioni con l'ecologia acquatica ci inducono a rivedere il concetto di enterobatteri coliformi nel suo contenuto e nel suo significato.

- La classificazione dei coliformi deve essere interamente rivista. Alcuni anni fa il gruppo comprendeva meno di 10 specie (*E. coli, Klebsiella pneumoniae* e *oxytoca, Enterobacter cloacae* e *aerogenes, Citrobacter freundii, diversus* e *amalonaticus*) mentre oggi sono circa 60.
- Tutte queste specie possono essere perfettamente identificate mediante i metodi probabilistici.
- I coliformi si differenziano in due gruppi fisiologicamente ed ecologicamente omogenei: gli uni, termofili (positivi al test ad alta temperatura), sono di origine fecale; gli altri, psicrotrofi, (negativi al test ad alta temperatura), sono di origine ambientale.
- La temperatura più adatta per questa differenziazione è di 41 °C (e non di 44 °C o 44,5 °C).
- I dati tassonomici ed ecologici portano a stilare una classificazione di specie di origine fecale e non fecale, classificazione che potrà essere la base della valutazione della qualità igienica dell'acqua.
- Questa classificazione mostra che solo la ricerca dei coliformi fecali o termotolleranti è significativa e che quella dei coliformi totali non ha senso.
- I metodi di screening (test dell'alta temperatura) per ricercare i coliformi termotolleranti sono indispensabili; essi dovranno essere completati con l'identificazione della specie per confermare la natura della contaminazione.

Bibliografia

(1) Arkwright J.A. — Natural variation of *B. acidi tactici* with respect to the production of gas from carbohydrates. *J. Hyg*., **13**: 68-86, 1913.

(2) Bauer R.R. — History and Background on occurences of fecal coliforms in industrial wastes. In «The Significance of Fecal Coliforms in Industrial Wastes». R.H. Bordner and B.J. Carrol. eds. (Denvers, Colorado: National Field Investigations Center, Environmental Protection Agency, 1972).

(3) Braak H.R. — Onderzoekingen over Vergisting van Glycerine. Thesis, W.D. Meinema-Uitgeurer, Delft, 1928.

(4) Breed R.S., Norton J.F. — Nomenclature for the colon group. *Am. J. Pub. Health*, **27**: 560-563, 1937.

(5) Brenner D.J. — Introduction to the family Enterobacteriaceae. p. 1105-1127. In: Starr M.P., Stolp H., Truper H.GF., Ballows A., Schlegel H.G. The Prokaryotes. A Handbook on Habitat, Isolation and Identification of Bacteria. Vol. 2. *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg.

(6) Brown C., Seidler R.J. — Potential pathogens in the environment: *Klebsiella pneumoniae*, a taxonomic and ecological enigma. *Appl. Microbiol*., **25**: 900-904, 1973.

(7) Buttiaux R., Samaille J., Pierens Y. — L'identification des *Escherichia* des eaux. Test d'Eijkman et production d'indole à 44°C- Test IMVIC. *Ann. Inst. Pasteur* (Lille), **8**: 137-149, 1956.

(8) Buxton P.A. — Carriage of coliform bacilli by the oriental hornet. *Vespa orientalis* Fabr. *J. Hyg*., **19**: 68-71, 1920-21.

(9) Ducan D.W., Razzel W.E. — Klebsiella biotypes among coliforms isolated from forest environments and farm produce. *App. Microbiol*., **24**: 933-938, 1972.

(10) Eickhoff T.C. — *Klebsiella pneumoniae* infection: a review with reference to the water-borne epidemiologic signifiance of *K. pneumoniae*. Presence in the Natural Environment. Technical Bull. N° 254 (New-York: National Council of the Paper Industry for Air and Stream Improvement, Inc., 1972).

(11) Eijkman C. — Die Garungsprobe Uber 46°C als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. *Zbl. Bakt I. Abt. Orig*., **37**: 742, 1904.

(12) Escherich T. — Die Darmbacterien des Neugeborenen und Sauglings. *Fortschr. Med*., **3**: 515-522, 557-564, 1885.

(13) Fennel H. — A single tube confirmatory test for *Escherichia coli* at 44°C. *Proc. Soc. Water Treatm. Exam*., **21**: 13-20, 1972.

(14) Ferley J.P., Zmirou D., Collin J.F., Charrel M. — Etude longitudinale des risques liés à la consommation d'eaux non conformes aux normes bactériologiques. *Rev. Epidém. et Santé Publ*., **34**: 89-99, 1986.

(15) Freney J., Fleurette J., Gruep L.D., Desmonceaux M.,

GAVINI F., LECLERC H. — *Klebsiella trevisanii* colonisation and septicaemia. *The Lancet*, **21**: 909, 1984.

(16) FRENEY J., GAVINI F., ALEXANDRE H., MADLER S., IZARD D., LECLERC H., FLEURETTE J. — Nosocomial infestion and colonisation by *Klebsiella trevisanii. J. Clin. Microbiol*., **23**: 948-950, 1986.

(17) GAVINI F., FERRAGUT C., LEFEBVRE B., LECLERC H. — Etude taxonomique d'entérobactéries appartenant on apparentées au genre *Enterobacter*. *Ann. Microbiol*. (Inst. Pasteur), **127 B**: 317-335, 1976.

(18) GAVINI F., IZARD D., TRINEL P.A., LEFEBVRE B., LECLERC H. — Etude taxonomique d'entérobactéries appartenant on apparentées à l'espèce *E. coli*. *Can. J. Microbiol*., **27**: 1, 98-106, 1981.

(19) GAVINI F., LECLERC H., LEFEBVRE B., FERRAGUT C., IZARD D. — Etude taxonomique d'entérobactéries appartenant on apparentées au genre *Klebsiella*. *Ann. Microbiol*. (Inst. Pasteur), **128 B**: 45-59, 1977.

(20) GAVINI F., LECLERC H., MOSSEL D.A.A. — Enterobacteriaceae of the «coliform group» in drinking water: identification and worldwide distribution. *Syst. Appl. Microbiol*., **6**: 312-318, 1985.

(21) GAVINI F., LEFEBVRE B., LECLERC H. — Positions taxonomiques d'entérobactéries H_2S- par rapport au genre *Citrobacter*. *Ann. Microbiol*. (Inst. Pasteur), **127 A**: 275-295, 1976.

(22) GAVINI F., OGER C., LEFEBVRE B., IZARD D., LECLERC H. — Development of a computer identification system for coliform strains. *J. Appl. Bacteriol*., **52**: 329-332, 1982.

(23) GRIMONT P.A.D. — Apport des hybridations ADN/ADN dans la taxonomie des Enterobacteriaceae. *Coll. INSERM* «Les bacilles à Gram négatif d'intéret médical et en santé publique: taxonomie, identification, applications», **114**: 49-67, 1983.

(24) GRIMONT P.A.D. — Taxonomie des *Escherichia*. *Méd. et Mal. Infect*., 6-10, 1987.

(25) HAY H.R. — A study of the *Bacillus mucosus* Capsulates group. *J. Hyg*., **32**: 240-257, 1932.

(26) HERMAN D.L. — Experiences with coliform and enteric organism isolation from industrial wastes. In «The Significance of fecal coliform in industrial wastes». R. H. Bordner and B .J . Carrol eds . (Denvers, Colorado, National field investigations center, 1972).

(27) HUSSON M.O., TRINEL P.A., IZARD D., MIELCAREK C., GAVINI F., LECLERC H. — Antigenic specificity elf *Escherichia coli* alkaline phosphatase studied with monoclonal antibodies: immunological characterization of *E. coli* and *Shigella* strains. *Ann. Microbiol*. (Inst. Pasteur), **138**: 39-48, 198'7.

(28) INGRAM M. — Psychrophilic and psychrotrophic microorganisms. *Ann. Inst. Pasteur* (Lille), **16**: 111-118, 1965.

(29) IZARD D., HUSSON M., VINCENT P., LECLERC H. — Méthodes rapides et automatiques d'identification des entérobactéries. *Ann. Biol. Clin*., 419-426, 1983.

(30) JORDAN E.O. — A report on certain species of bacteria observed in sewage. In: Sedgewick, A report of the biological work of the Lawrence Experiment Station, including an account of methods employed and results obtained in the microscopical and bacteriological investigation of sewage and water. Report on water supply and sewerage (Part. II). *Rep. Mass. Bd. Publ. Hlth*, pp. 821-944, 1980.

(31) JORDAN H.E. — Editorial statment. The coliform group of bacteria. *J. Am. Water Works Assoc*., **29**: 1999-2000, 1937.

(32) LECLERC H. — Etude biochimique d'Enterobacteriaceae pigmentées. *Ann. Inst. Pasteur*, **102** (6): 726-741, 1962.

(33) LECLERC H. — Etude de bacilles à Gram négatif isolés des eaux présentant one activité ß-galactosidase. *Ann. Inst. Pasteur* Lille, **14**: 49-110, 1963.

(34) LECLERC H., BUTTIAUX R. — Les *Hafnia*. *Ann. Inst. Pasteur*, **106**: 917-927, 1964.

(35) LECLERC H., BUTTIAUX R. — Les *Citrobacter*. *Ann. Inst. Pasteur* Lille, **16**: 67-74, 1965.

(36) LECLERC H., MORIAMEZ J.C. — Etude quantitative de la flore fécale de l'adulte et du nourrisson alimenté artificiellement. *Path. Biol*., **28** (4): 217-226, 1980.

(37) LECLERC H., MOSSEL D.A.A., SAVAGE C. — Monitoring non-carbonated («still») mineral waters for aerobic colonization. *Int. Jour. Food. Microbiol*., **2**: 341-347, 1985.

(38) LEWIS C.J. — The coliform organisms of water-cress. *Birmingham Med. Rev*., **81**: 1-10, 1917.

(39) MACKENZIE E.F.N., TAYLOR E.N., GILBERT W.E. — Recent experiences in the rapid identification of *Bacterium coli* type I. *J. Gen. Microbiol*., **2**: 197-204, 1948.

(40) MORITA R.J. — Psychrophilic bacteria. *Bact. Rev*., 39, 144-167, 1975.

(41) MOSSEL D.A.A., SWARTH H. — The rapid tentative recognition of psychrotrophic type among Enterobàcreriaceae isolated from foods. *J. Appl. Bact*. **23** (2): 185-188, 1960.

(42) NIEMELA S.I., MENTU J., VAATANEN P., LAHTI K. — Maximom growth temperature as a diagnostic character in Enterobacteriaceae. *Coll. INSERM* «Les bacilles à Gram négatif d'intéret medical et en santé publique: taxonommie, identification, applications», **114**: 619-627, 1983.

(43) OGER C., GAVINI F., DELATTRE J.M., LECLERC H. — A propos des coliformes et de la colimétrie des eaux d'alimentation. *Ann. Microbiol*. (Inst. Pasteur), **132 A**: 183-189, 1981.

(44) OGER C., LECLERC H. — Essai de nouveau tests «haute temperature» pour la mise en evidence des coliformes fécaux ou

des *E. coli* dans les eaux. *Microbia*, **3** (1): 47-55, 1977.

(45) PARR L.W. — Coliform bacteria. *Bact. Rev*., **3**: 1-37, 1939.

(46) PETERSEN N.J. and HINES V.D. — The relation of summertime gastrointestinal illness to the sanitary quality of the water supplies in six Rocky Mountain Communities. A*m. J. Hyg*., **71**: 314-320, 1960.

(47) PUGSLEY A.P., EVISON L.M., HAMES A. — A simple technique for the differentiation of *E. coli* in water examination. *Water Res*. (Pergamon Press), **7**: 1431-1437, 1973.

(48) REVIS C. — The stability of the physiological properties of coliform organisms. *Zentr. Bakt. Parasitenk*, Il. **26**: 161-178, 1910.

(49) ROBINSON A.L. — A convenient chart classification of lactose-fermenting *Bacillus coli* (MacConkey's tests) for use in bacteriological examinations of tropical and subtropical supplies. *J. Roy. Naval. Med. Service*, **14**: 104-117, 1928.

(50) SCHMIDT-LORENZ W., BISCHOFBERGER T., CHA S.K., SCHMITT R. — The bacterial flora and the value of elevated temperature (42°C) count in detecting pollution in bottled natural non-carbonated mineral waters. 13th International Symposium of the International Union of Microbiological Societies, 5-9 Oct. 1987, Halkidiki/Greece.

(51) SCHMIDT-LORENZ W., JAEGGI N. — Colony counts at 42°C for the evaluation of hygienic quality of bottled natural uncarbonated mineral water. *Microbiol. Aliments Nutrition*, Vol. 1, 377-391, 1983.

(52) SEDLER R.J., KNITTEL N.D., BROWN C. — Potential pathogens in the environment: cultural reactions and nucleic acid studies on *Klebsiella pneumoniae* from clinical and environmental sources. *Appl. Microbiol*., **29**: 819, 1975.

(53) STANDARD METHODS OF MILK ANALYSIS — 6th Ed. *Am. Pub. Health Assoc. and Assoc. Official Agr. Chem*., 1934.

(54) STANDARD METHODS OF MILK ANALYSIS — 8th Ed. *Am. Pub. Health Assoc. and Am. Water Works Assoc*., 1936.

(55) STEWART M.J. — A study of the coliform organisms infecting the wounds of war. *J. Hyg*., **16**: 291-316, 1918.

(56) STOKES J.L. — General biology and nomenclature of psychrophilic bacteria. pp. 187-192, Gibbons (ed.). Recent progress in microbiology. Toronto, Univ. Of Toronto Press, 1963.

(57) WALKER J., CARBONNELLE B., LECLERC H. — Auto-épuration microbienne par lagunage. *Wat. Research*, **11**: 17-29, 1977.

(58) WALKER J., LECLERC H.— Traitement experimental d'épuration d'une eau de surface par lagunage: aspects chimiques et microbiologiques. *Wat. Research*, **7**: 707-728, 1973.

(59) ZOPF W. — Die Spaltpilze, 3rd ed. *Edward Trewendt*, Breslau, pp. 1-127, 1885.

DEPURAZIONE

LA RIMOZIONE BIOLOGICA DEGLI INQUINANTI GASSOSI

Rassegna bibliografica a cura di **Rossella Azzoni**[1]

L'idea di sfruttare i processi di biodegradazione operati dai microrganismi per rimuovere i composti indesiderati dispersi nell'ambiente si è sviluppata originariamente nel campo del trattamento delle acque usate ed in tale settore è ormai ben consolidata; anche per il trattamento di suoli ed acque sotterranee contaminate da composti organici sono applicate con successo da parecchi anni le tecniche di *bioremediation* mentre negli ultimi anni si stanno imponendo esperienze che utilizzano sistemi biologici per il controllo dei contaminanti aerodispersi.

Lo sviluppo delle tecniche di biofiltrazione dell'aria si è realizzato in Germania occidentale dalla fine degli anni '70: queste esperienze hanno dimostrato che la biofiltrazione risulta economica e presenta una serie di vantaggi rispetto alle altre tecnologie di controllo dell'inquinamento dell'aria, soprattutto se viene applicata all'abbattimento di gas di scarico che contengono basse concentrazioni di contaminanti facilmente biodegradabili.

La biofiltrazione è infatti una tecnica utilizzata tipicamente per la rimozione delle sostanze osmogene al fine di deodorizzare l'aria emessa da una sorgente puntiforme (tab. I).

Gli odori e le sostanze odorigene

Si può definire come "odore" qualunque emanazione percepibile attraverso il senso dell'olfatto e una sostanza, per essere percepita dall'olfatto, deve giungere nella zona olfattoria della mucosa nasale in concentrazione sufficientemente elevata per poterla stimolare.

Le principali caratteristiche di un odore sono: percettibilità, intensità, diffusibilità, natura chimica e tono edonico.

Una sostanza odorigena può essere percepita soltanto quando raggiunge una concentrazione minima detta "soglia di percettibilità" definita, su base statistica, come la concentrazione minima percepibile dal 50% del gruppo di persone preposte all'analisi olfattiva.

[1] PMIP, Via Juvara 22, Milano

Tab. I. Tipi di aziende che impiegano biofiltri e rispettivi composti odorosi da trattare. (da I.P.S., 1990).

Tipo di attività	Composti odorosi da rimuovere
Depuratori	idrogeno solforato, ammoniaca, metilmercaptano, biossido di zolfo, metano
Compostaggio	etanolo, diacetile, limonene, acetoina, cadaverina, putrescina, ammoniaca, idrogeno solforato, metilmercaptano
Demolizioni	ammoniaca, ammine, mercaptani, idrogeno solforato, acidi grassi saturi e insaturi, chetoni, aldeidi, solfuri organici, bisolfuri, idrocarburi
Riempimento bombole	propano, n-butano, isobutano
Industrie alimentari	alcoli, aldeidi, chetoni, acidi organici, esteri
Essiccamento letame	ammoniaca, ammine, ammidi, idrogeno solforato, solfiti organici, mercaptani
Allevamento bestiame	ammoniaca, ammine, mercaptani, idrogeno solforato, acidi grassi
Altre	toluene, terpene, benzene, etilacetato, butilacetato, butanolo, NO_x,ossido di carbonio, dimetilsolfuro, paraffine

Il livello di concentrazione cui corrisponde la soglia di percettibilità varia enormemente da una sostanza all'altra in funzione delle caratteristiche chimiche, ma può anche variare in misura notevole da un soggetto all'altro in funzione dell'età, dello stato di salute, ecc.; la soglia di percettibilità, inoltre, può ridursi durante l'esposizione prolungata alle sostanze odorigene in seguito a fenomeni di fatica, adattamento o assuefazione.

Nonostante vi siano parecchie eccezioni, le relazioni fra soglia di percettibilità e proprietà chimicofisiche delle sostanze odorigene sono di norma attribuite alla tensione di vapore, alla idro- e liposolubilità, alla adsorbibilità.

La concentrazione di una sostanza odorigena deve essere posta in relazione anche con l'intensità della sensazione provocata: la soglia di discriminabilità degli odori corrisponde al minimo incremento di concentrazione di una sostanza in corrispondenza del quale il 50% dei rilevatori percepisce una differenza di odore.

Un parametro indicativo della capacità di diffusione dell'odore di una determinata sostanza è il cosiddetto "Odor Index", definito come il rapporto fra la tensione di vapore della sostanza e la concentrazione minima percepita dal 100% del gruppo di persone preposte all'analisi olfattiva; questo parametro combina quindi la diffusibilità della sostanza con la capacità odorigena.

La caratterizzazione degli odori può essere effettuata sulla base della natura chimica delle sostanze odorigene (composti sulfurei, aldeidi e chetoni, composti azotati ecc.) mentre il tono edonico indica la gradevolezza dell'odore (tab. II).

La misura degli odori costituisce un problema non ancora completamente risolto; esistono comunque due classi di metodi di misura: i metodi analitici ed i metodi olfattometrici.

I metodi analitici sono basati sull'analisi strumentale dell'aria contaminata mentre quelli olfattometrici si basano sul rilevamento degli odori da parte di apposite giurie composte da diverse persone; certamente solo i metodi analitici sono in grado di fornire dati precisi, ma solo i metodi olfattometrici rispecchiano in modo reale quello che può essere il disturbo provocato da un determinato composto, o da un miscuglio di sostanze, sulle persone.

La molestia provocata dagli odori è un campo nel quale giocano un ruolo significativo anche fattori psicologici; ne deriva che lo studio della nocività di una sostanza aerodispersa deve essere tenuto ben distinto dallo studio del disagio derivato dalla presenza di sostanze odorigene.

Il trattamento biologico dell'aria

I biofiltri depurano l'aria con un meccanismo simile a quello con cui i depuratori trattano le acque reflue.

La capacità di depurazione del biofiltro dipende in larga misura dallo sviluppo spontaneo di una popolazione microbica eterogenea composta da batteri chemioeterotrofi e chemioautotrofi, da muffe e da lieviti. La flora microbica colonizza il materiale filtrante sviluppandosi soprattutto nell'acqua di umidificazione del biofiltro, costituendo un vero e proprio biofilm attivo. L'attività di tale biofilm dipende non solo dalle specie presenti, ma anche dalla disponibilità di sostanze nutritive, dall'umidità, dal pH, dall'ossigeno disciolto nel biofilm stesso, dalla temperatura e da

Tab. II. Composti espressamente identificati o implicati nelle emissioni odorose. (da WILLIAMS & MILLER, 1992)

Nome	Formula	Peso molec.	Punto ebolliz.	solubilità /100mL	Odore	Soglia olfattiva µg/m³ bassa	µ/m³ alta	µ/m³ a 20°C
Composti dello zolfo								
solfuro di idrogeno	H_2S	34,1	-60,7	437 mL	uova marce	0,7	14	6,7
ossisolfuro di carbonio	COS	60,1	-50,2	50 mL	pungente	-	-	-
disolfuro di carbonio	CS_2	76,1	46,3	0,22 g	dolciastro, sgradevole	24,3	23000	665
dimetilsolfuro	$(CH_3)_2S$	62,1	37,3	insolubile	cavoli marci	2,5	50,8	2,5
dimetilbisolfuro	$(CH_3)_2S_2$	94,2	109,7	insolubile	solfuro	0,1	346	-
dimetiltrisolfuro	$(CH_3)_2S_3$	126,2	165	insolubile	solfuro	6,2	6,2	-
metanetiolo	CH_3SH	48,1	6,2	molto bassa	solfuro, pungente	0,04	82	4,2
etanetiolo	CH_3CH_2SH	62,1	35	molto bassa	solfuro, terroso	0,032	92	2,6
Ammoniaca e composti azotati								
ammoniaca	NH_3	17,1	-33,4	90 g	pungente, acuto	26,6	39600	33100
aminometano	$(CH_3)NH_2$	31,6	-6,3	elevata	pesce, pungente	25,2	12000	-
dimetilammina	$(CH_3)_2NH$	45,1	7,4	elevata	pesce, ammina	84,6	84,6	88,1
trimetilammina	$(CH_3)_3N$	59,1	2,9	elevata	pesce, pungente	0,8	0,8	0,52
trimetilindolo (scatolo)	$C_6H_3C(CH_3)CHNH$	131,2	265	solubile	feci, cioccolato	$4 \cdot 10^{-5}$	268	-
Acidi grassi volatili								
metanoico (formico)	HCOOH	46,0	100,5	infinita	pungente	45,0	37800	-
etanoico (acetico)	CH_3COOH	60,1	118	infinita	aceto	2500	250000	2500
propanoico (propionico)	CH_3CH_2COOH	74,1	141	infinita	rancido, pungente	84,0	60000	-
butanoico (butirrico)	$CH_{3(}CH_2)_2COOH$	88,1	164	infinita	rancido	1,0	9000	3,7
pentanoico (valerico)	$CH_{3(}CH_2)_3COOH$	102,1	187	3,7 g	sgradevole	2,6	2,6	-
3-metilbutanoico (isovalerico)	$CH_3CH_2CH(CH_3)COOH$	102,1	176	4 g	formaggio rancido	52,8	52,8	-
Chetoni								
propanone (acetone)	CH_3COCH_3	58,1	56,2	infinita	dolciastro, menta	47500	161000	241000
butanone (MEK)	$CH_3COCH_2CH_3$	72,1	79,6	elevata	dolciastro, acetone	737	147000	30000
2-pentanone (MPK)	$CH_3COCH_2CH_2CH_3$	86,1	102	lieve	dolciastro	28000	45000	-
Altri composti								
benzotiazolo	C_6H_4SCHN	135,2	231	infinita	penetrante	442	2210	-
etanale (acetaldeide)	CH_3CHO	44,1	20,8	infinita	dolciastro, erba	0,2	4140	385
fenolo	C_6H_5OH	94,1	181,8	solubile	medicinale	178	2240	184

eventuali inibizioni provocate da sostanze tossiche presenti nel gas o provenienti dal metabolismo microbico stesso.

Il trattamento di reflui gassosi viene generalmente effettuato utilizzando biofiltri nei quali il biofilm attivo si genera attraverso processi del tutto naturali; nel caso di reflui di tipo industriale con composizione costante e nota, tuttavia, il trattamento può avvenire per mezzo di biofiltri colonizzati da monocolture o da consorzi di batteri *wild type* selezionati ed adattati.

I composti maleodoranti che possono essere rimossi con la biofiltrazione sono i solfuri (in modo particolare l'idrogeno solforato), i composti azotati, le aldeidi, i chetoni, gli alcoli, gli eteri e la maggior parte dei solventi (tab. III).

Per favorire la crescita batterica ed aumentare i rendimenti di rimozione degli inquinanti, si può agire sulla disponibilità di nutrienti e di ossigeno. I composti organici inquinanti provvedono a fornire il carbonio alla coltura microbica mentre azoto, fosforo, potassio e zolfo si possono dosare dall'esterno.

I biofiltri

Il biofiltro per il trattamento degli inquinanti aerodispersi consiste in un letto di materiale biologicamente attivo attraverso cui viene forzatamente ventilata l'aria contaminata; concedendo un opportuno tempo di permanenza dell'aria nel filtro, i contaminanti diffondono nello strato umido biologicamente attivo che circonda le particelle del filtro; la degradazione aerobica degli inquinanti avviene nel biofilm ed i prodotti finali della degradazione sono anidride carbonica, acqua e biomassa microbica (fig. 1).

Perché un biofiltro operi con efficienza, il riempimento deve garantire non solo le condizioni ambientali migliori per le popolazioni microbiche residenti, ma anche una distribuzione delle particelle e dei pori tale da garantire ampie superfici di contatto e basse perdite di carico. Inoltre, il riempimento deve garantire la minima compattazione nel tempo per ridurre gli interventi di manutenzione e di aggiunta di materiale.

Un materiale fresco viene considerato adatto come riempimento quando presenta pH compreso fra 7 e 8,

Tab. III. Rimozione di vari composti odorosi in un biofiltro. (da I.P.S., 1990).

Composto odoroso	Rimozione %
aldeidi	92-99,9
ammine, ammidi	92-99,9
ammoniaca	92-95
benzene	> 92
cadaverina, putrescina, limonene	96
monossido di carbonio	90
dimetilsolfuro	91
etanolo, diacetile, acetoina	96
idrogeno solforato	98-100
isobutano, n-butano	95-98
mercaptani	92-95
acidi organici	99,9
solfuri e bisolfuri organici	90-99
idrocaburi poliaromatici	95-100
propano	92-98
biossido di zolfo	97-99
terpeni	> 98

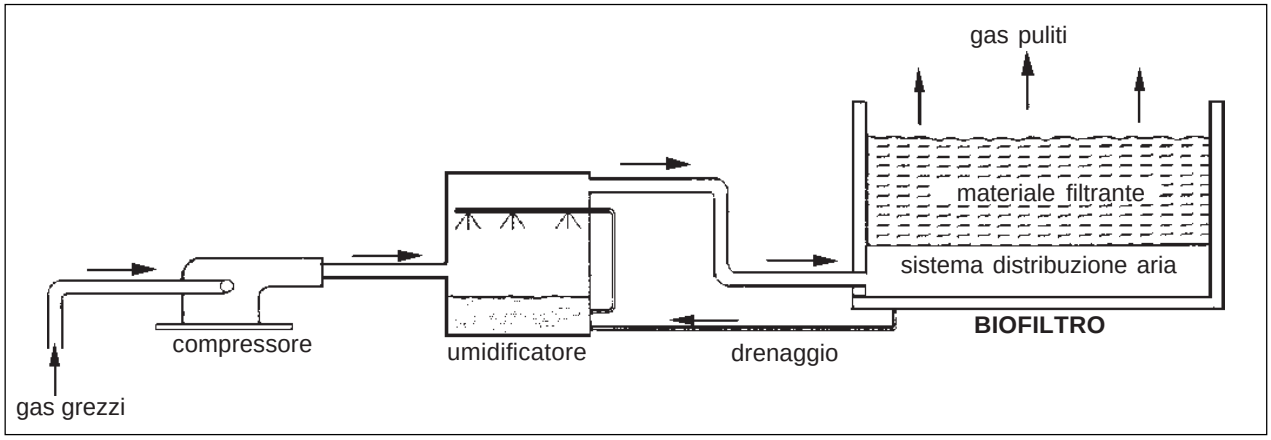


Fig. 1. Schema di un biofiltro aperto a letto singolo. (da LESON & WINER, 1991)

volume dei pori superiore all'80% e contenuto di sostanza organica superiore al 55%.

Il riempimento del filtro può essere realizzato con diversi materiali come: terreno, sabbia, compost, torba o cortecce d'albero.

Nel caso di un filtro costituito da terreno, il letto filtrante viene realizzato in trincea oppure in cumulo; sul fondo del letto si installa il sistema di diffusione dell'aria maleodorante, generalmente costituito da una tubazione forata avvolta in una camicia di ghiaia.

Il riempimento del filtro può essere lo stesso terreno dello scavo, se esso è di natura argillosa o sabbiosa; in altri casi può essere appositamente trasportato in loco in modo che il letto abbia le idonee caratteristiche. Lo spessore dello strato filtrante deve essere di almeno 1 m e, preferibilmente, superiore a 2 m.

Per diminuire l'acidità che si genera dall'ossidazione di alcuni composti, si procede normalmente all'innaffiamento del letto; questa operazione, mantenendo una sufficiente umidità nel filtro, crea anche le condizioni ottimali per la vita e lo sviluppo dei microrganismi e facilita l'utilizzo dei solfuri disciolti in acqua.

I biofiltri a terreno sono progettati in modo che la velocità del flusso d'aria ascendente sia compresa fra 0,2 e 1 m/min; per garantire un tempo di contatto sufficiente, la velocità più alta può essere raggiunta utilizzando un terreno sabbioso protetto dalla pioggia e spesso almeno 1,5 m; in queste condizioni, le perdite di carico sono piuttosto contenute.

I biofiltri a compost garantiscono concentrazioni di nutrienti inorganici più che sufficienti per la crescita dei microrganismi ed il tempo di ritenzione dell'aria consigliato è di circa 30 secondi; il letto di compost, però, si abbassa con il passare del tempo e quindi si deve prevedere di aggiungere continuamente del materiale. Talvolta, se gli stadi finali del processo di compostaggio sono stati effettuati in condizioni di insufficiente aerazione, all'avvio del biofiltro si possono verificare delle emissioni odorose.

Il compost presenta il vantaggio di dare perdite di carico minori rispetto al terreno.

I biofiltri che utilizzano come riempimento torba e corteccia d'albero sfruttano le proprietà d'entrambi i componenti. La torba, grazie alle sue proprietà assorbenti, funge da substrato per l'insediamento dei microrganismi mentre la corteccia d'albero, grazie al suo buon comportamento meccanico, fa da supporto strutturale alla torba e quindi consente di ridurre le perdite di carico alle quali va incontro il flusso gassoso.

Le perdite di carico sono funzione dell'umidità ed aumentano all'aumentare del contenuto d'acqua; la torba è il materiale che riesce ad adsorbire la maggior quantità d'acqua e quindi, pur costituendo il substrato ideale per i microrganismi, deve essere miscelata a materiali che ne migliorino la resistenza strutturale, come le sfere di polistirene o la corteccia degli alberi (fig. 2).

Parametri costruttivi e gestionali

L'*umidità* è il parametro che, più di ogni altro, condiziona il rendimento del filtro: è necessario che sia sempre controllata e mantenuta pressoché costante.

Poiché il processo di ossidazione biologica è alla base del meccanismo di rimozione degli odori, è essenziale che il contenuto d'umidità sia quello ottimale per i microrganismi residenti; esso può variare dal 20% al 60% in peso a seconda del riempimento usato.

L'evaporazione dell'acqua assorbita dal materiale filtrante è determinata dall'attività dei microrganismi e dall'azione dei gas che, attraversando il filtro, prelevano acqua e fanno seccare il materiale di riempimento.

Con un sistema di umidificazione approssimativo può accadere che il letto si rigonfi nei periodi umidi e si ritiri durante quelli secchi: questa alternanza determina la riduzione di volume del filtro e la formazione di vie preferenziali per il flusso d'aria.

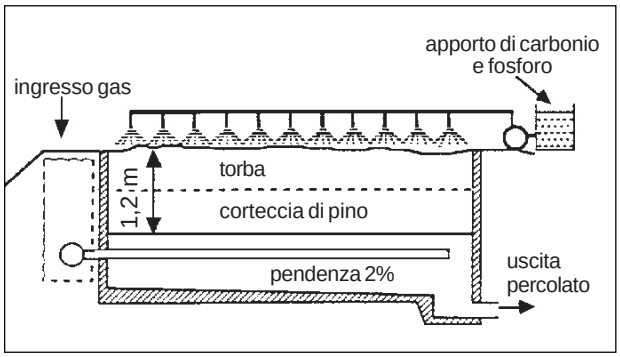


Fig. 2. Schema di trattamento di biodeodorizzazione su torba presso l'impianto di Carry-Sausset. (da BENEDUSI *et al.*, 1993).

Un contenuto d'umidità inferiore al necessario provocherà una riduzione dell'attività biologica ed il trasferimento nella fase gassosa degli inquinanti già adsorbiti nel filtro; un eccesso d'acqua promuoverà lo sviluppo di zone anaerobiche all'interno del filtro provocando lo sviluppo di cattivi odori. L'ostruzione dei pori farà aumentare la perdita di carico del filtro determinando un aumento dei costi di gestione in quanto i compressori con i quali si convoglia l'aria al biofiltro dovranno consumare una maggiore quantità di energia per vincere le resistenze opposte al passaggio del flusso.

La quantità di acqua necessaria a mantenere una sufficiente umidità nel filtro può essere fornita in due diversi modi: per preumidificazione dell'aria entrante e per bagnatura diretta.

La preumidificazione consiste nel mettere a stretto contatto l'aria da trattare con molta acqua, in modo che il flusso aumenti il suo tenore di umidità, oppure nell'iniettare vapore nel flusso gassoso; la sola preumidificazione non è in grado di contrastare completamente l'evaporazione ed è quindi necessario ricorrere alla bagnatura diretta del riempimento con un sistema a pioggia disposto sopra il biofiltro (fig. 3).

Con forniture d'acqua eccessive si rischia la formazione di un percolato che, infiltrandosi nel letto, asporta parte dei nutrienti riducendo la qualità del substrato organico.

Il processo di essiccamento del filtro causato dal flusso di gas insaturo è più importante in corrispondenza del punto di immissione poiché –una volta entrato– il gas si satura piuttosto velocemente; inoltre, l'ossidazione biologica esotermica è più spinta dove gli inquinanti hanno le concentrazioni più elevate, cioè all'ingresso del filtro. Una interessante soluzione impiantistica, che può prevenire tale essiccamento, prevede l'immissione dell'aria dall'alto al basso in equicorrente con l'acqua.

La *portata*, calcolabile in fase progettuale in funzione del tempo di ritenzione ottimale per la rimozione dei contaminanti, può subire nel tempo diminuzioni più o meno modeste in seguito all'aumentare delle perdite di carico determinate dall'impaccamento dello strato filtrante.

Il *contenuto d'ossigeno* nel biofiltro deve essere

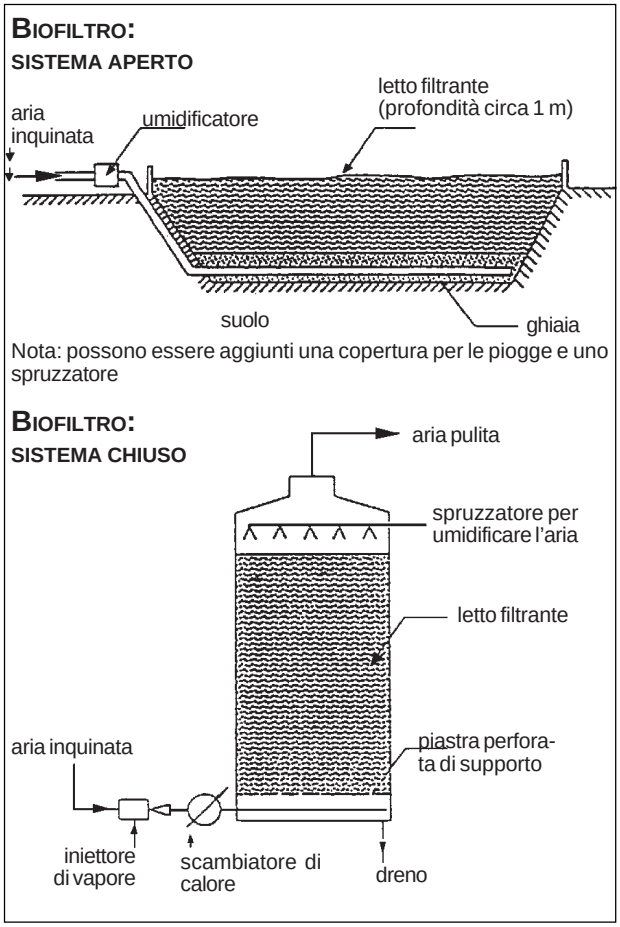


Fig. 3. Sistemi di deumidificazione dell'aria. (da WILLIAMS & MILLER, 1992)

tale da consentire l'ossidazione biologica dei composti odorosi. Indicativamente, sono necessarie almeno 100 parti di ossigeno per ogni parte di gas ossidabile; considerato che le concentrazioni dei composti osmogeni presenti nella miscela gassosa sono piuttosto basse, tale rapporto viene mantenuto facilmente.

La *temperatura* è un fattore di grande importanza per il funzionamento del biofiltro poiché la rimozione delle sostanze odorose richiede un'elevata attività microbica e questa indicativamente raddoppia per ogni dieci gradi di aumento della temperatura. Ne deriva che possono essere richiesti aggiustamenti della temperatura dell'aria influente per assicurare il mantenimento di buone condizioni operative; vengono raccomandate temperature operative comprese fra 10 °C e 40 °C.

Nei biofiltri si può generare calore a causa dell'at-

tività microbica: questo fenomeno può permettere di mantenere un adeguato rendimento di rimozione delle sostanze odorose anche quando la temperatura dell'aria è molto bassa.

La temperatura interna del biofiltro può essere controllata operando una buona umidificazione: durante i periodi più caldi, nei quali si può superare il valore di 40 °C, l'evaporazione dell'acqua consente di abbassare la temperatura poiché smaltisce il calore necessario al cambiamento di stato.

Basando i biofiltri il loro funzionamento sull'attività microbica, è necessario mantenere il *pH* vicino alla neutralità per favorire il massimo trattamento degli odori. Quando viene trattato idrogeno solforato, si produce acido solforico; i biofiltri devono possedere una capacità tampone sufficiente per prevenire l'abbassamento del pH del mezzo. Se si mantiene per un periodo di tempo lungo un alto carico di acido solfidrico, si verificherà comunque un abbassamento del pH; in questo caso è necessario sostituire il riempimento o aggiustarne il pH tramite un apporto d'acqua che, attraversando il letto biologico, asporti l'acido solforico trasferendo l'acidità dal materiale al percolato.

Le *perdite di carico* assumono dimensioni diverse a seconda del materiale usato per il riempimento. La porosità del riempimento può cambiare nel tempo in funzione dei cambiamenti del contenuto di umidità, della degradazione microbica della matrice di supporto e della compattazione del materiale. Le variazioni di porosità sono in grado di influire sulla pressione gassosa richiesta per far passare l'aria da depurare attraverso il filtro; il continuo monitoraggio delle cadute di pressione attraverso il filtro permettono l'individuazione precoce di "cortocircuiti" oppure della compattazione.

L'*altezza del letto filtrante* può variare da meno di 0,5 m fino a 2,5 m; l'altezza di circa 1 m è la più frequente e consente di mantenere un tempo di residenza sufficiente riducendo al minimo lo spazio necessario per l'installazione del biofiltro. Alcuni costruttori raccomandano l'uso di biofiltri multistrato per permettere maggiori portate a parità di area di base; a tale risparmio di superficie aziendale impiegata per l'installazione del biofiltro, però, può corrispondere un minor rendimento determinato dalla canalizzazione dei gas lungo lo spessore del filtro.

I fenomeni di canalizzazione, compattazione, acidificazione possono verificarsi in meno di sei mesi nei biofiltri che trattano composti puri, o possono non verificarsi per anni in altri casi; cautelativamente, è consigliabile progettare il biofiltro in modo tale da permettere il rimescolamento o la sostituzione del materiale più superficiale.

Aspetti microbiologici

Il processo di adesione dei microrganismi ai substrati avviene in tempi brevi ed in ambiente umido essi tendono a colonizzare le superfici formando biocenosi che vengono definite biofilm.

Ogni discontinuità presente in un sistema colonizzato da microrganismi crea una "interfaccia" che può influenzare lo sviluppo della microbiocenosi; le interfacce separano: solidi/liquidi, solidi/gas, liquidi/gas e liquidi/liquidi non miscibili. Ogni fase presenta caratteristiche fisico-chimiche differenti e può costituire un sito di colonizzazione, una sorgente di nutrienti o di sostanze tossiche o una barriera da superare per raggiungere nuovi substrati colonizzabili. A livello dell'interfaccia aria/acqua si forma un microstrato costituito da sostanze nutritive nel quale si accumulano sostanze idrofobiche e agglomerati di detriti di peso specifico molto basso.

Il materiale di riempimento di un biofiltro regolarmente umidificato presenta le caratteristiche illustrate in fig. 4 e deve, di conseguenza, essere considerato come un substrato colonizzabile che si ricopre di un biofilm più o meno distribuito, nel quale la microbiocenosi sarà costituita dalle specie microbiche più adatte allo sviluppo nelle varie condizioni di funzionamento.

Le attività metaboliche dei microrganismi dipendono principalmente dalla possibilità di intrappolare nella matrice polimerica del biofilm sostanze nutrienti solubili ed insolubili che possono essere utilizzate dai microrganismi disposti sulla superficie del materiale di riempimento. La matrice polisaccaridica, a causa della sua viscosità, può intrappolare anche particelle di materiale organico che devono essere progressivamente degradate ad opera degli enzimi batterici. La matrice polisaccaridica che separa la componente cellulare del biofilm stesso dalla fase liquida dell'am-

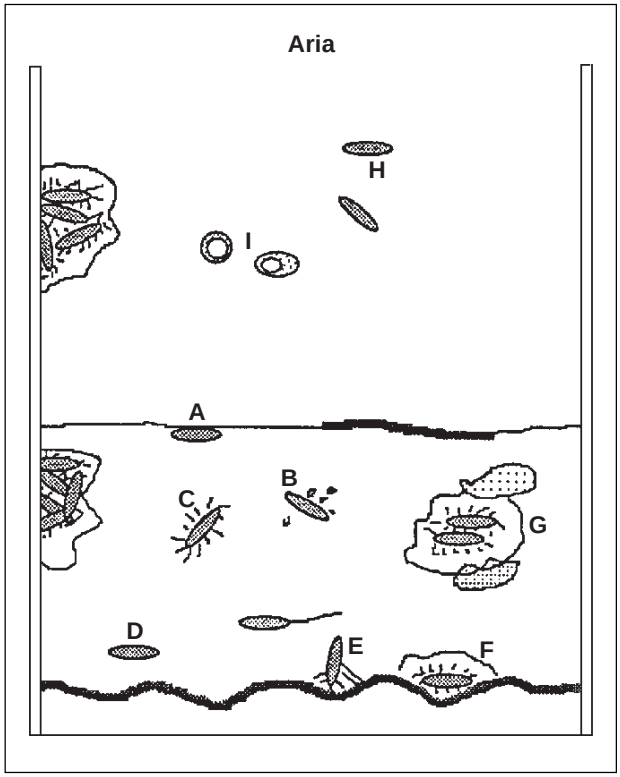


Fig. 4. Sviluppo dei batteri in presenza di differenti tipi di interfaccia. (da DACCARO, 1997).

A: batteri all'interfaccia aria/acqua
B: batteri nella fase acquosa
C: batteri nella fase liquida con glicocalice
D: adesione reversibile
E: adesione reversibile
F: adesione irreversibile
G: microcolonie nella fase acquosa + detriti
H: batteri aerodiffusi
I: spore aerodiffuse

biente esterno svolge, quindi, un ruolo fondamentale per la cattura e l'inglobamento delle sostanze nutritive, per il mantenimento dell'umidità e per la difesa dei microrganismi da situazioni avverse provocate da agenti di varia natura.

I componenti stessi del biofilm, per effetto del loro metabolismo, possono preparare i substrati per una progressiva degradazione operata da più specie microbiche. La presenza di batteri che svolgono il ruolo di produttori di fattori nutritivi favorisce l'aggregarsi attorno ad essi di specie differenti che vengono in questo modo stimolate. In un ambiente nutrizionalmente carente, come quello che si ottiene nei biofiltri, si può verificare il fenomeno del "sintrofismo incrociato", in cui microrganismi differenti dipendono l'uno dall'altro per la produzione di qualche elemento nutritivo essenziale. Il sintrofismo incrociato è una forma di simbiosi mutualistica che rende possibile lo sviluppo di aggregazioni complesse di microrganismi.

Anche la morte dei componenti del biofilm seguita dalla lisi delle cellule rientra nei meccanismi fisiologici di mantenimento in attività del biofilm poiché il materiale cellulare liberato dalla lisi, rimanendo intrappolato nella matrice polimerica, viene riciclato.

Quando la formazione del biofilm avviene su un substrato di natura organica, viene favorito lo sviluppo di specifici batteri che possono digerire il substrato stesso; la colonizzazione primaria produce enzimi che attaccano il substrato insolubile producendo composti solubili che possono stimolare la crescita dei batteri eterotrofi adiacenti.

L'immissione del refluo gassoso nel biofiltro provoca la progressiva selezione di specie batteriche capaci di utilizzare le sostanze inquinanti come fonte di carbonio e di energia. É ovvio che, per poter ottenere una popolazione idonea a degradare efficacemente le sostanze inquinanti, è necessario che il biofiltro venga sottoposto ad un periodo di acclimatazione, normalmente abbastanza breve.

Il funzionamento del biofiltro può essere paragonato alla coltura continua di microrganismi in un chemostato, dove il continuo apporto di sostanze nutritive consente la moltiplicazione delle cellule ad una velocità costante di duplicazione. Nel biofiltro viene assicurato il continuo allontanamento di cellule morte, di terreno nutritivo esausto e di sostanze di rifiuto prodotte dal catabolismo microbico, sostanze che ad alte concentrazioni possono determinare effetti tossici sui microrganismi stessi; tale allontanamento viene garantito attraverso la formazione del percolato, generato dall'innaffiamento del letto filtrante.

La mancata utilizzazione in continuo dell'impianto di biofiltrazione può provocare la morte dei microrganismi che costituiscono la flora attiva del materiale di riempimento. Tuttavia, è prevedibile la sopravvivenza della microbiocenosi durante le pause di funzionamento nel caso in cui il materiale stesso sia in grado di fornire un sufficiente apporto di sostanze nutritive attraverso il rilascio di composti adsorbiti ad esso durante il periodo di utilizzazione a regime.

I microrganismi responsabili della degradazione

degli inquinanti presenti nei reflui gassosi sono i batteri, gli attinomiceti e i funghi. La velocità di degradazione degli inquinanti dipende dalla presenza nel materiale filtrante di microrganismi adatti, le cui attività metaboliche dipendono principalmente dal tipo di materiale di riempimento, dalla disponibilità di nutrienti, dalla presenza di ossigeno disciolto nel biofilm, dall'assenza di sostanze tossiche, da una sufficiente umidità e da convenienti temperatura e pH.

La flora microbica responsabile dell'eliminazione delle sostanze inquinanti aerodisperse può essere classificata nelle seguenti categorie:

- microrganismi chemioautotrofi che, utilizzando la CO_2 come principale fonte di carbonio, possono impiegare come fonti ossidabili di energia composti solforati ridotti (H_2S, S, $S_2O_3^{2-}$); composti azotati ridotti (NH_3, NO_2^-); composti ferrosi oppure H_2.
- microrganismi chemioeterotrofi, che impiegano composti organici come fonte principale di carbonio ed energia.

Alcune specie microbiche sono capaci di passare da un metabolismo di tipo autotrofo ad uno eterotrofo: la loro crescita diventa quindi di tipo mixotrofico, nella quale risultano fattori limitanti di crescita sia un substrato organico, sia una fonte di energia inorganica. Anche substrati inorganici che potrebbero essere degradati ad opera di microrganismi autotrofi, nei biofiltri sono più spesso attaccati ad opera di microrganismi eterotrofi. Sono stati infatti descritti casi in cui il solfuro di idrogeno, uno dei composti maleodoranti più frequentemente presente nei reflui gassosi, può essere degradato ad opera di microrganismi eterotrofi come *Xantomonas*. L'intervento di questi microrganismi risulta essere più vantaggioso rispetto a processi per la rimozione di H_2S basati sull'ossidazione ad opera di tiobacilli o altri solfobatteri, che presentano velocità di crescita più basse rispetto ai microrganismi eterotrofi.

A titolo esemplificativo, vengono riportati i risultati delle analisi microbiologiche effettuate su campioni della miscela torba-erica prelevati dal biofiltro installato presso l'impianto di depurazione di Mortara (PV) e dedicato alla rimozione di composti osmogeni nella stazione di pretrattamento dei reflui provenienti da fosse settiche. Tale biofiltro è costituito da un cilindro di vetroresina di diametro 2,3 m ed altezza 4 m, all'interno del quale è collocato materiale filtrante per 1,5 m d'altezza

Con il biofiltro funzionante a regime e in condizioni di uniforme umidificazione, le determinazioni microbiologiche evidenziano una stratificazione della flora batterica, che raggiunge i valori massimi in superficie e diminuisce progressivamente nei prelievi più vicini alle immissioni del refluo gassoso. Si riscontra la predominanza di microrganismi chemioeterotrofi in tutte le posizioni di prelievo (superficie, media altezza, fondo) con valore di CFU/g pari a $240x10^6$ negli strati più superficiali del biofiltro. I microrganismi copiotrofi sono numericamente meno rappresentati: in superficie, infatti, si riscontra un valore di CFU/g pari a $57 \cdot 10^5$.

I batteri chemioautotrofi sono presenti in numero assai inferiore, con valori negli strati superficiali intorno a 10^3 sia per i batteri ossidanti i solfuri che per i batteri nitrificanti. Il numero di microrganismi chemioautotrofi presenti ai vari livelli nel biofiltro non è tale da giustificarne un ruolo fondamentale ai fini della depurazione del refluo. La velocità di crescita degli autotrofi è significativamente più bassa rispetto a quella degli eterotrofi, di conseguenza la degradazione delle sostanze presenti nel refluo può essere più rapidamente realizzata da batteri con metabolismo eterotrofo.

Il numero di microrganismi presenti nel materiale di riempimento aumenta progressivamente dopo l'immissione del refluo. I valori più elevati di carica batterica si raggiungono durante le fasi di funzionamento a regime nelle quali, in particolare negli strati più lontani dall'immissione del refluo, il ruolo degli oligotrofi appare predominante. In caso di riempimento di ripristino, la torba di più recente immissione risulta essere colonizzata da un numero di microrganismi oligotrofi inferiore rispetto a quello riscontrato nel materiale di riempimento prelevato allo stesso livello, ma in condizioni di funzionamento a regime; ciò dimostra che questi batteri, fondamentali per la formazione del biofilm attivo, necessitano di un periodo di adattamento. I copiotrofi, confermando la loro maggior velocità di riproduzione, assumono invece più rapidamente valori di CFU/g paragonabili a quelli che si riscontrano a regime, e rappresentano una fase precoce nel raggiungimento dell'equilibrio che caratterizzerà la flora microbica definitiva.

Aspetti micologici

In generale si ritiene che la presenza ed il ruolo dei funghi nella depurazione sia di secondaria importanza; nel campo della biofiltrazione dell'aria pare invece che l'abbattimento di alcuni composti –quali ammoniaca, stirene e toluene– vedano il coinvolgimento diretto di alcuni di questi organismi.

I risultati micologici riportati riguardano l'analisi del materiale di torba ed erica costituente il biofiltro già descritto nel paragrafo relativo agli aspetti microbiologici.

In generale, col termine di torba si intende il risultato dell'accumulo di residui di muschi e di vegetali superiori in ambienti con ristagno d'acqua; in tali condizioni questi accumuli vanno incontro ad un processo di lenta carbonizzazione in quanto la carenza di ossigeno ritarda i normali processi di decomposizione. Nelle zone con elevate precipitazioni, i muschi del genere *Sphagnum* si accumulano sul suolo formando dei cuscini dove le parti vive continuano a svilupparsi sulle sottostanti parti morte impregnate d'acqua. La torba presenta una composizione non ben definita che dipende sia dal tipo di vegetazione da cui si origina, sia dalle condizioni che ne hanno regolato la formazione; in essa sono presenti numerosi composti quali cellulose, emicellulose, pectine e carboidrati solubili che possono essere utilizzati dai funghi.

Le ericacee si sviluppano su substrati fortemente acidi come gli ambienti forestali, alpini, subalpini e talvolta palustri grazie alla formazione di un particolare tipo di micorrizia detta, appunto, ericoide; queste associazioni simbiontiche con particolari funghi permettono alle piante di sopravvivere su substrati di difficile sfruttamento, dove solo i funghi possono rimettere in circolo le sostanze nutritive.

I campioni di torba ed erica utilizzati per le indagini micologiche sono stati prelevati a tre diverse altezze del biofiltro: in superficie, a media profondità ed in prossimità dell'immissione dell'aria; è stato inoltre analizzato un campione di materiale vergine.

I taxa fungini individuati sono scarsi e rappresentativi di nove generi: la distribuzione osservata è riportata in tab. IV.

I taxa fungini isolati rientrano fra i funghi più frequentemente presenti nel terreno, in cui operano un'azione geochimica di riciclaggio della sostanza organica. Alcuni generi, inoltre, sono particolarmente frequenti in substrati torbosi o contemplati nell'associazione micorrizica di alcune piante, in particolare dell'erica. *Mucor, Mortierella, Geomyces, Penicillium* e *Oidiodendron* sono i funghi più comunemente riportati in letteratura in ricerche floristiche micologiche della lettiera o del terreno.

Il fatto che questi funghi siano stati isolati da un filtro nella cui composizione entra la torba, fa pensare che essa rappresenti un substrato di facile utilizzazione per la produzione di biomassa fungina. La torba include infatti numerosi composti che possono essere utilizzati dai funghi; la flora fungina del biofiltro contiene in abbondanza alcuni *Penicillium* che, acidi-

Tab. 4. Funghi isolati dal materiale vergine e dal biofiltro in attività. (da BENEDUSI *et al.*, 1993).

	materiale vergine		umidità irregolare		umidità regolare			
Taxa fungini	torba	erica	materiale in superf.	materiale a 25 cm	mat. recente in superf.	materiale in superf.	materiale a 20 cm	materiale a 40 cm
Drechslera australiensis Bugn.					+	+++	+	+
Geomyces pannorum var. *pannorum* Link	+++	+				+	+	
Mortierella bainieri Cost.					+++	+++	+	+
Mucor sp.				+				
Oidiodendron griseum Robak	+	+						
Penicillium citrinum Thom	+++	+						
Penicillium frequentans Westling	+++	+						
Pestaliotiopsis guepinii Desm.		+						
Trichoderma koningii		+	+++	+				
Trichotecium roseum Pers.								+

+ presente ++ frequente +++ molto frequente

ficando il substrato, potrebbero liberare o favorire l'utilizzazione di più fonti organiche, o inibirne l'utilizzazione da parte di alcuni batteri. L'isolamento dal biofiltro di *Geomyces pannorum var. pannorum* e di *Oidiodendron griseum* potrebbe essere correlato all'utilizzo dell'erica, alle radici della quale questi funghi sono associati; la presenza dei generi tellurici *Mortierella* e *Trichoderma* potrebbe essere legata all'uso della torba.

In natura i funghi entrano in molte trasformazioni biogeochimiche, tuttavia è difficile stabilire la loro importanza rispetto ai batteri nel mediare tali reazioni o nell'inibire alcune attività batteriche. Essi svolgono un ruolo importante nella degradazione dell'azoto organico, dello zolfo e del potassio nel terreno. In particolare, recenti studi hanno evidenziato l'importanza dell'azione di lieviti e di funghi filamentosi nel processo di ossidazione dello zolfo nel suolo; il processo biochimico della solfo ossidazione fungina non è ancora ben noto ma si ritiene che sia di tipo enzimatico.

L'abbattimento di sostanze osmogene ad opera del biofiltro potrebbe essere pertanto dovuto alla presenza di organismi eterotrofi (funghi e batteri) in grado di biodegradare composti organici e svolgere, inoltre, l'importante funzione di solfo-ossidazione. Questa funzione è normalmente svolta in natura dai taxa fungini isolati, la cui presenza non è occasionale ma dovuta al fatto di essere associati come simbionti o saprotrofi rispettivamente all'erica e alla torba.

Bibliografia di riferimento

ALFANI F., CANTARELLA L., GALLIFUOCO A., CANTARELLA M. - 1990. Rimozione di inquinanti gassosi per via biologica. *Acqua-Aria*, **10**: 877-884.

ANDREOTTOLA G., RIGANTI V. - 1997. Gli odori e le sostanze odorigene. Atti del Seminario di studio: "Il contenimento degli odori negli impianti di trattamento di acque e rifiuti". Università degli Studi di Pavia.

BENEDUSI L., CARETTA G., COLLIVIGNARELLI C., DACARRO C, DEL FRATE G., RIGANTI V. - 1993. Esperienza di rimozione di odori da impianti di depurazione tramite biofiltrazione. *Ingegneria Ambientale*, **XXII** (5): 271-284.

CARETTA G., DELFRATE G. - 1997. Il caso dell'impianto di depurazione di Mortara: un esempio di approccio metodologico. Monitoraggio dell'impianto: aspetti micologici. Atti del Seminario di studio: "Il contenimento degli odori negli impianti di trattamento di acque e rifiuti". Università degli Studi di Pavia.

DACCARO C. - 1997. Il caso dell'impianto di depurazione di Mortara: un esempio di approccio metodologico. Monitoraggio dell'impianto: aspetti microbiologici. Atti del Seminario di studio: "Il contenimento degli odori negli impianti di trattamento di acque e rifiuti". Università degli Studi di Pavia.

KIRCHNER K. - 1990. Biological purification of exhaust air. *Chimicaoggi*, **3**: 51-55.

LESON G., WINER A. - 1991. Biofiltration: an innovative Air Pollution Control Technology For VOC Emissions. *J. Air Waste Manage. Assoc*., **41**: 1045-1054.

OTTENGRAF S.P. & VAN DEN OEVER - 1983. Kinetics of Organic Compound Removal from Waste Gases with a Biological Filter. *Biotechnology ahd Bioengineering*, **XXV**: 3089-3102.

STUDIES IN ENVIRONMENTAL SCIENCES 51. Biotechniques for air pollution abatement and odour control policies. A.J. Dragt and J. van Ham (Editors), Elsevier Publisher, 1992.

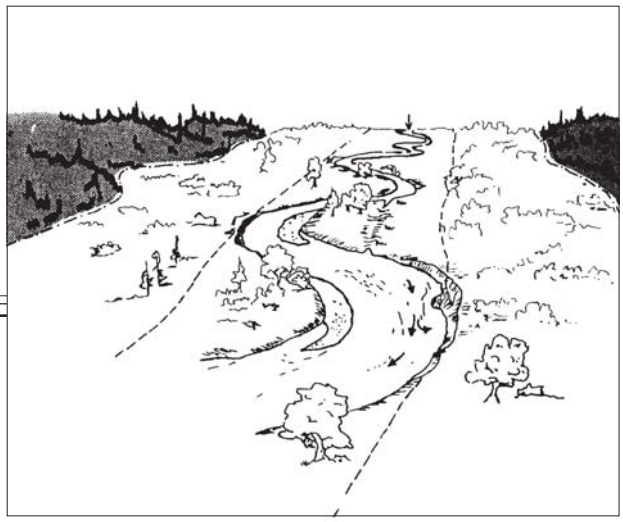
VEREIN DEUTSCHER INGENIEURE. Biologische Abgas-/Abluftreinigung. Biofilter. VDI 3477, 1991

WILLIAMS T.O. & MILLER F.C. - 1992. Odor Control using biofilters. *BioCycle*, **7**: 72-77.

WILLIAMS T.O. & MILLER F.C. - 1992. Biofilters and facility operations. *BioCycle*, **11**: 75-79.

I.P.S. - 1990. Odor control. Completing the composting process. *International Process Systems, Inc.*, USA.

RINATURAZIONE



Dopo le Regioni Emilia-Romagna, Veneto, Piemonte, Liguria, anche la Regione Toscana ha emanato direttive volte ad evitare che gli interventi per la difesa idrogeologica si traducano in un danno ecologico. Pur trattandosi ancora di piccoli passi, sono chiari segnali della maturazione di orientamenti culturali e operativi alla quale anche il nostro bollettino apporta da anni il suo contributo.

TEMPI DURI PER I CEMENTIFICATORI DEI FIUMI

REGIONE TOSCANA
Direttive sui criteri progettuali per l'attuazione degli interventi in materia di difesa idrogeologica
(Delibera del Consiglio Regionale n. 155 del 20 Maggio 1997)

1. Premessa

La presente direttiva stabilisce concetti e principi vincolanti ai quali devono attenersi gli uffici regionali che operano in materia di difesa del suolo, nonché gli altri Enti eventualmente concessionari per la realizzazione di interventi nel settore nelle diverse fasi della programmazione, progettazione, approvazione ed esecuzione delle opere di competenza della Regione Toscana.

Essa stabilisce altresì un preciso riferimento per la valutazione delle opere della difesa del suolo da eseguirsi a cura di altri soggetti, pubblici o privati, e per il rilascio di autorizzazioni e nulla-osta di competenza regionale, quando previsto dalle leggi vigenti, con particolare riferimento alle norme di polizia idraulica di cui agli articoli 93 e seguenti del Testo Unico sulle opere idrauliche n. 523/1904.

Gli interventi in materia di difesa del suolo devono essere progettati e realizzati anche in funzione della salvaguardia dell'ambiente in tutti i suoi aspetti.

Compatibilmente con la sicurezza e l'efficacia richieste, le opere da realizzare dovranno essere tali da non compromettere l'ambiente biologico in cui sono inserite e dovranno rispettare i valori paesistici dell'ambiente medesimo.

Nel momento della progettazione preliminare, dovranno essere esaminate le diverse soluzioni possibili tenendo conto, nella valutazione costi-benefici, anche dei costi e dei benefici di tipo ambientale, ed optando per la soluzione che realizza il miglior grado di integrazione tra i diversi obiettivi.

2. Tipologie di intervento

Le tipologie utilizzate per la realizzazione di opere pubbliche in materia di difesa del suolo devono corrispondere a criteri tali a minimizzare 1'impatto ambientale; si raccomanda quindi ogni qualvolta risulti possibile compatibilmente con le esigenze di sicurezza, l'utilizzo di tecniche di ingegneria naturalistica.

Pertanto, nella scelta di tipologie di intervento, si adotteranno preferibilmente i seguenti criteri, anche opportunamente combinati fra di loro:

a) strutture di sostegno

Le strutture di sostegno delle terre dovranno essere realizzate con tipologie costituite da:

- palificate in legname, con inserimento di talee o fascine;
- grate vive;
- gradonate orizzontali vive;
- terre rinforzate rinverdite;
- gabbionate metalliche con innesto di talee;
- muri in pietrame possibilmente rinverditi.

Eventuali strutture in cemento armato saranno ammesse solo in situazioni particolari ove altre soluzioni risultino impossibili da realizzare, ovvero nel caso in cui le condizioni fisiche siano tali da richiedere la scelta di tale tipo di materiale quale unica soluzione; sarà comunque da prevedere l'inserimento di vaschette e cavità ove inserire piantumazioni erbacee o di piante rampicanti.

b) scarpate

Le scarpate dovranno essere protette con:

- inerbimento (a secco, idrosemina, coltre protettiva, tappeti erbosi);
- messa a dimora di specie arbustive o arboree;
- gradonate con talee e/o piantine;
- cordonata;
- viminata o graticciata;
- fascinata;
- copertura diffusa con astoni;
- sistemazioni con reti o stuoie in materiale biodegradabile;
- grata viva
- altre tecniche similari.

Qualora le suddette tecniche non fossero utilizzabili, si potranno prendere in considerazione sistemazioni con griglie, reti o tessuti in materiale sintetico (a funzione antierosiva o di sostegno) opportunamente rinverdite.

c) Protezioni spondali

Le protezioni spondali dovranno essere realizzate con:

- copertura diffusa con astoni o ramaglia di salice;
- gabbionate con talee;
- pietrame rinverdito;
- palificate in legno e ramaglie;
- terre rinforzate rinverdite.

d) Opere trasversali

Le opere trasversali dovranno essere realizzate con:

- rampe in pietrame;
- briglie in legname;
- briglie in legname e pietrame;
- pennelli in pietrame con talee.

3. Consolidamento versanti e scarpate

Nella realizzazione di opere di consolidamento dei versanti e delle scarpate, si dovrà sempre verificare la possibilità di utilizzare metodi basati sui principi dell'ingegneria naturalistica; tali tecniche dovranno essere adottate in sostituzione dei metodi più tradizionali e di maggior impatto ambientale, ogni qual volta presentino la medesima efficacia nel raggiungimento di quegli obiettivi di sicurezza che rendono necessario l'intervento.

Le tecniche dell'ingegneria naturalistica saranno anche utilizzate per garantire una maggior durata e protezione delle opere di consolidamento tradizionali di versanti e scarpate, contribuendo anche nella loro mascheratura quando queste siano particolarmente visibili ed inserite in un contesto paesaggistico da tutelare.

Gli interventi di consolidamento debbono prima di tutto tendere ad eliminare le cause dei dissesti.

L'analisi dell'area suscettibile di intervento dovrà essere estesa anche alle zone a margine di quelle dissestate, allo scopo di prevenire altri potenziali possibili dissesti che, a medio-lungo termine, potrebbero interessare la zona oggetto dell'intervento principale.

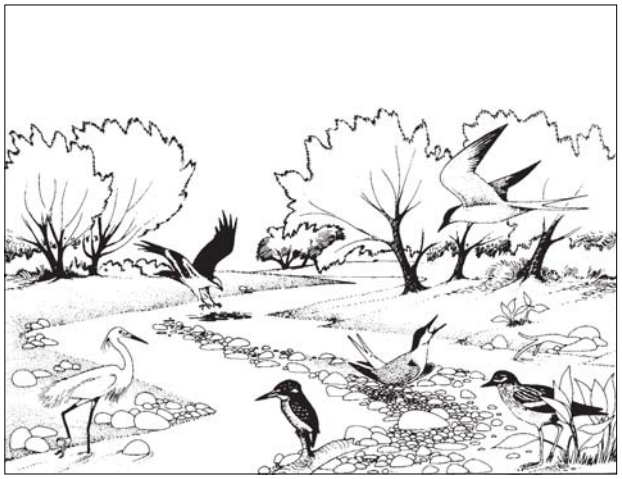
In tutti i casi in cui siano previsti movimenti di terreno per la realizzazione di un intervento si richiede che siano previste, già in fase progettuale di intervento, le risistemazioni a verde delle aree coinvolte mediante semina e messa a dimora di essenze vegetali autoctone e legate al paesaggio circostante.

4. Sistemazioni fluviali e opere idrauliche

4.1 MANUTENZIONE DELLA VEGETAZIONE

Verificatane la compatibilità idraulica, nella progettazione degli interventi dovrà assumersi quale aspetto vincolante la conservazione delle caratteristiche di naturalità dell'alveo fluviale, degli ecosistemi e delle fasce verdi ripariali, il rispetto delle aree di naturale espansione e relative zone umide collegate.

Le associazioni vegetali ripariali, oltre a costituire un importante valore ecologico e fungere da agenti di una notevole attività di depurazione delle acque, possono essere considerate come la più naturale delle difese idrauliche, efficaci per la limitazione dell'erosione e per il rallentamento della corrente nelle zone d'alveo non soggette ad invaso permanente purché compatibile con il



livello di massima piena.

Risulta quindi la necessità di mantenere al di fuori dell'alveo normalmente attivo la vegetazione esistente, limitando gli abbattimenti ad esemplari ad alto fusto morti, pericolanti, debolmente radicati, che potrebbero costituire un potenziale pericolo in quanto facilmente scalzabili e asportabili in caso di piena. La necessità di abbattere le piante di maggior diametro deve essere valutata nelle diverse zone dell'intervento, in funzione delle sezioni idrauliche disponibili, sulla base di opportune verifiche documentate nel progetto, che facciano riferimento a precise condizioni di piena con prefissati tempi di ritorno al fine di garantire il buon regime delle acque.

Le devegetazioni spinte vanno evitate, mentre deve essere avviata una manutenzione regolare del corso d'acqua che preveda in generale un trattamento della vegetazione esistente allo scopo di renderla non pericolosa dal punto di vista della sicurezza idraulica; ciò si ottiene di norma con tagli selettivi e diradamenti mirati, mantenendo le associazioni vegetali in condizioni "giovanili", con massima tendenza alla flessibilità ed alla resistenza alle sollecitazioni della corrente, limitando in sintesi la crescita di tronchi con diametro rilevante e favorendo invece le formazioni arbustive a macchia irregolare.

I tagli di vegetazione in alveo devono essere effettuati preferibilmente nel periodo tardo-autunnale ed invernale, escludendo tassativamente il periodo marzo-giugno in cui è massimo il danno all'avifauna nidificante .

Per una corretta gestione idraulica ed ambientale, particolare importanza è attribuita alle zone di naturale espansione delle acque. A questo proposito, si può evidenziare che:

- nelle zone di espansione del medio corso, le specie arboree non riducono in modo significativo la capacità d'invaso mentre, rallentando la velocità della corrente, favoriscono la difesa delle sponde dall'erosione e la ricarica degli acquiferi sotterranei, esercitando anche attività di depurazione delle acque;
- nelle zone golenali del basso corso, le alberature non riducono significativamente nè la capacità d'invaso né il deflusso, ed ancora meno nei tratti posti in prossimità della foce, dove è determinante l'influenza delle maree; anche in questo tratto la componente vegetale svolge le importanti funzioni sopra ricordate.

Quindi per le zone di espansione naturale dove la vegetazione arborea non risulta essere un ostacolo all'invaso, si devono mantenere forme di bosco igrofilo "maturo", con riflessi fortemente positivi per il rallentamento del deflusso idrico, nonché per le notevoli implicazioni ecologiche e paesaggistiche; sono soprattutto queste zone a richiedere il mantenimento o la ricostituzione di ecosistemi vicini alla naturalità, escludendo le coperture a verde a "soli fini estetici".

4.2 Opere trasversali: briglie, soglie

Le opere trasversali costituiscono normalmente un ostacolo insormontabile per la fauna acquatica, interrompendo sia il percorso fisico, sia i flussi energetici all'interno dell'ecosistema fluviale; inoltre, per minimizzare l'impatto ambientale, è necessario garantire una certa continuità nella morfologia dell'alveo (attraverso il mantenimento o la nuova creazione di sequenze *riffle* e *pool*), oltre ad una sufficiente portata e qualità dell'acqua.

In ogni situazione in cui risulti tecnicamente possibile, tenuto conto della pendenza dell'alveo e del dislivello da superare, in luogo della costruzione di manufatti di tipo tradizionale (briglie e traverse) in calcestruzzo o in gabbioni, si dovrà prevedere la realizzazione di una o più rampe in pietrame, di caratteristiche idonee per consentire anche la risalita della fauna ittica.

Qualora la pendenza non consentisse la costruzione di rampe in pietrame, le briglie, preferibilmente in legname e pietrame, dovranno essere dotate di scale di risalita per i pesci, quando ubicate in tratti di corso d'acqua di interesse per la fauna ittica (sentito il parere del competente Servizio dell'Amministrazione Provinciale) o privo di sbarramenti trasversali per una lunghezza significativa.

Nel caso della realizzazione di manufatti in calcestruzzo, si dovrà prevedere anche, al fine di un migliore impatto visivo, una copertura a verde e/o il rivestimento delle pareti con conci di pietra naturale. Tale rivestimento si rende obbligatorio nelle aree di particolare interesse paesaggistico, quali parchi, riserve naturali aree tutelate ecc.

4.3 OPERE LONGITUDINALI: DIFESE SPONDALI.

L'impiego delle tecniche dell'ingegneria naturalistica per opere di difesa spondale (difese radenti e pennelli) è di norma obbligatorio nelle aste fluviali classificate di 3°, 4° e 5° categoria ed in quelle non classificate ai sensi del R.D. 25 luglio 1904, n. 523.

Nelle aste fluviali arginate di 2° categoria, l'utilizzo di tali metodologie di intervento e di manutenzione è obbligatorio quando risulti compatibile con le esigenze di sicurezza idraulica, con particolare attenzione nelle aree di rilievo ambientale e/o paesaggistico sopra descritte.

5. Interventi di ripristino del cantiere

Qualunque sia la tipologia delle opere realizzate, si rende obbligatoria la risistemazione dell'area interessata dal cantiere, al fine di minimizzare lo stravolgimento dell'ecosistema e del paesaggio, con il rinverdimento mediante la piantumazione di specie autoctone e, all'occorrenza, anche con movimento di terra che ricostituisca lo stato preesistente, prima di procedere al rinverdimento.

Detti interventi dovranno essere specificatamente indicati all'interno del progetto.

6. Interventi di manutenzione.

Qualora si debbano realizzare interventi di manutenzione delle opere esistenti si dovrà ricercare, per quanto possibile, di sostituire o integrare i manufatti tradizionali con quelli che rispondono ai criteri dell'ingegneria naturalistica sopra richiamati, garantendo anche la minimizzazione dell'impatto attraverso opportuni interventi di mitigazione da valutare caso per caso.

Interventi di parziale ricostruzione o ampliamento di manufatti in muratura di pietrame o laterizio dovranno sempre essere realizzati adottando per le superfici a vista di nuova esecuzione, materiali analoghi a quelli preesistenti.

7. Opere non ammissibili

Dovrà di norma essere evitata la realizzazione di interventi che prevedono:

- manufatti in calcestruzzo (muri di sostegno, briglie, traverse), se non adiacenti ad opere d'arte e comunque minimizzandone l'impatto visivo;
- scogliere in pietrame o gabbionate non rinverdite;
- rivestimenti di alvei e di sponde fluviali in calcestruzzo;
- tombamenti di corsi d'acqua;
- rettificazioni e modifiche dei tracciati naturali dei corsi d'acqua;
- eliminazione completa della vegetazione riparia arbustiva e arborea.

Qualora si verifichino situazioni particolari per la tutela della pubblica incolumità e sicurezza si potrà fare ricorso a queste tipologie di intervento. Tali situazioni dovranno comunque essere adeguatamente motivate e documentate in fase progettuale.

Sono consentite le opere completamente interrate (drenaggi di vario genere, diaframmi, pali di fondazione, ecc.) che non interferiscano negativamente con le dinamiche degli acquiferi sotterranei e che non alterino significativamente l'assetto morfologico-vegetazionale dei luoghi a lavoro ultimato.

Naturopa

Naturopa, rivista illustrata del Centre Naturopa del Consiglio d'Europa.
Direttore responsabile: Hayo H. Hoekstra.
Ogni informazione su *Naturopa* e sul Centre Naturopa può essere richiesta al Centro o alle agenzie nazionali:
- Centre Naturopa, Conseil de l'Europe, BP 431 R6 F-67006 Strasbourg Cedex
- Dr.ssa E. Mammone, Ministero dell'Agricoltura, Ufficio Relazioni Internazionali, via XX settembre, 18 - 00187 Roma.

Articolo tratto da *NATUROPA*, n° 79, 1995
Ed. Centro europeo per la conservazione della natura
Consiglio d'Europa, Strasbourg.

FORMAZIONE ALLA TORRE DEL VALAT

Situata nel cuore della Camargue, in Francia, la Torre del Valat è stata creata nel 1954 da Luc Hoffmann; essa ha come scopo quello di contribuire alla salvaguardia delle zone umide del bacino mediterraneo.

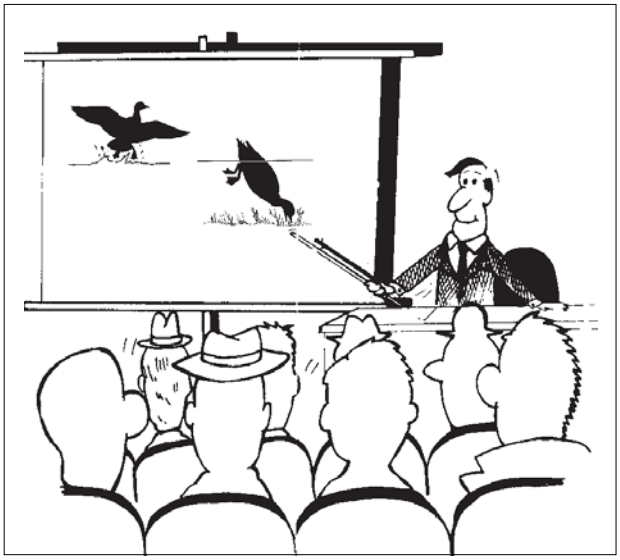
Lo studio del funzionamento di questi ecosistemi costituisce quindi il tema centrale delle ricerche operative sviluppate dalla Torre del Valat; i risultati vengono utilizzati per elaborare metodi di gestione che permettano lo sviluppo durevole di questi ambienti. La Stazione comunica i dati scientifici ai gestori delle zone umide ed agli imprenditori; essa è gestita dalla Fondazione Sansouïre, fondazione senza scopo di lucro riconosciuta di pubblica utilità dal 1978 come centro di formazione professionale.

Identità propria e rete internazionale

L'offerta di formazione della Torre del Valat si fonda sia sulle risorse proprie (40 anni di ricerche sul funzionamento delle zone umide e gestione di 3500 ettari di zone umide in Camargue), sia sulla rete internazionale di partnership (spazi naturali, istituzioni di formazione universitaria o professionale).

La Torre del Valat dispone di un gruppo permanente di esperti specializzati nella formazione, e capace di intervenire su quattro livelli:

- diagnosi dei bisogni di formazione, di concerto con la struttura interessata;
- elaborazione di piani di formazione;



- elaborazione dei contenuti della formazione e gestione del coordinamento tra struttura committente ed operatori;
- concezione-realizzazione-valutazione delle azioni di formazione (corsi, tirocini, viaggi di studio, accompagnamento di progetti...).

Verso una gestione integrata

Tale professionalità è necessaria all'insieme delle competenze che devono essere applicate nella gestione integrata di una zona umida e del suo bacino (gestione del patrimonio naturale e gestione delle attività umane).

L'esperienza acquisita nel campo della formazione permette alla Torre del Valat sia di proporre direttamente azioni di formazione, sia di assistere i partner locali nell'approccio formativo (formazione di responsabili di formazione e di formatori).

Formazione professionale

Il ciclo di formazione professionale per i gestori di zone umide comprende tre fasi di una settimana dedicate alla metodologia dei piani di gestione, alla gestione della vegetazione delle zone umide mediterranee e, infine, alla concertazione con i partner della gestione di uno spazio verde; questo ciclo è stato realizzato in francese e in inglese.

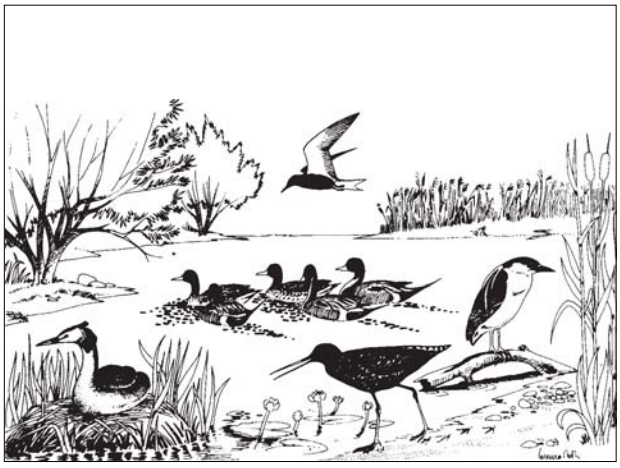
Oltre a svolgere in proprio la formazione, la Torre del Valat può aiutare i suoi partner ad adattare il contenuto di una formazione al proprio contesto: per esempio, questa azione è in corso con il Ministero dell'Ambiente della Catalogna che realizzerà quest'autunno una formazione sui "piani di gestione" destinata ai gestori delle zone umide protette dell'Arco mediterraneo occidentale.

Zone umide mediterranee

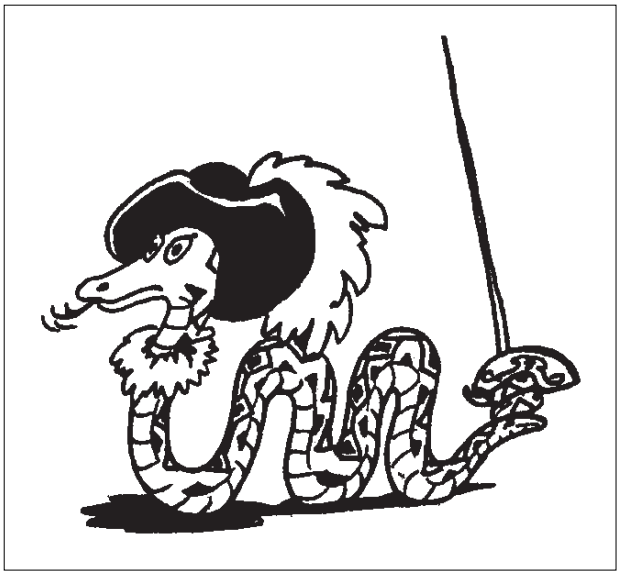
Nel quadro del programma MedWest per la conservazione delle zone umide mediterranee, il gruppo di formazione della Torre del Valat ha sviluppato anche una metodologia per l'elaborazione di azioni di formazione orientate specificamente sulla gestione di un territorio. Corsi di formazione di supporto alla creazione ed alla realizzazione di progetti di gestione integrata sono stati così realizzati per vari siti in Francia, in Italia e in Grecia.

La Torre del Valat collabora inoltre con altri organismi di formazione [per esempio con la Scuola nazionale del genio rurale, delle acque e delle foreste (ENGREF) o il Centro nazionale della pubblica amministrazione territoriale (CNPTF) in Francia o con il Centro di attività regionali/Aree specialmente protette (CAR/ASP) a Tunisi, ecc...] e contribuisce in questo modo alla formazione dei gestori e dei quadri delle amministrazioni centrali, regionali e locali.

Pierre de Rancourt
Stazione Biologica della Torre del Valat
Le Sambuc. F - 13200 Arles



Articolo tratto da *NATUROPA*, n° 79, 1995
Ed. Centro europeo per la conservazione della natura
Consiglio d'Europa, Strasbourg.



PROTEZIONE DELL'ERPETOFAUNA

Sono passati più di venti anni da quando René Honegger elaborò la lista degli "Anfibi e Rettili minacciati in Europa", pubblicata dal Consiglio d'Europa nella raccolta Salvaguardia della Natura (n. 15). Poco dopo nacque una delle pietre miliari della conservazione: la Convenzione di Berna.

Nella stessa epoca la SEH fu invitata ad esaminare, in collaborazione con il Consiglio d'Europa, le eventuali soluzioni per la conservazione di questi animali particolarmente vulnerabili. Ciò convinse la SEH della necessità di creare il "Comitato della conservazione", gruppo di lavoro che da allora ha sempre cercato di mantenere i legami originali con Strasburgo.

Azione scientifica

La SEH pubblica una rivista molto apprezzata (*Amphibia Reptilia*) e ospita ogni due anni un congresso scientifico: queste sono due testimonianze del prestigio di cui la società gode. Contrariamente ad altre società erpetologiche nazionali o regionali del vecchio e del nuovo mondo, la SEH non domestica né commercia queste specie, ritenendo che spesso la passione per l'erpetologia popolare ostacoli gli sforzi di conservazione.

A grandi linee, gli obiettivi della SEH sono quelli di identificare le unità tassonomiche, gli habitat e i siti prioritari; colmare lacune importanti nell'inventario delle specie e delle conoscenze ecologiche; valutare i problemi di conservazione nelle varie situazioni e proporre misure adatte; continuare a formulare raccomandazioni ed a controllare la loro applicazione, in particolare grazie alle riunioni del Comitato permanente e del gruppo di esperti della Convenzione di Berna.

Tecniche di valutazione degli habitat

Siamo abbastanza orgogliosi della nostra tecnica di valutazione degli habitat, tecnica che abbiamo potuto applicare in varie situazioni definite prioritarie in occasione di ricerche sul terreno. Questa procedura comprende necessariamente lo studio delle altre specie animali e vegetali, della situazione pregressa dell'unità tassonomica minacciata e del suo habitat come pure l'analisi concreta delle minacce effettive o potenziali.

Non nascondiamo il fatto che le nostre conclusioni non sempre sono state favorevolmente accolte e accettate immediatamente dalle Autorità interessate, come viene dimostrato dall'esempio degli aliti di Maiorca (*Alytes muletensis*): lo studio ha permesso di scoprire che questo rettile relitto sopravviveva nelle anfrattuosità delle rocce, nei torrenti d'inverno e nelle pozzanghere d'estate, in alcune gole strette tra pareti di calcare molto ripide che costituivano il suo ultimo rifugio.

Anche contando tutti gli habitat terrestri vicini, la sua area di distribuzione conosciuta copriva appena qualche ettaro in tutto. Potete immaginare, quindi, con quale scetticismo le Autorità abbiano accolto la nostra proposta di creazione nella regione di una riserva

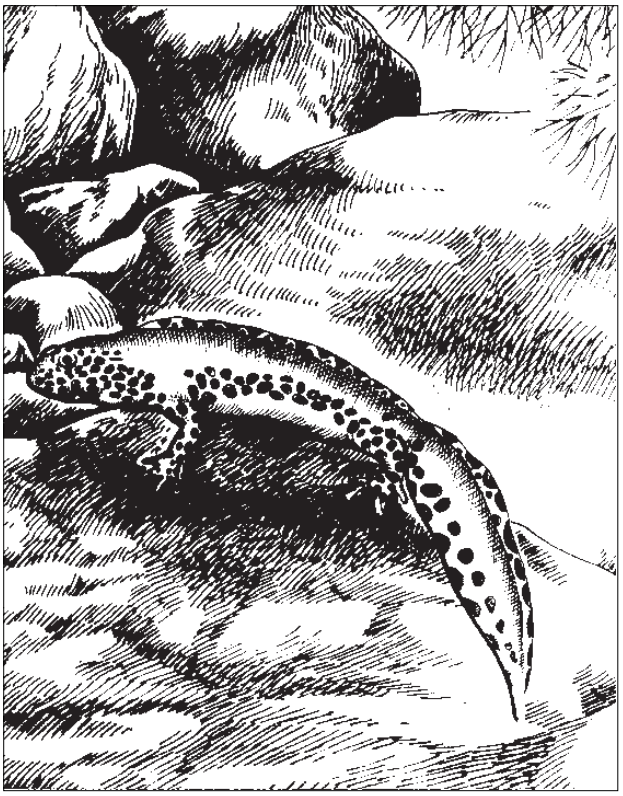
biogenetica di 40.000 ettari!

Nella nostra proposta avevamo tenuto conto della necessità di proteggere l'area di alimentazione idrica, area sottoposta a pressioni crescenti determinate da dighe e prelievi destinati a soddisfare i bisogni dello sviluppo turistico e, in misura più limitata, dei frutteti dell'altipiano dove si trovano le sorgenti, con i rischi supplementari di inquinamento risultanti da quest'attività. Siamo felici di annunciare che è stata creata una riserva centrale su una superficie di 8.000 ettari.

Raccomandazioni nel quadro della Convenzione di Berna

Buona parte dei risultati dei nostri lavori sono stati pubblicati dal Consiglio d'Europa. La prima serie di queste relazioni, elaborata verso la metà degli anni '80, comprendeva monografie dedicate alla conservazione delle unità tassonomiche più minacciate. Su questa base sono state adottate raccomandazioni dagli Stati che hanno ratificato la Convenzione di Berna.

Le relazioni successive riguardavano i rettili minacciati in Europa occidentale e gli anfibi minacciati in Europa occidentale.



Anche questi documenti sono stati all'origine dell'adozione ufficiale delle Raccomandazioni globali n. 26 e 27 (1991), che riguardano non meno di 101 elementi relativi a 19 paesi e 47 unità tassonomiche minacciate di estinzione (41 specie). Finora l'applicazione di queste raccomandazioni è progredita in maniera soddisfacente, anche se si sono dovute definire nuove priorità per facilitarne l'esame da parte del Comitato permanente.

La nostra ultima relazione sugli anfibi e sui rettili minacciati in Europa orientale comprende 20 unità tassonomiche supplementari, distribuite in 17 nuovi paesi.

Non è ancora stato possibile tradurre queste necessità di conservazione in misure concrete con raccomandazioni della Convenzione di Berna sia perché finora solo pochi paesi hanno ratificato la Convenzione sia perché i conflitti nella ex-Jugoslavia e nel Caucaso escludono ogni preoccupazione per la preservazione della natura.

Forse si può ritenere che la conservazione di 67 unità tassonomiche rappresenti un obiettivo troppo ambizioso. Tuttavia, oggi sappiamo che la zona biogeografica europea ospita complessivamente 277 specie erpetologiche (74 anfibi e 203 rettili), gruppo giustamente considerato particolarmente vulnerabile alla trasformazione degli habitat, soprattutto in relazione alla velocità tecnologica di oggi. Il problema deriva dalle abitudini relativamente sedentarie di questi animali, dalla ristrettezza dei loro rispettivi territori, dalla loro capacità di colonizzazione particolarmente debole e, infine, dalla mancanza dell'istinto e di possibilità di fuggire in caso di scomparsa o di modifica sfavorevole del loro habitat.

Erpetofauna minacciata

Se dovessimo effettuare una selezione delle specie erpetologiche più minacciate d'Europa, i cheloni sarebbero al primo posto della lista: la testuggine comune (*Testudo hermanni*) in Francia e in Italia; la tartaruga marina (*Caretta caretta*); la tartaruga verde (*Chelonia mydas*) e la tartaruga dal carapace molle (*Trionyx triungui*), tutte e due praticamente scomparse nel Mediterraneo.

Per quanto riguarda gli anfibi, la salamandra sarda (*Euproctus platycephalus*), la salamandra nera

(*Salamandra* (*atra*) *aurorae*), l'alite di Maiorca (*Alytes muletensis*) e il proteo (*Proteus anguinus*) figurerebbero ad un buon posto, come pure rettili come il ramarro di Hierro (*Gallotia simonyi*), le natrici di Cetti (*Natrix* (*n*) *cetti*) e di Milo (*Natrix* (*n*) *schweizeri*), la natrice megalocefala (*Natrix megalocephala*), le vipere del Caucaso (*Vipera kaznakovi*), delle Cicladi (*Vipera schweizeri*), d'Orsini (*Vipera* (*ursinii*) *rakosiensis*) e di Wagner (*Vipera wagneri*).

Tuttavia, anche se queste specie rappresentano unità tassonomiche minacciate nell'insieme dell'area di distribuzione in Europa - o forse addirittura in tutto il mondo - non dobbiamo trascurare specie altrettanto interessanti in rarefazione su buona parte dell'area di distribuzione europea. Citamo: il tritone crestato (*Triturus cristatus*), la raganella (*Hyla arborea*), il rospo calamita (*Bufo calamita*) e il rospo smeraldino (*Bufo viridis*), la testuggine d'acqua (*Emys orbicularis*) e la lucertola degli arbusti (*Lacerta agilis*).

Riserva-collezione

Un'altra parte del nostro lavoro è stata quella di ricercare zone di notevole diversità erpetologica: abbiamo utilizzato per queste zone l'espressione "riserva-collezione", che oggi si integrerebbe perfettamente negli studi sulla protezione della diversità biologica in Europa.

Ciò ci spinge a sottolineare quanto sia urgente unire gli sforzi avviati un po' dappertutto nel campo della conservazione della vita selvatica in Europa. Mentre la SEH cerca di identificare delle "IHA" (siti e zone chiave per l'erpetofauna), PLANTLIFE elenca attualmente delle "IPA" (zone floristiche importanti), BIRDLIFE INTERNATIONAL ha già definito delle "IBA" (zone ornitologiche importanti) e, indubbiamente, gli specialisti degli invertebrati della Convenzione di Berna sono in grado di fornire delle "IIA" (zone importanti per gli invertebrati).

I primi confronti evidenziano che esistono punti comuni tra gli obiettivi di queste discipline, anche se sembrano molto diverse a prima vista; riteniamo che Strasburgo sia il posto ideale per il coordinamento dell'inventario e per la preservazione di questa diversità effettivamente internazionale.

Programma per il futuro

Per quanto riguarda il futuro immediato, la SEH ha l'intenzione di pubblicare un atlante europeo della distribuzione dell'erpetofauna. La nostra attività nel campo della conservazione sarà guidata dal nostro ruolo quale Gruppo dell'erpetofauna europea della Commissione per la conservazione delle specie dell'UICN, nel quadro di un piano d'azione che ci siamo impegnati ad elaborare con altri esperti.

A parer nostro è fondamentale per la conservazione, o perfino per la sopravvivenza, di varie specie europee che la Convenzione di Berna continui a svolgere un ruolo attivo.

Essa è stata l'unica a segnare la giusta via, difendendo il doppio approccio secondo cui è necessario conservare non solo habitat botanici particolari, ma anche gli habitat delle specie minacciate. Senza una strategia integrata, la vita selvatica d'Europa si impoverirebbe inevitabilmente. Ecco perché la SEH continuerà ad adoperarsi in seno al Comitato permanente della Convenzione di Berna ed a contribuire attivamente per far progredire l'applicazione delle sue importanti raccomandazioni.

Keith Corbett
Presidente del Comitato della conservazione della SEH Herpetological Conservation trust
655a Christchurch Road, Boscombe GB - Bournemouth Dorset BH1 4 AP

Articolo tratto da *NATUROPA*, n° 79, 1995
Ed. Centro europeo per la conservazione della natura
Consiglio d'Europa, Strasbourg.

WWF INTERNATIONAL NEL MEDITERRANEO

Il programma Mediterraneo di WWF International è nato nel 1990, con il mandato di coordinare le attività di conservazione lanciate dagli uffici nazionali (Spagna, Francia, Italia, Grecia, Turchia e Tunisia) e di elaborare direttamente strategie e progetti di protezione dell'ambiente in tutti gli altri Stati rivieraschi dove l'associazione non ha una presenza istituzionale.

L'ufficio del programma si trova a Roma, sotto l'egida di WWF Italia ed è attualmente costituito da quattro persone: un coordinatore, un soprintendente, un consulente e un assistente. Conformemente alle priorità definite da WWF International a livello mondiale, i progetti del programma Mediterraneo sono sempre stati, e sono tuttora, concepiti ed elaborati rispetto ai biomi seguenti: oceani e coste, foreste ed acque dolci; e in funzione dei quattro temi seguenti: ecologia-economia, energia, agricoltura ed educazione ambientale.

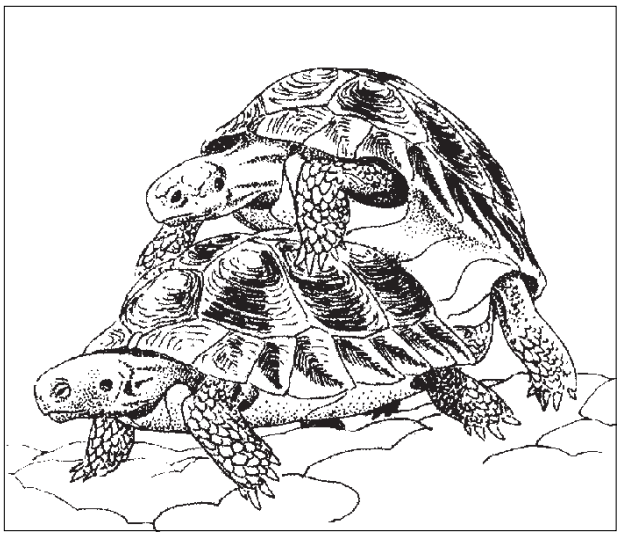
Se teniamo conto solo dei programmi che fanno parte del programma, esclusi tutti gli altri finanziati direttamente dagli uffici nazionali, l'ammontare totale annuo delle spese rappresenta circa 3,5 milioni di dollari (da paragonare con i 10 miliardi di dollari spesi dalla famiglia WWF nell'insieme del bacino). WWF International contribuisce al finanziamento del programma mediterraneo per circa il 60% del totale; il restante 40% proviene dai servizi governativi e da istituzioni internazionali quali l'Unione Europea, la Banca mondiale, ecc. Per capire ciò che viene effettivamente realizzato dal programma per la conservazione della regione mediterranea è interessante analizzare più nei dettagli certi progetti che ne fanno parte. L'elenco seguente mette l'accento su una scelta di attività limitata ma rappresentativa e di progetti in corso (tra cui alcuni già realizzati) in diverse zone del bacino.

Spagna: rimboschimento della zona umida del parco naturale del delta dell'Ebro - Tarragona; creazione di un vivaio per reintrodurre piante locali e proporre un'educazione all'ambiente.

Francia: acquisto e protezione del capo Lardier - St Tropez in cooperazione con il Conservatorio del Litorale; censimento della popolazione di delfini (*Tursiops truncatus*) garantendone la sorveglianza lungo le coste corse.

Italia: inventario, protezione e gestione delle zone umide (MedWet Programma), sensibilizzazione delle popolazioni all'importanza della loro conservazione; promozione delle zone protette ("blue landfalls") lungo le coste della Sardegna, per preservare l'habitat della foca monaca; campi di ricerca scientifica ed educazione alla protezione dei siti di nidificazione delle tartarughe marine (*Caretta caretta*) nell'isola di Lampedusa; gestione e organizzazione delle attività del parco marino di Miramare-Trieste.

Albania: censimento e sorveglianza della fauna avicola acquatica delle lagune costiere di Karavasta e Kune; corsi di formazione alla gestione delle zone umide e all'ecologia, all'Università di Tirana; campa-



gne miranti a far pressione sul governo contro la caccia incontrollata; studio di pre-fattibilità per la creazione di un parco marino nella penisola di Karabuni - Viora.

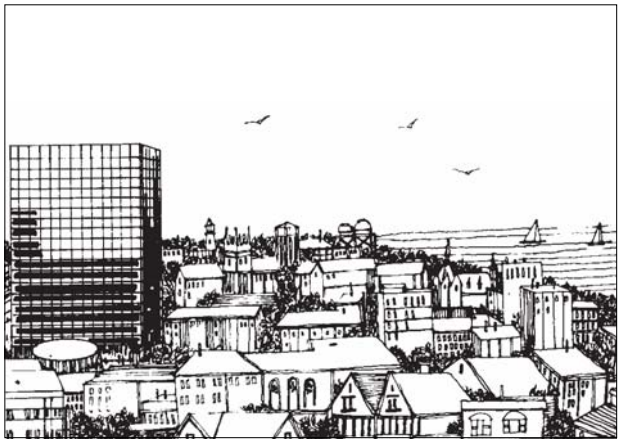
Grecia: sorveglianza, controllo e studio delle popolazioni di foca monaca nelle isole ioniche; riconversione all'agricoltura biologica della proprietà del monastero d'Ormylia; protezione della riserva forestale di Dadia-Soufli; acquisto della spiaggia di Sekania nell'isola di Zanthe per proteggere il principale sito di nidificazione della tartaruga marina (*Caretta caretta*) nel Mediterraneo.

Turchia: gestione integrata della costa mediterranea; protezione e studio degli ultimi 17 siti di nidificazione della tartaruga marina e della tartaruga marina verde (*Caretta caretta* e *Chelonia mydas*) e sensibilizzazione del pubblico; valutazione dell'impatto della pesca lungo le coste sulle specie marine protette nel golfo di Ischenderun; gestione e sviluppo dell'osservazione degli uccelli nel delta di Menderes; pianificazione e sviluppo integrato di un sistema di zone protette nella regione rivierasca orientale del mare Nero.

Egitto: piano di restauro e di conservazione del sistema di lagune costiere d'El Zaranik (Porto Saïd); missioni di ricerca per valutare l'impatto della pesca lungo le coste sulle specie marine protette.

Libia: spedizioni di ricerca per effettuare una valutazione statistica della popolazione nidificante di tartaruga marina (*Caretta caretta*).

Tunisia: creazione di un centro d'educazione ambientale al capo Buono, progetto pilota per educare e sensibilizzare il pubblico all'importanza della conservazione delle lagune costiere; corso di formazione e di educazione alla gestione e alla conservazione del patrimonio forestale nazionale.



Malta: cooperazione per la pubblicazione della rivista ecologica "In Nature"; campagne di sensibilizzazione del pubblico ai problemi ambientali e contro la caccia non selettiva.

Maghreb e Stati del Medio-Oriente: sviluppo del progetto "Across the Waters", basato sull'attribuzione di sovvenzioni ad organizzazioni non governative per la realizzazione d'iniziative d'educazione all'ambiente, a tutti i livelli.

Cooperazione Internazionale

Nonostante i problemi ecologici siano trattati a livello locale, la volontà di garantire sul piano internazionale la copertura e l'integrazione adeguate per ottenere uno schema di conservazione globale della regione si delinea chiaramente da ogni iniziativa. Inoltre, è anche ovvio che il WWF non potrà mai garantire da solo un equilibrio accettabile nella regione tra l'impatto delle attività umane e la conservazione della natura. Ecco perché buona parte del lavoro degli uffici del Programma Mediterraneo è dedicato a stabilire relazioni e contatti con tutte le ONG nazionali e locali impegnate nella protezione dell'ambiente, per invitarle a collaborare nella stessa rete. L'insieme del movimento ecologistico, anche in perfetta armonia, sarebbe però inefficace senza un'azione diretta dei dirigenti e dei governi. In una regione che comprende 20 paesi e un numero incredibile di culture, di tradizioni, di lingue e di religioni diverse –al punto che si manifestano non solo differenze Nord-Sud, ma anche Est-Ovest– la cooperazione fra tutti gli Stati rivieraschi per conservare il loro patrimonio naturale si rivela un compito estremamente difficile.

Nuova tappa

L'anno in corso potrebbe segnare una nuova tappa storica nella cooperazione e la collaborazione tra i paesi mediterranei per quanto riguarda la protezione del bacino. Nel giugno 1995, in effetti, sull'orlo del secondo decennio d'attività, la Convenzione di Barcellona e il Piano d'azione mediterraneo (PAM-PNUE) sono stati riesaminati e rinnovati, dopo un processo politico lungo e difficile. La Convenzione, che costituisce un accordo con forza vincolante con-

cluso tra tutti i paesi rivieraschi e il PAM, organismo creato specialmente sotto l'egida del Programma delle Nazioni Unite per l'ambiente (PNUE) per applicare i protocolli definiti dalla Convenzione stessa, aveva come obiettivo principale iniziale quello di proteggere il Mare Mediterraneo contro l'inquinamento. Negli anni seguenti, il carattere unico, il valore e l'estensione dell'accordo giuridico concluso durante la Convenzione di Barcellona, la necessità di estendere la giurisdizione del trattato ad altri aspetti della protezione dell'ambiente, sono stati ampiamente riconosciuti. Uno dei temi più interessanti e più importanti è stato, indubbiamente, l'accelerazione del processo di creazione e di gestione di zone protette lungo tutta la costa del bacino.

Efficacia relativa del Protocollo ASP

Nel 1982, le parti contraenti della Convenzione hanno adottato e firmato un protocollo particolare sulle aree specialmente protette (ASP) del Mediterraneo, con l'obiettivo principale di identificare, di proteggere e gestire in modo appropriato tutte le zone costiere e marine più interessanti (ecologicamente). Inoltre, un centro di attività regionale per le aree specialmente protette (CAR-ASP) è stato creato a Tunisi, sotto il controllo del PAM, per realizzare e coordinare le azioni proposte dal protocollo ASP. Nonostante queste promesse seducenti, il protocollo non ha influito come si sperava sulle politiche di conservazione della natura degli Stati membri ed è rimasto solo una semplice lista di obiettivi, raramente seguita nell'ultimo decennio da azioni giuridiche, socio-economiche o ecologiche concrete.

Pericolo per il futuro

Oltre alla scomparsa delle ultime zone costiere e marine vergini, rischiamo nei prossimi anni di essere spettatori della distruzione generale di tutto il litorale a causa dell'incredibile aumento della pressione umana. A questo proposito, sappiamo già ciò che ci riserva il futuro: lo scenario descritto dal "Piano Blu" (PNUE-PAM) prevede che la popolazione mediterranea residente sulla costa passerà da 133 milioni nel 1985 a 197-217 milioni nel 2025. Esso prevede, inoltre, un aumento annuo del numero di turisti, che passerà dai 100 milioni attuali a 170-340 milioni. Questa situazione sboccherà in uno sfruttamento ancora più sfrenato di tutte le risorse costiere disponibili, in primo luogo la terra e l'acqua. Ad esempio, il "Piano Blu" prevede che nel 2025 più di 4000 Km di terreno costiero saranno totalmente utilizzati solo per costruzioni destinate ad alloggiare i turisti.

Il WWF, tramite il Programma Mediterraneo, ha deciso di fare uno sforzo particolare a livello internazionale per partecipare attivamente alle proposte miranti a riesaminare il processo della Convenzione di Barcellona e del PAM. Ecco perché il WWF ha presentato, durante le riunioni preparatorie e la revisione definitiva, a tutti gli Stati firmatari della Convenzione di Barcellona un insieme completo di proposte miranti a migliorare l'efficacia e l'applicazione degli accordi di protezione della costa mediterranea tanto vulnerabile. Infatti, il PAM non ha avuto risultati soddisfacenti finora. In breve, il 90% delle 123 zone costiere mediterranee protette attualmente e incluse nell'accordo (protocollo) rappresentano solo nomi su un pezzo di carta. Non esistono né piano di gestione, né controllo efficace, né strutture adeguate e, spesso, neanche uno strumento legale o giuridico. In più, anche se si considerasse che le 123 zone costiere mediterranee funzionassero effettivamente, esse rappresenterebbero solo 2400 Km di coste protette in tutto, sui 46000 Km del litorale mediterraneo, cioè il 5,2%. La conservazione del Mediterraneo, quindi, è compromessa da gravi problemi quantitativi.

Nuove misure

Le principali nuove misure di conservazione e i principi contenuti nel trattato e nel suo protocollo in seguito alla Conferenza di Barcellona, tuttavia, sono incoraggianti. Ecco le più recenti misure, che per

buona parte sono state definite e accettate a partire dalle proposte del WWF:

- preparare ed integrare nei vari sistemi legislativi nazionali delle strategie specifiche di conservazione e di gestione integrata delle zone costiere;
- includere nel nuovo protocollo ASP un allegato I con la lista delle specie strettamente protette e un allegato II con la lista delle specie che richiedono una gestione prudente;
- esaminare la fattibilità di creare un fondo speciale per la promozione di progetti legati alla conservazione della natura e alla gestione integrata delle coste, complementare del Mediterranean Trust Fund e mirante a mobilitare le risorse finanziarie necessarie;
- creare una rete di aree specialmente protette d'importanza mediterranea (ASPIM) che possa includere, sulla base di un valore ecologico superiore rispetto a tutte le zone esistenti, un numero limitato di zone costiere degne di essere appoggiate finanziariamente in modo prioritario adeguato per una gestione integrata e durevole;
- cooperare, sia a livello regionale che nazionale, con ONG qualificate interessate all'ambiente e integrarle nei dibattiti e nelle azioni della Convenzione di Barcellona, del MAP e dei suoi centri regionali.

La sfida che ci propone il prossimo decennio consiste nel fare in modo che tutte queste misure e tutti questi miglioramenti non rimangano, come in passato, pii desideri o belle parole. Il Programma Mediterraneo del WWF si impegna già a questo fine.

Dott. P. Guglielmi
Coordinatore del Programma Mediterraneo
WWF Int. Programma mediterraneo via Garigliano 57. I - 00198 Roma