

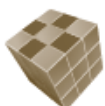


RAPPORTI ISTISAN 19|13

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Cambiamenti ambientali globali e salute

A cura di L. Mancini, M. Figliomeni,
S. Gaudi, F. Volpi



AMBIENTE
E SALUTE

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Cambiamenti ambientali globali e salute

A cura di Laura Mancini, Mario Figliomeni,
Simona Gaudi, Fabrizio Volpi

Dipartimento Ambiente e Salute

ISSN: 1123-3117 (cartaceo) • 2384-8936 (online)

Rapporti ISTISAN

19/13

Istituto Superiore di Sanità

Cambiamenti ambientali globali e salute.

A cura di Laura Mancini, Mario Figliomeni, Simona Gaudi, Fabrizio Volpi
2019, iv, 109 p. Rapporti ISTISAN 19/13

La globalizzazione e l'urbanizzazione in atto rappresentano una sfida per la capacità di tutelare la salute pubblica a livello mondiale. L'impatto antropico sta modificando l'ambiente su scala globale. Questi cambiamenti possono avere effetti diretti e indiretti sulla salute delle popolazioni. Vengono trattati temi volti alla comprensione dei rapporti esistenti tra la salute, i cambiamenti climatici e i servizi ecosistemici con l'intento d'explorare la conoscenza rapida dei fenomeni e di individuare possibili soluzioni per le sfide future.

Parole chiave: Cambiamenti ambientali globali; Ecosistemi; Salute

Istituto Superiore di Sanità

Global environmental changes and health.

Edited by Laura Mancini, Mario Figliomeni, Simona Gaudi, Fabrizio Volpi
2019, iv, 109 p. Rapporti ISTISAN 19/13 (in Italian)

The on-going globalization and urbanization represent a challenge for the ability to protect public health worldwide. The anthropic impact is changing the environment on a global scale. These changes can have direct and indirect effects on the health of populations. This report discuss the main topics related to the interaction between health, climate change and the ecosystems, in order to investigate the rapid understanding of the phenomena and identifying the potential solution for future challenges.

Key words: Global environmental changes; Ecosystems; Health

Si ringrazia la Dott.ssa Anna Maria D'Angelo (Dipartimento Ambiente e Salute) per il suo contributo tecnico-scientifico e la Dott.ssa Claudia Romi.

Per informazioni su questo documento scrivere a: laura.mancini@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it

Citare questo documento come segue:

Mancini L, Figliomeni M, Gaudi S, Volpi F (Ed.). *Cambiamenti ambientali globali e salute*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2019. (Rapporti ISTISAN 19/13).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Silvio Brusaferrò*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 114 (cartaceo) e n. 115 (online) del 16 maggio 2014

Direttore responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Sandra Salinetti*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.



INDICE

Premessa	
<i>Walter Ricciardi</i>	iii
Introduzione	
<i>Laura Mancini</i>	1
Ecosistemi e salute	
<i>Laura Mancini</i>	3
Evoluzione del territorio e del paesaggio: il consumo di suolo e l'impatto sui servizi ecosistemici	
<i>Michele Munafò</i>	8
Cambiamenti climatici in area urbana: casi di studio in alcune città italiane	
<i>Cinzia Ferrari, Laura Mancini, Luca Avellis, Cristina Lavecchia, Samantha Pilati, Pamela Turchiarulo</i>	10
Contaminanti emergenti negli ecosistemi acquatici	
<i>Mario Carere, Margherita Corti, Kevin Di Domenico, Walter Cristiano</i>	15
Cambiamenti climatici e impatto sulle risorse idriche	
<i>Serena Bernabei, Marilena Insolubile</i>	20
Uso di strumenti modellistici per la valutazione degli impatti dei cambiamenti climatici su ecosistemi e biodiversità	
<i>Maria Francesca Fornasier, Alessandra De Marco</i>	24
Progettazione di un piano di monitoraggio negli ecosistemi acquatici	
<i>Teresa Trabace</i>	27
Fitodepurazione e servizi ecosistemici annessi	
<i>Filippo Chiudioni</i>	30
Geno-ecotossicologia negli ecosistemi	
<i>Silvana Caciolli</i>	33
Approcci ecotossicologici innovativi ai fini della protezione ambientale e della salute umana	
<i>Ines Lacchetti, Walter Cristiano, Kevin Di Domenico, Margherita Corti</i>	41
Cianobatteri tossici e cambiamenti climatici	
<i>Maura Manganelli, Susanna Vichi</i>	46

Adattamento degli organismi e microrganismi acquatici ai cambiamenti ambientali globali o effetti su di essi?	
<i>Stefania Marcheggiani, Camilla Puccinelli</i>	57
Biomonitoraggio su specie acquatiche sentinella in ambienti marino-costieri e di transizione ai fini della valutazione dei rischi ambientale e sanitario	
<i>Pierluigi Piras, Tiziana Serraino</i>	68
Cambiamenti climatici e salute: eventi estremi	
<i>Mario Figliomeni</i>	73
Interazione genoma ambiente	
<i>Simona Gaudi</i>	77
Cambiamento climatico e fattori di rischio occupazionali: esposizione, suscettibilità individuale e misure di tutela	
<i>Maria Concetta D'Ovidio, Linda Boccacci, Carlo Grandi</i>	82
Ruolo della Circular Economy in un'epoca di cambiamenti ambientali globali nella sfida della <i>Global Health</i>	
<i>Federica Tommasi</i>	89
Sottoprodotti di origine animale: da scarto della filiera alimentare a modello di economia circolare	
<i>Tiziana Serraino, Pierluigi Piras</i>	96
Considerazioni finali	
<i>Fabrizio Volpi, Elisabetta Volpi, Simona Gaudi, Mario Figliomeni, Laura Mancini</i>	102
Appendice	
“Storia culturale del clima: dall’era glaciale al riscaldamento globale” di W. Behringer	
Una recensione del libro di Behringer a cura di Alessandro Pinter	107

PREMESSA

I cambiamenti climatici minacciano la nostra salute sia che si viva in un villaggio rurale che su una piccola isola, in zone costiere o in una grande città; tutti sono a rischio.

Gli impatti e le conseguenze sulla salute umana sono drammatici, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (World Health Organization, WHO) afferma che:

- 1) le malattie collegate ai vettori aumenteranno con l'aumentare dell'umidità e delle temperature;
- 2) la produzione alimentare sarà destabilizzata dalla siccità;
- 3) l'inquinamento atmosferico porterà ad un incremento delle allergie e dell'asma;
- 4) le acque più calde e le inondazioni aumenteranno il rischio di malattie trasmesse dall'acqua.

Secondo le stime della WHO i cambiamenti climatici causeranno in tutto il mondo ulteriori 250.000 morti all'anno tra il 2030 e il 2050.

In questo contesto è importante riconoscere ed evidenziare i segnali che il nostro pianeta ci sta inviando, in particolare ai nostri ecosistemi che sono strettamente connessi con il benessere e lo stato di salute delle popolazioni. I segnali di alterazione o deterioramento dell'ecosistema devono essere considerati come un allarme da parte di governi e politici per applicare misure preventive per proteggere la salute umana. La WHO afferma, infatti, che è necessaria una nuova prospettiva incentrata sugli ecosistemi e sul riconoscimento che la salute a lungo termine nelle popolazioni umane si basa principalmente sulla stabilità e sul funzionamento continui dei sistemi di supporto alla vita della biosfera.

La protezione della salute dell'uomo dai cambiamenti climatici richiede una gestione a molti livelli, dalla valutazione scientifica dei rischi e delle esposizioni per le popolazioni umane agli aspetti sociali, economici e politici. La strategia elaborata dall'Unione Europea in merito all'adattamento ai cambiamenti climatici è un esempio di azioni concrete da mettere in atto. La strategia mira a rendere l'Europa più resiliente ai cambiamenti climatici; essa, infatti adottando un approccio coerente e prevedendo un miglior coordinamento, ha lo scopo di migliorare la preparazione e la capacità di tutti i livelli di *governance* per rispondere agli impatti dei cambiamenti climatici.

Nel nostro Paese abbiamo sperimentato eventi insolitamente frequenti o gravi che potrebbero essere attribuiti a cambiamenti climatici come inondazioni, scarsità d'acqua, incendi, erosione costiera, comparsa di specie invasive, ondate di calore e altri effetti e pensiamo che, di conseguenza, le seguenti azioni sarebbero utili e urgenti:

- l'applicazione della strategia di adattamento messa in pratica a tutti i livelli di *governance*;
- un forte sostegno alla ricerca sull'adattamento ai cambiamenti climatici per colmare le lacune sulla conoscenza degli effetti sugli ecosistemi e sulla salute;
- il coordinamento delle politiche di adattamento;
- l'adozione di un approccio basato sull'ecosistema e sull'uso dell'infrastruttura verde e/o blu nell'elaborazione delle azioni di adattamento;
- l'implementazione di sistemi di allarme rapidi;
- una migliore armonizzazione e collaborazione tra il settore sanitario e ambientale.

Il tema dei cambiamenti climatici sta diventando sempre più urgente e l'applicazione di misure e azioni per mitigare l'impatto sull'ambiente e sulla salute umana è necessaria a tutti i livelli; per questo motivo il nostro Istituto ha organizzato corsi di formazione dedicati.

Inoltre, il nostro Istituto ha organizzato, a dicembre 2018, un Simposio scientifico internazionale che ha ospitato esperti competenti riconosciuti a livello mondiale per il loro

contributo scientifico e politico in relazione alla protezione della salute umana e dell'ambiente (<https://healthclimate2018.iss.it/>).

Spero davvero che questi impegni della comunità scientifica possano contribuire a promuovere tutte quelle azioni fortemente necessarie per combattere gli effetti sulla salute dei cambiamenti climatici.

Walter Ricciardi

*Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
(settembre 2015 – gennaio 2019)*

INTRODUZIONE

Laura Mancini

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Una delle maggiori sfide a livello mondiale è rappresentata dalla tutela della salute pubblica severamente minacciata dalla globalizzazione e dall'urbanizzazione. L'impatto antropico sta modificando l'ambiente su scala globale. Questi cambiamenti possono avere effetti diretti e indiretti sulla salute delle popolazioni, introducendo anche nuove patologie. Le ondate di calore e le alluvioni sono un esempio di questi cambiamenti.

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO) sostiene che gli effetti sulla salute attesi nel futuro a causa dei cambiamenti ambientali globali in particolare quelli dovuti al progressivo riscaldamento del pianeta, saranno tra i più rilevanti problemi sanitari da affrontare nei prossimi decenni.

Lo stato di equilibrio degli ecosistemi naturali e artificiali può essere alterato dai cambiamenti climatici. Le alluvioni possono causare una serie di significativi impatti e rischi per la salute, tra cui la contaminazione dell'acqua potabile, la perdita di energia elettrica, l'aumento delle popolazioni di insetti portatori di malattie e di roditori, oltre che patologie legate al trauma fisico e psichico e alla disintegrazione del tessuto sociale.

Le conseguenze dei cambiamenti climatici sulla salute e il benessere umano sono più gravi nei centri urbani dove vive il 70% della popolazione europea, e colpiranno soprattutto le fasce più fragili della popolazione, ovvero quelle a minor reddito, anziani soli, immigrati e persone con condizioni abitative precarie e malati cronici (broncopneumopatia cronica ostruttiva, asma, malattie cardiovascolari, ecc.).

In termini di macro-classificazione, l'impatto sulla salute dei cambiamenti climatici si basa su:

- *effetti diretti sulla persona e sull'animale* con patologie prevalentemente legate all'alterazione omeostatica e della fisiopatologia umana e animale determinati dal cambiamento nella frequenza di condizioni meteorologiche ed eventi estremi, con alterazioni anche della qualità della produzione zootecnica;
- *effetti indiretti sulla salute* determinati dal cambiamento dell'ecosistema e quindi dalla presenza di vettori o veicoli di patologie prevalentemente infettive, come, ad esempio, l'encefalite da zecche, la borreliosi di Lyme, la malaria, la febbre da virus del Nilo occidentale, l'intero gruppo delle encefaliti infettive, le patologie prevalentemente respiratorie da Hantavirus, la Chikungunya, la Dengue, la Leishmaniosi, le patologie legate al virus Zika, di recente identificazione, ma anche le epidemie determinate da patologie precedentemente limitate a ecosistemi periferici rispetto alle aree di maggiore antropizzazione. In particolare, le temperature più alte, gli inverni più miti e le estati più umide e calde stanno espandendo le aree in cui gli insetti vettori di malattie (es. zecche e zanzare) sopravvivono e si moltiplicano;
- *effetti indiretti sulla salute* determinati da alterazioni ecologiche, con impatto sull'ambiente di vita e lavoro, sia esterno che confinato, con concentrazioni di sostanze chimiche e pesticidi diffusi nell'ambiente, con diminuzione della qualità dell'aria e con specifica alterazione della qualità del microclima domestico e di lavoro. A quest'ultimo settore afferiscono anche le crescenti evidenze che un tale cambiamento impatta anche sul profilo epigenetico del feto, interferendo sull'espressività del genoma e causando patologie legate

allo squilibrio dell'omeostasi feto-placentare, e, in ultima analisi, sul prodotto del concepimento. Prova a sostegno di questa situazione è l'aumento epidemico dell'obesità infantile non trattabile, della sindrome autistica, di patologie oncologiche soprattutto della primissima infanzia.

Questo rapporto contiene alcuni contributi ritenuti prioritari nell'ambito delle attività di ricerca sulla tematica dei cambiamenti ambientali globali e in particolare dei cambiamenti climatici ed emersi anche durante il corso avanzato sui cambiamenti ambientali globali e salute tenutosi presso l'Istituto Superiore di Sanità il 20-21 dicembre 2017. Durante questo evento sono state affrontate le correlazioni tra la salute, i cambiamenti climatici e i servizi eco-sistemici. Il rapporto contiene una sintesi del concetto di Ecosistemi e Salute e in parallelo allo sviluppo di temi fondamentali quali l'evoluzione del territorio e del paesaggio, il consumo di suolo e l'impatto sui servizi ecosistemici. Sono state trattate, inoltre, tematiche che riguardano i cambiamenti climatici in area urbana e quindi analizzati i casi-studio in alcune città italiane. Una parte del rapporto è incentrata sullo studio dei contaminanti emergenti negli ecosistemi acquatici, e anche sui relativi cambiamenti climatici che impattano direttamente le risorse idriche. Per affrontare tale emergenza, sono stati impiegati strumenti modellistici per la valutazione degli impatti dei cambiamenti climatici su ecosistemi e biodiversità. Altri interventi si sono incentrati sulla progettazione di un piano di monitoraggio negli ecosistemi acquatici la fitodepurazione e i servizi ecosistemici annessi, gli approcci ecotossicologici innovativi ai fini della protezione ambientale e della salute umana. Sono stati presi in considerazione alcuni esempi di biomonitoraggio su specie acquatiche sentinella, i cianobatteri tossici e cambiamenti climatici e geno-ecotossicologia negli ecosistemi e in ambienti marino-costieri e di transizione ai fini della valutazione dei rischi ambientali e sanitari.

L'ultima parte del rapporto è incentrata sulle conseguenze dell'interazione genoma ambiente, sui cambiamenti climatici e salute: eventi estremi, sul cambiamento climatico e sui fattori di rischio occupazionali: esposizione, suscettibilità individuale e misure di tutela e dell'importanza e rilevanza della *circular economy* in un'epoca di cambiamenti ambientali globali.

In appendice al rapporto è riportata la recensione al volume di Wolfgang Beheringer (2013), "Storia culturale del clima: dall'era glaciale al riscaldamento globale", dove sono trattate le cause principali dei cambiamenti climatici e alcuni esempi, presi dalla storia, di cambiamenti climatici, che interagiscono con la storia culturale e sociale dell'uomo.

Qui vorrei sottolineare che l'uomo ha iniziato a modificare l'ambiente per adattarlo alle proprie esigenze fin dall'inizio delle prime civiltà, ma solo con la rivoluzione industriale sono stati prodotti effetti misurabili e spesso irreversibili, su ecosistemi, salute, biodiversità e clima. Per questo, nel 2000, il Premio Nobel Paul Crutzen e il biologo Eugene Stoermer suggerirono che, a partire dalla rivoluzione industriale, la Terra era entrata in una nuova era geologica che proposero di chiamare Antropocene.

"Link ecosystem management with sustainable livelihoods and development to avoid the sixth mass extinction" è una delle raccomandazioni della "Carta Internazionale di Roma" su Salute e Cambiamenti Climatici, che è il frutto di una riflessione corale dei 3 giorni di lavori nel "First Scientific Symposium on Health and Climate Change" (Roma, 3-5 dicembre 2018), alla quale hanno partecipato oltre 500 ricercatori provenienti da più di 27 Paesi.

ECOSISTEMI E SALUTE

Laura Mancini

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

L'approccio ecosistemico alla salute si riferisce agli aspetti diagnostici, preventivi e predittivi della gestione degli ecosistemi e indaga le relazioni che li legano alla salute umana.

Questo approccio non trascura il ruolo che i valori sociali giocano nel modellare il concetto di salute sia a livello umano che a livello ecosistemico.

In questa ottica si cerca l'ottimizzazione delle capacità di autorinnovamento di un ecosistema senza precludere ragionevoli aspettative umane. Un ecosistema è un'unità funzionale naturale che combina elementi biotici e abiotici. In una organizzazione sistemica della natura questa è vista come elementi organizzativi crescenti (Odum, 1985; Odum, 1995).

La salute dell'ecosistema studia le relazioni tra i cambiamenti biofisici, l'incidenza di patologie sulla comunità umana ma non solo (anche della comunità vegetale e altre comunità animali nel suo complesso) e la struttura sociale e la sostenibilità economica delle comunità umane e delle attività antropiche.

Questo approccio olistico è un approccio complesso che vede coinvolte moltissime professionalità e non può prescindere da interazioni tra gli aspetti sociali, economici, ecologici e di salute pubblica. Gli obiettivi chiave della valutazione della salute degli ecosistemi sono basati sulla definizione di queste interazioni con l'obiettivo di fornire una serie di indicatori per la diagnosi della salute dell'ecosistema.

Attraverso questo processo, dovrebbe essere possibile rilevare, in una fase iniziale, il deterioramento della salute dell'ecosistema e quindi di attivare azioni volte al recupero mentre è ancora possibile invertire il danno a un costo ragionevole.

In sintesi di fare dell'ambiente uno strumento di prevenzione con l'obiettivo di limitarne il deterioramento ma anche di pensarlo come spia precoce prima che i potenziali effetti siano misurati sulla comunità umana (Brown, 2007). Un grande sfida che dobbiamo raccogliere in un'ottica di prevenzione.

Questo contributo ha lo scopo di rafforzare e fissare i concetti esposti durante il corso avanzato sui Cambiamenti ambientali globali e rischi per la salute e con lo stesso spirito si riportano le tre parti che sono state il filo conduttore della lezione e che rispondono alle domande Cosa? Perché? Come?

Cosa sono gli ecosistemi?

L'ecosistema è l'unità che include gli organismi che vivono insieme in una certa area (comunità biotica o biocenosi), interagenti con l'ambiente fisico (biotopo) in modo tale che un flusso di energia porti ad una ben definita struttura biotica e ad una ciclizzazione dei materiali fra viventi e non viventi all'interno del sistema" (Odum, 1971).

Cosa si intende per salute?

Il concetto di salute si riferisce alla capacità di un sistema, che può essere biologico, sociale o meccanico, di svolgere funzioni. Esiste una serie di problemi riguardanti il termine “salute” perché implica già un giudizio di valore. Significa che qualcuno deve valutare se stiamo parlando di un ecosistema sano o un (già) malsano.

Alcuni aspetti saranno quindi valutati a spese di altri.

La definizione di salute si rifà alle definizioni della World Health Organization (WHO) che la vede non solo come assenza di malattie ma come uno stato di completo benessere fisico, mentale e sociale e non la semplice assenza dello stato di malattia o infermità. Considera l'essere umano come parte integrante dell'ecosistema; auspica un rapporto coevolutivo tra uomo e ambiente; enfatizza l'importanza dei valori sociali nella percezione dello stato di salute o malattia.

Cosa è la salute degli ecosistemi?

Uno stato di una comunità di organismi che interagiscono con il loro ambiente e la capacità di espletare funzioni.

Salute dell'ecosistema è un concetto integrativo più che una definizione. Comprende le scienze sociali, biologiche e sanitarie così come le dimensioni concettuali, storiche, etiche e filosofiche (Cecchi & Mancini, 2005). Una delle molte definizioni di salute dell'ecosistema è che la salute dell'ecosistema “è orientata a preservare le funzioni degli ecosistemi, anche se il sistema può essere considerevolmente alterato a causa del dominio umano”. L'integrità dell'ecosistema rispetto a questo è orientata verso la preservazione della natura imminente (Rapport *et al.*, 2003).

Westra fornisce un'altra semplice definizione che dice che l'integrità include la salute dell'ecosistema, ma la salute non include l'integrità (Westra, 1994; Westra, 1995; Lemons, 1995. Dopo Karr e Chu (1999), la salute dell'ecosistema è “lo stato preferito degli ecosistemi modificati dall'attività umana”.

Il ritardo è fondamentalmente connesso ad un approccio settoriale in cui ogni professionalità si concentra sulla patologia (malattia), non sulla salute. Le definizioni di salute dell'ecosistema sono quindi spesso espresse in termini di assenza di segni di “malattia”, piuttosto che in termini di segni di salute. Ad esempio, un lago è considerato “sano” se non mostra nessuno dei segni evidenti di patologia come la contaminazione, fioriture algali, perdita di specie ittiche e simili. In termini generali, la salute dell'ecosistema potrebbe essere definita come la capacità di mantenere l'organizzazione biologica e sociale, da un lato la capacità di raggiungere obiettivi umani ragionevoli e sostenibili dall'altro. Da questa prospettiva la salute dell'ecosistema riguarda tanto il sostegno alla comunità umana, opportunità economiche, salute umana e animale, così come il sostentamento delle funzioni biologiche degli ecosistemi.

Nel dominio della salute dell'ecosistema tre attributi principali sono stati identificati: quale il vigore (produttività), l'organizzazione (compresa la diversità del biota e delle loro interazioni) e la resilienza.

Vigore o produttività si riferisce alla capacità del sistema di sostenere la crescita e la riproduzione di piante e animali. Organizzazione si riferisce alla capacità del sistema di supportare una varietà di forme di vita e le loro interazioni. La resilienza si riferisce alla capacità del sistema di assorbire le perturbazioni (es. dopo un incendio o dopo inondazioni o dopo una siccità). Questi concetti si possono applicare anche agli aspetti socioeconomici e di salute umana. Ad esempio, in un ecosistema “sano”, l'attività economica è “tamponata” rispetto alle variazioni del mercato

poiché il sistema può supportare una varietà di attività alternative che possono essere messe in gioco per mantenere una fonte di reddito per le comunità all'interno del sistema resiliente. Come ad esempio in ecosistemi degradati è molto più facile il diffondersi di alcune malattie trasmissibili e non trasmissibili come ad esempio quelle trasmesse da vettori o da acqua contaminata.

Per la corretta definizione del concetto di salute di un ecosistema sono di fondamentale importanza anche le relazioni che questo stabilisce con l'uomo. L'uomo è parte integrante degli ecosistemi in cui si trova a vivere. Il nostro impatto su di essi ne ha spesso modificato e danneggiato le funzionalità, compromettendo in molti casi le relazioni psico-sociologiche, fisiologiche, culturali ed economiche che ci legano all'ambiente che ci circonda. Il fattore umano non può essere isolato dallo studio degli ecosistemi a meno di non perdere ogni possibilità di operare efficacemente alla loro difesa. Una corretta definizione del concetto di salute ed ecosistemi deve tener conto del complesso di relazioni che legano l'ambiente ai suoi fruitori (Cecchi & Mancini, 2005; Cecchi & Mancini, 2006).

Perché gli ecosistemi per valutare gli impatti

La trasformazione degli ecosistemi da quelli in salute a quelli degradati è riconducibile al cumulato impatti e/o degli stress cronici dovute alle attività antropiche. Le principali fonti di stress includono: rilascio di residui di scarto (es. rilascio di contaminanti in aria, acqua e terra); sovrasfruttamento e la ristrutturazione fisica degli ecosistemi terrestri e acquatici (es. dighe, deviazioni d'acqua, strade e corridoi di utilità che frammentano il paesaggio); e l'introduzione (intenzionalmente o accidentalmente) di specie esotiche, la perdita di biodiversità. Lo stress aggiuntivo deriva dai cambiamenti ambientali globali. Gli effetti cumulativi dello stress acuto e cronico determinano la Sindrome da Stress dell'Ecosistema (SSE).

I segni chiave dell'SSE comprendono: migrazioni, riduzione della biodiversità, semplificazione delle reti alimentari attraverso l'eliminazione delle specie chiave, depauperamento delle componenti biotiche, rendimenti o raccolti in calo, aumento della prevalenza di alcune malattie (sia per la componente animale che vegetale) e aumenta il predominio di specie esotiche. Inoltre, la maggior parte degli ecosistemi terrestri (es. foreste, praterie), come tutti i sistemi danneggiati, riducono la produttività secondaria e modificano la velocità di trasformazione del ciclo dei nutrienti.

Questi cambiamenti, a sua volta, causare danni ai servizi ecosistemici (Costanza *et al.*, 1997) (es. acqua potabile e forniture di risorse rinnovabili, protezione contro le inondazioni e attività degli insetti impollinatori).

L'uomo può degradare gli ecosistemi, quindi con impatti generati su diverse scale spazio-temporali: Cambiamenti climatici globali; Deposizioni acide; Uso del suolo (agricoltura, allevamento, attività forestali); Industrie estrattive (miniere, cave, prelievo inerti in alveo); Attività industriali; Urbanizzazione (scarichi di depurazione, dilavamento suoli impermeabilizzati, ecc.); Degrado caratteristiche idromorfologiche (ostruzioni longitudinali fiumi, canalizzazioni, fluttuazioni livelli idrici, bonifiche, ecc.); Introduzione specie alloctone; Acquacoltura, eccessivo prelievo delle risorse. Natura multifunzionale degli ecosistemi acquatici continentali.

Un ecosistema, strutturalmente e funzionalmente efficiente, è in grado di supportare contemporaneamente la biodiversità, espressa ai vari livelli dell'organizzazione biologica (dai geni agli ecosistemi), e le attività di interesse economico come la pesca e l'acquacoltura che su questa si basano. Gli altri usi antropici tendono invece a generare pressioni più intense sugli ecosistemi, con esternalità negative più rilevanti (Figura 1) (Rapport *et al.*, 1998).

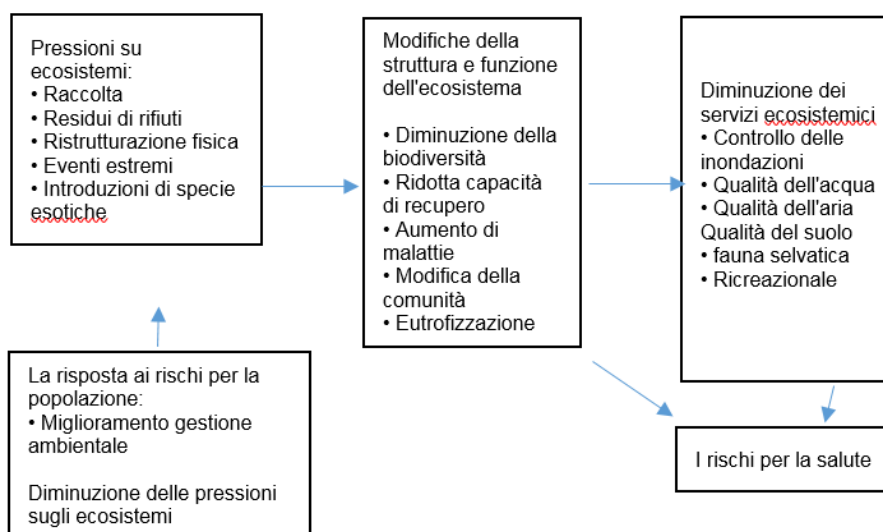


Figura 1. Collegamento tra pressioni derivanti dalle attività umane, modifiche dell'ecosistema e degrado dell'ecosistema e salute umana

Come utilizzare gli ecosistemi per combattere il cambiamento climatico

La strategia europea e nazionale ha emanato una serie di norme e linee guida che consentono parzialmente di affrontare un nuovo percorso (strategia nazionale cambiamenti climatici, strategia nazionale biodiversità, la carta delle aree urbane, la direttiva quadro acque 2000/60/CE, la strategia marina ecc.).

Per l'elaborazione di politiche di tutela efficaci e condivise è fondamentale un processo partecipativo che coinvolga quanti più soggetti possibili, dai proprietari terrieri e dagli agricoltori, ai gestori delle risorse naturali e alle istituzioni, per arrivare fino al singolo cittadino (Cecchi & Mancini, 2005). Attivare un filo diretto volto alla comunicazione tra gli esperti il pubblico al fine di identificare in modo condiviso i rischi e benefici di un approccio olistico.

Modificando il modello di approccio mentale in cui l'uomo si considera parte integrante degli ecosistemi e ne comprende appieno i benefici non solo naturali ma anche di salute. È necessario quindi, un cambiamento di approccio in cui la salute degli ecosistemi è considerata strettamente collegata alla salute umana con una integrazione tra ricerca economia e politica (Pattanayak *et al.*, 2017).

Per l'elaborazione di politiche di tutela efficaci e condivise è fondamentale un processo partecipativo che coinvolga quanti più soggetti possibili, dai proprietari terrieri e dagli agricoltori, ai gestori delle risorse naturali e alle istituzioni, per arrivare fino al singolo cittadino (Cecchi & Mancini, 2006).

Esistono molti problemi di salute umana connessi a cause ambientali. Tra queste cause si possono individuare due categorie: la prima riguarda il ritardo nello sviluppo, inteso come incapacità di affrontare rischi naturali o inaccessibilità di risorse o servizi ambientali essenziali; la seconda è relativa allo sviluppo non sostenibile come causa di degrado dell'ecosistema. In questo quadro i principali elementi di analisi sono le modificazioni ambientali, le evoluzioni della società e la caratterizzazione dei rischi biologici e chimici cui è sottoposto l'ambiente. Le vecchie leggi economiche sono ispirate alla leggi della fisica di Newton, in particolare l'idea che le

dinamiche di mercato funzionano come la forza di gravità, tenendo l'intero sistema in equilibrio ha prodotto disuguaglianze e uno insostenibile sfruttamento delle risorse, economia rigenerativa, le risorse usate più volte, Economia Distributiva «Lo spazio entro cui l'umanità può operare sta all'interno di una ciambella, mangiando i bordi i bordi della quale (le risorse limitate) il collasso sarà repentino e inarrestabile» (Raworth, 2017).

Bibliografia

- Cecchi G, Mancini L. *Salute degli ecosistemi come priorità della gestione ambientale*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2006. (Rapporti ISTISAN 06/10).
- Cecchi G, Mancini L. Salute degli ecosistemi e salute umana. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* 2005;41(03):271-9.
- Costanza R, D'Arge R, De Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O'Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, Van Den Belt M. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 1997;387:253-60.
- Europa. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee* L 327/1, 22/12/2000.
- Karr JR, Chu EW. *Restoring life in running waters: better biological monitoring*. Washington, DC: Island Press; 1999.
- Odum EP. Profile analysis and some thoughts on the development of the interface area of environmental health. *Ecosystem Health* 1995;1:41-6.
- Odum EP. Trends expected in stressed ecosystems. *BioScience* 1985;35:419-22.
- Odum HT. *Environment, power and society*. New York: Wiley-Interscience; 1971.
- Odum HT. *Environment, Power, and Society for the Twenty-First Century: The hierarchy of energy*. New York: Columbia University Press; 2007.
- Pattanayak SK, Kramer RA, Vincent JR. Ecosystem change and human health: implementation economics and policy. *Philos Trans R Soc Lond B Sci* 2017;372(1722).
- Rapport DJ, Costanza R, McMichael AJ. Assessing ecosystem health. *Trends Ecol Evol* 1998;13(10):397-402.
- Rapport DJ, Lasley WL, Rolston DE, Nielsen NO, Qualset CO, Damania AB. (Eds.) *Managing for healthy ecosystems*. Boca Raton: Lewis Publishers; 2003.
- Raworth K. *L'economia della ciambella. Sette mosse per pensare come un economista del XXI secolo*. Milano: Edizioni Ambiente; 2007.
- Rieb JT, Chaplin-Kramer R, Daily GC, Armsworth PR, Böhning-Gaese K, Bonn A, Cumming GS, Eigenbrod F, Grimm V, Jackson BM, Marques A, Pattanayak SK, Pereira HM, Peterson GD, Ricketts TH, Robinson BE, Schröter M, Schulte LA, Seppelt R, Turner MG, Bennett EM. When, where, and how nature matters for ecosystem services: challenges for the next generation of ecosystem service models. *BioScience* 2017;67(9):820-33.
- Westra L, Lemons J. *Perspectives on ecological integrity*. Boston-London-Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1995.
- Westra L. *An environmental proposal for ethics: the principle of Integrity*. Maryland, Stati Uniti: Rowman and Littlefield Publishers; 1994.

EVOLUZIONE DEL TERRITORIO E DEL PAESAGGIO: IL CONSUMO DI SUOLO E L'IMPATTO SUI SERVIZI ECOSISTEMICI

Michele Munafò

Dipartimento per il Servizio Geologico d'Italia, Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale, Roma

Il quadro conoscitivo sul consumo di suolo nel nostro Paese è disponibile grazie alle attività di monitoraggio del Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (SNPA) formato da dall'Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale (ISPRA) dalle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente delle Regioni e delle Province autonome.

Il consumo di suolo in Italia è passato dal 2,7% stimato per gli anni '50 al 7,64% del 2016, con un incremento di 4,9 punti percentuali e una crescita percentuale del 184% (e con un ulteriore 0,22% di incremento negli ultimi sei mesi analizzati). In termini assoluti, il consumo di suolo ha superato nel 2016 il valore di 23.000 chilometri quadrati del nostro territorio che ormai risultano coperti artificialmente (ISPRA, 2017).

La percentuale italiana di consumo di suolo è quasi il doppio della media europea, nonostante le caratteristiche e la fragilità del nostro territorio. Un territorio che per un terzo è montano e che ha il 15% circa di superficie ricadente in zone a pericolosità idraulica o da frana. Insomma un territorio che avrebbe dovuto essere maggiormente tutelato.

Le aree più colpite risultano essere le pianure del Settentrione, dell'asse toscano tra Firenze e Pisa, del Lazio, della Campania e del Salento, le principali aree metropolitane, delle fasce costiere, in particolare di quelle adriatica, ligure, campana e siciliana.

Nel 2016, in 15 regioni viene superato il 5% di consumo di suolo, con il valore percentuale più elevato in Lombardia e in Veneto (oltre il 12%) e in Campania (oltre il 10%). Seguono Emilia-Romagna, Friuli Venezia Giulia, Lazio, Puglia e Liguria, con valori compresi tra l'8 e il 10%. La Valle d'Aosta è l'unica regione rimasta sotto la soglia del 3%.

La Lombardia detiene il primato anche in termini assoluti, con quasi 310 mila ettari del suo territorio coperto artificialmente (circa il 13% dei 2,3 milioni di ettari del consumo di suolo nazionale è all'interno della regione Lombardia), contro i 9.500 ettari della Valle D'Aosta.

Pur con una velocità ridotta, che oggi si attesta in circa 3 metri quadrati al secondo, il consumo di suolo continua ancora oggi ad aumentare, coprendo irreversibilmente aree naturali e agricole con asfalto e cemento, edifici e fabbricati, strade e altre infrastrutture, insediamenti commerciali, produttivi e di servizio.

Gli ultimi dati relativi all'impermeabilizzazione del suolo nei paesi europei mostrano come l'Italia, in termini di aumento annuale medio nel periodo 2009-2012 in percentuale rispetto al proprio territorio, abbia valori tra i più elevati (peggio dell'Italia fanno solo il Lichtenstein e Cipro), pari a quasi il doppio della Spagna, cinque volte la Germania e dieci volte la Francia (EEA, 2017).

Le conseguenze delle trasformazioni sul nostro fragile territorio sono evidenti, con l'aumento del rischio idrogeologico, la riduzione della produzione agricola e della capacità di regolare il clima e i processi naturali, l'aumento del degrado del suolo e del paesaggio, la perdita di biodiversità e di tutti quei servizi ecosistemici, fondamentali per la nostra esistenza e per il nostro benessere.

Ma questo consumo di suolo non possiamo permettercelo neanche dal punto di vista strettamente economico, come ci indica la Commissione Europea, alla luce della perdita

consistente di servizi ecosistemici e all'aumento di quei "costi nascosti", dovuti alla crescente impermeabilizzazione del suolo. Le stime ISPRA evidenziano come il consumo di suolo degli ultimi quattro anni abbia portato a maggiori costi, a causa di servizi ecosistemici non più assicurati da un territorio ormai artificializzato, che sono valutati tra i 600 e gli 900 milioni di Euro l'anno.

I dati evidenziano anche l'avanzare di fenomeni quali la diffusione, la dispersione, la decentralizzazione urbana da un lato e la densificazione di aree urbane dall'altro. Tali processi riguardano soprattutto le aree costiere mediterranee e le aree di pianura, mentre al contempo, soprattutto in aree marginali, si assiste all'abbandono delle terre e alla frammentazione delle aree naturali. La tendenza degli ultimi anni vede comunque l'incremento significativo di un processo, guidato prevalentemente dalla rendita urbana, di progressiva densificazione e saturazione degli spazi agricoli e naturali e di tutti quei "vuoti urbani" rimasti all'interno delle città, che sono essenziali per la qualità della vita dei cittadini, dell'ambiente e del paesaggio.

La tutela del suolo, del patrimonio ambientale, del paesaggio e il riconoscimento del valore del capitale naturale sono compiti e temi che ci richiama l'Europa, e sono ancor più fondamentali per noi, alla luce delle particolari condizioni di fragilità e di criticità del nostro Paese, rendendo urgente la definizione e l'attuazione di politiche, norme e azioni di radicale contenimento del consumo di suolo e la revisione delle previsioni degli strumenti urbanistici esistenti, spesso sovradimensionate rispetto alla domanda reale e alla capacità di carico dei territori.

Bibliografia

- EEA. *Imperviousness and imperviousness change*. Copenhagen: European Environment Agency; 2017. Disponibile all'indirizzo: <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/indicators/imperviousness-change-1/assessment>; ultima consultazione 15/04/2019.
- ISPRA. *Consumo di suolo, dinamiche territoriali e servizi ecosistemici*. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale; 2017. Disponibile all'indirizzo: <http://www.isprambiente.gov.it/it/pubblicazioni/rapporti/consumo-di-suolo-dinamiche-territoriali-e-servizi-ecosistemici>; ultima consultazione 15/04/19.

CAMBIAMENTI CLIMATICI IN AREA URBANA: CASI DI STUDIO IN ALCUNE CITTÀ ITALIANE

Cinzia Ferrari (a), Laura Mancini (a), Luca Avellis (a), Cristina Lavecchia (b), Samantha Pilati (b), Pamela Turchiarulo (b)

(a) Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Fondazione Osservatorio Meteorologico Milano Duomo, Milano

Cambiamenti climatici

I cambiamenti climatici sono un fenomeno ormai non più isolato, ma consolidato e destinato ad essere duraturo, e con conseguenze sempre più gravi (Mancini *et al.*, 2017).

Alluvioni, inondazioni, periodi di caldo intenso e ondate di gelo sono fenomeni sempre più frequenti anche alla nostra latitudine, da sempre rinomata per il clima mite e temperato.

Secondo l'*United Nations Framework Convention on Climate Change* (UNFCCC) che ha prodotto la Convenzione Quadro sul Cambiamento Climatico delle Nazioni Unite, il cambiamento climatico si definisce come un cambiamento del clima che sia attribuibile direttamente o indirettamente ad attività umane, che alterino la composizione dell'atmosfera planetaria e che si sommino alla naturale variabilità climatica osservata su intervalli di tempo analoghi. Il cambiamento climatico così definito deve essere misurabile, in prima analisi, attraverso variazioni sistematiche nelle grandezze statistiche delle variabili meteorologiche, che siano calcolate in un intervallo di tempo di diversi decenni e di norma almeno trentennale.

Una conseguenza dei cambiamenti climatici è il manifestarsi, sempre più frequentemente, di fenomeni identificati come ondate di calore (*heatwaves*).

Un'ondata di calore è definita in relazione alle condizioni climatiche di una specifica area e non è quindi possibile definire una temperatura-soglia di rischio valida a tutte le latitudini.

L'Organizzazione Mondiale della Meteorologia (*World Meteorological Organization*, WMO) non ha formulato una definizione standard di ondata di calore e, in diversi paesi, la definizione si basa sul superamento di valori soglia di temperatura definiti attraverso l'identificazione dei valori più alti del 95esimo percentile osservati nella serie storica dei dati registrati in una specifica area.

Oltre ai valori di temperatura e di umidità relativa, le ondate di calore sono definite dalla loro durata. È stato infatti dimostrato che periodi prolungati di condizioni meteorologiche estreme hanno un impatto sulla salute maggiore rispetto a giorni isolati con le stesse condizioni meteorologiche (McGregor *et al.*, 2015).

Fisiologia umana ed esposizione al calore

Quando un'eccessiva esposizione al calore travolge il meccanismo di dissipazione del calore, la temperatura del corpo aumenta. L'incremento anche piccolo (1°C) della temperatura è immediatamente percepito dai termorecettori disseminati sull'epidermide, nei tessuti e negli organi. I termorecettori convogliano tali informazioni all'ipotalamo (centro di termoregolazione) che innesca due potenti risposte per aumentare la dissipazione del calore: una attiva vasodilatazione cutanea, mediante l'inibizione dei centri responsabili della vasocostrizione e l'inizio della sudorazione.

La vasodilatazione cutanea porta ad un marcato aumento del flusso sanguigno alla pelle e della gittata cardiaca a scapito di altri grandi letti vascolari.

Queste regolazioni cardiovascolari, per accelerare il trasporto di calore dal centro alla periferia per la dissipazione verso l'ambiente circostante, costituisce un grave stress per il sistema cardiovascolare, specialmente in caso di processi patologici in corso. L'inizio della sudorazione si traduce nella produzione fino a due litri all'ora di sudore, ricco di sodio e potassio; questo pone ulteriore stress sul sistema cardiovascolare nel volume del plasma se non è adeguatamente ripristinato, per esempio, dall'assunzione di liquidi.

I fenomeni che insorgono per un'esposizione ad un caldo eccessivo, possono andare dal rash cutaneo, all'edema, alla sincope, ai crampi, fino ad arrivare al "colpo di calore", che in alcuni casi può essere fatale.

Le azioni mitigative che possono essere intraprese nel caso di esposizione al caldo eccessivo vanno tutte nella direzione di abbassare la temperatura corporea e reintegrare i liquidi persi, per via orale o per fusione a seconda della gravità.

L'organismo umano ha, però, la capacità di "adattarsi" alle situazioni estreme: l'acclimatazione, ovvero una risposta adattiva all'ambiente estremo (caldo o freddo) in cui l'individuo "impara" a tollerare meglio l'esposizione all'eccessivo calore. L'acclimatazione necessita di circa sei settimane e coinvolge i sistemi cardiovascolare, endocrino e renale. È un fenomeno reversibile che viene perso alcune settimane dopo la cessazione dell'esposizione.

Indici bioclimatici

La temperatura da sola, non può essere considerata un buon indicatore per descrivere l'ambiente termico in cui l'essere umano vive e opera; sono stati messi a punto diversi indicatori, ognuno con uno specifico ambito di applicazione, che prendono in considerazione due o più parametri per descrivere le complesse condizioni in cui avvengono gli scambi di calore tra il corpo umano e il suo ambiente termico.

Tra i tanti messi a punto dagli esperti, si possono annoverare:

- *Heat Index* (HI): combina temperatura dell'aria e umidità relativa per determinare una temperatura apparente, quando temperatura e umidità superano determinate soglie, utilizzato negli USA;
- *Net Effective Temperature* (NET): prende in considerazione gli effetti della temperatura dell'aria, della velocità del vento e dell'umidità relativa, utilizzato nell'est asiatico;
- *Wet-Bulb Globe Temperature* (WBGT): combina temperatura e umidità in un unico valore ed è influenzato dalla velocità del vento e dalla radiazione; necessita per il calcolo di un globotermometro (per il calcolo della radianza). È utilizzato negli ambienti di lavoro, per determinare il rischio microclimatico di lavoratori esposti.

Infine, si descrive l'indice bioclimatico utilizzato nell'elaborazione dei dati rilevati dalla rete Climate Network®: Humidex.

Tale indice è stato messo a punto dai meteorologi canadesi e utilizzato per la prima volta nel 1965; descrive come condizioni ambientali calde e umide interagiscono con la popolazione media e combina temperatura e umidità in un numero che riflette la temperatura percepita:

$$H = T + \frac{5}{6} \times \left(6.11 \times \frac{RH}{100} \times 10^{\frac{7.5T}{237.7+T}} - 10 \right)$$

- per valori < 29 non si percepisce un effetto;
- da 30 a 34 si percepisce qualche malessere;

- da 35 a 39 il malessere è percepito in maniera più marcata;
- da 40 a 45 grande malessere;
- per valori > 45 pericolo per la salute;
- per valori superiori a 54 il colpo di calore, spesso fatale, è imminente.

Per valori intorno a 30-35, alcune attività all'aria aperta dovrebbero essere attenuate o modificate, a seconda dell'età e della salute dell'individuo, della forma fisica, del tipo di abbigliamento indossato e delle condizioni meteorologiche.

Un valore di Humidex "alto" è definito superiore a 40°C; in queste condizioni le attività non necessarie devono essere ridotte/eliminate.

Variazioni climatiche in aree urbane

In questo capitolo sarà presentato il risultato di uno studio volto a evidenziare da una parte la tendenza, nel corso degli ultimi decenni, all'aumento delle temperature nelle principali città italiane; dall'altra finalizzato a mettere in luce come, per valutare gli effetti delle ondate di calore sulla salute umana, sia fondamentale tenere in considerazione non solo la temperatura, ma l'interazione di più parametri meteorologici, come ad esempio temperatura e umidità relativa.

Una prima elaborazione è stata basata sulla comparazione di dati meteoclimatici delle città di Milano, Roma, Napoli, Bologna, Bari e Palermo: sono stati confrontati i dati di stazioni aeroportuali, normalmente collocate in zone periferiche, con le serie storiche provenienti da stazioni meteorologiche situate nel centro urbano.

I dati raccolti nel periodo 2001-2016, sono stati confrontati con le serie CLImatological NOrmals (CLINO) 1961-1990 e 1971-2000: è stato evidenziato che dal 1961 al 2016, in entrambe le tipologie di stazioni (centrali e periferiche) e per tutte le città esaminate, la temperatura è tendenzialmente aumentata e l'aumento è stato maggiore nelle stazioni posizionate in centro città; in particolare, la città che evidenzia la maggiore crescita progressiva delle temperature, sia in centro che in periferia, è Milano.

Inoltre, per quantificare il riscaldamento delle aree urbane, è stata analizzata la media mobile dei dati di temperatura raccolti in un periodo di 30 anni, dal trentennio 1961-1990 a quello 1987-2016: l'analisi ha evidenziato che la temperatura è aumentata da Nord a Sud, ma con gradienti di crescita differenti, più elevati per Milano e Bologna, più ridotti per Bari e Napoli (Lavecchia *et al.*, 2017).

In una seconda elaborazione sono stati utilizzati i dati di temperatura e umidità rilevati da 14 delle 50 stazioni della rete di monitoraggio, privata, Climate Network® (Frustaci *et al.*, 2017), realizzata a partire dal 2010 dalla Fondazione Osservatorio Meteorologico Milano Duomo (FOMD); la FOMD si occupa di ricerca scientifica, sensibilizzazione e comunicazione nel campo della meteorologia e della climatologia applicate al contesto sociale, produttivo ed economico.

Sono stati quindi presi in considerazione i valori di temperatura e umidità relativa e sono stati elaborati per ottenere l'indice bioclimatico Humidex nel periodo giugno-agosto 2017, corrispondente all'estate meteorologica. In Tabella 1 sono riportati, per le diverse stazioni considerate, il numero di giorni e ore con Humidex ≥ 40 (corrispondenti quindi ad un pericolo per la salute umana), insieme ai valori massimi orari dell'indice, della temperatura e dell'umidità. In Figura 1, invece, è rappresentato il grafico dei dati riportati in Tabella 1, che ne rende più immediata la lettura. Dalla tabella e dal grafico conseguente, è possibile notare che Bologna e Faenza sono le città dove più frequentemente l'Humidex orario ha superato il valore critico di 40 e, inoltre, sono anche le città dove si registrano i valori massimi assoluti più elevati dell'indice, nonostante Napoli abbia il maggior valore di umidità relativa registrato nel trimestre estivo; il record di temperatura massima, invece, è sempre di Faenza. Significativo, inoltre, il caso di

Venezia: nonostante la temperatura massima assoluta sia stata di “soli” 34,5°C, ben inferiore a quella di altre città, il numero di ore con superamento della soglia critica di Humidex è stato comunque elevato.

Tabella 1. Humidex, temperatura e umidità estate meteorologica 2017 (giugno-agosto)

Città	Giorni con Humidex $\geq 40^{\circ}\text{C}$	N. ore Humidex $\geq 40^{\circ}\text{C}$	Humidex orario massimo assoluto ($^{\circ}\text{C}$)	Temperatura oraria massima assoluta ($^{\circ}\text{C}$)	Umidità relativa oraria massima assoluta (%)
Milano Centro	6	22	41,3	37,8	84,7
Milano Bicocca	6	28	41,3	37,8	83,6
Torino	1	6	41,5	35,0	86,1
Genova	0	0	36,5	32,6	83,3
Venezia	3	16	41,5	34,5	85,0
Bologna	9	51	43,8	40,2	86,3
Faenza	10	45	44,3	41,1	83,9
Firenze Centro	5	15	42,7	40,9	79,5
Firenze Est	3	12	42,2	40,2	84,7
Roma Mazzini	3	7	41,7	38,1	86,3
Roma Termini	4	8	42,3	38,2	80,2
Napoli	3	8	41,0	35,6	87,5
Lecce	6	21	42,5	39,6	81,7
Palermo	4	10	41,4	39,5	80,7

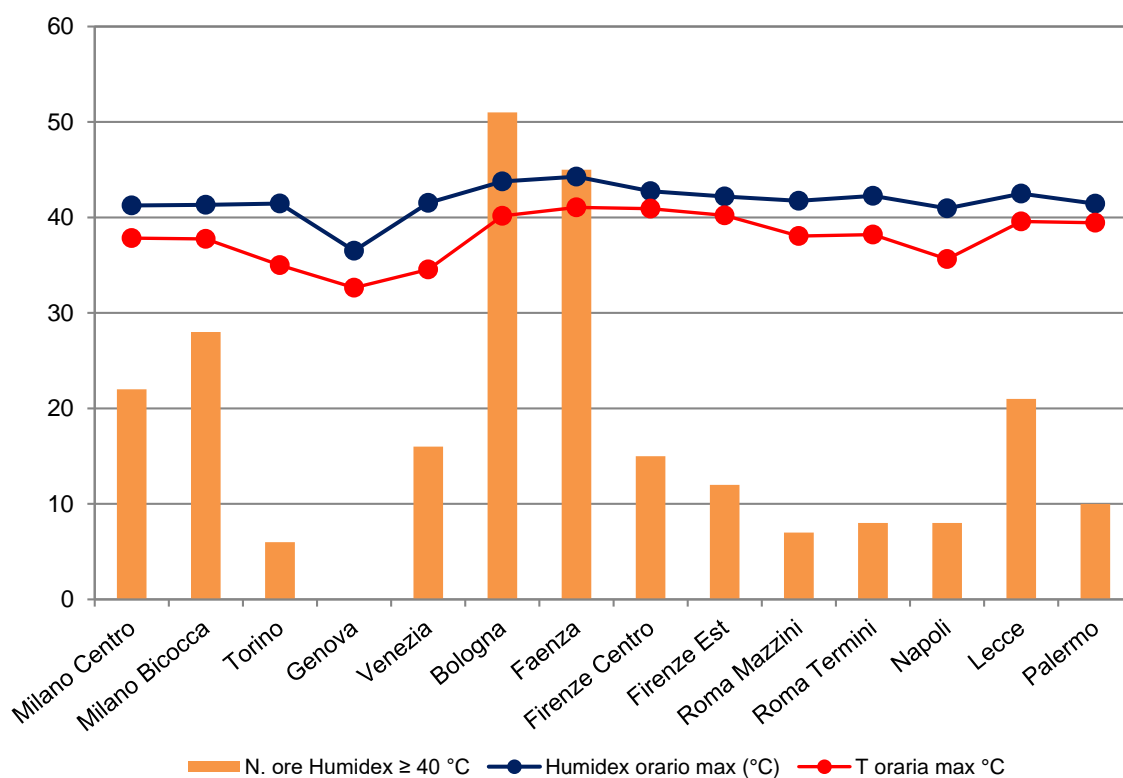


Figura 1. Estate meteorologica 2017 (giugno-agosto)

Dalle elaborazioni condotte, è possibile concludere che, purtroppo, la temperatura media delle nostre città ha subito un incremento negli ultimi 30 anni, ma il valore della temperatura, quasi sempre utilizzato da solo come indicatore, non descrive in maniera esaustiva l'impatto che hanno le condizioni climatiche sulla salute umana.

Bibliografia

- Frustaci G, Curci S, Pilati S, Lavecchia C, Paganelli C. The AWS based operational urban network in Milano: achievements and open questions, International Conference on Automatic Weather Stations (ICAWS) 2017. Disponibile all'indirizzo: https://www.wmo.int/pages/prog/www/IMOP/AWS-conference/Papers/Topic_1/O1_8_Frustaci_The%20AWS%20based%20operational%20urban%20network%20in%20Milano.pdf. Ultima consultazione 15/04/2019.
- Lavecchia C, Pilati S, Turchiarulo P, Mancini L, Avellis L, Ferrari C. A meteorological monitoring network to investigate climate change in towns. In: *19th International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region. Book of abstracts*; October 4-6, 2017; Rome; 2017. p. 36. Disponibile all'indirizzo: http://www.mesaep.org/fileadmin/MESAEP/PDF/2017/MESAEP2017_Book_of_abstracts.pdf; ultima consultazione 27/05/2019.
- Mancini L, Marcheggiani S, Puccinelli C, Lacchetti I, Carere M, Bouley T. Global environmental changes and the impact on ecosystems and human health. *Energia, Ambiente, Innovazione* 2017;3:98-105.
- McGregor GR, Bessemoulin P, Ebi K, Menne B (Ed.). *Heatwaves and Health: Guidance on Warning-System Development*. Geneva: World Meteorological Organization, World Health Organization; 2015. (WMO - N 1142). Disponibile all'indirizzo: http://www.who.int/globalchange/publications/WMO_WHO_Heat_Health_Guidance_2015.pdf; ultima consultazione 16/04/2019.

CONTAMINANTI EMERGENTI NEGLI ECOSISTEMI ACQUATICI

Mario Carere, Margherita Corti, Kevin Di Domenico, Walter Cristiano
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Premessa

Il tema dei contaminanti emergenti rappresenta uno dei problemi attuali più importanti in ambito ambientale: gran parte delle molteplici sostanze chimiche immesse nell'ambiente non vengono monitorate e la loro diffusione, interazione ed effetti sugli ecosistemi sono poco conosciuti. In particolare la loro presenza negli ambienti acquatici può causare effetti inaccettabili per gli ecosistemi e anche indirettamente per la salute umana attraverso il consumo di prodotti della pesca, acqua potabile e il riutilizzo. I contaminanti emergenti comprendono diverse classi di sostanze chimiche tra cui i farmaci, nano materiali, microplastiche, pesticidi, ritardanti di fiamma, composti perfluorurati, prodotti cosmetici e molti altri, generalmente le concentrazioni di tali sostanze non sono abbattute negli impianti di depurazione delle acque reflue.

Per quanto riguarda la normativa europea nell'ambito della Direttiva Quadro Acque (Direttiva 2000/60/CE) (Europa, 2000) è prevista un'attività di monitoraggio importante attraverso l'individuazione di un elenco di controllo di contaminanti emergenti per il quale vige l'obbligo di effettuare delle valutazioni di rischio sulla base di dati confrontabili.

A livello di ricerca diversi progetti europei stanno affrontando tale tematica sottolineando sempre più la necessità di affiancare alle analisi chimiche, metodi ecotossicologici e biologici per poter rilevare gli effetti presenti negli ecosistemi.

Introduzione

Il tema dei contaminanti emergenti rappresenta uno dei problemi più importanti attuali in ambito ambientale. Gran parte delle molteplici sostanze chimiche immesse nell'ambiente non vengono monitorate e la loro diffusione, interazione ed effetti sugli ecosistemi sono poco conosciuti (Mandaric *et al.*, 2015). In particolare la loro presenza negli ambienti acquatici può causare effetti inaccettabili per gli ecosistemi e anche indirettamente per la salute umana attraverso il consumo di prodotti della pesca acqua potabile e il riutilizzo, tali sostanze infatti oltre a causare effetti a basse dosi, possono essere presenti in miscele e quindi aumentare il loro potenziale di tossicità ed ecotossicità (Colborn *et al.*, 1993). Il Norman Network (*Network of references laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances*) è un network europeo che si occupa di aspetti di ricerca e di controllo dei contaminanti emergenti nell'ambiente ed ha individuato quella che si ritiene essere la definizione più completa e attuale "Contaminanti che non sono inclusi attualmente in programmi routinari di monitoraggio a livello europeo e/o nazionale e che possono essere candidabili per una loro futura regolamentazione sulla base della loro ecotossicità, potenziali effetti sulla salute, percezione pubblica e sulla base di dati di monitoraggio riguardanti la loro frequenza nei vari comparti ambientali".

Alcune classi di contaminanti emergenti che sono stati rilevati negli ambienti acquatici (Mandaric *et al.*, 2015) nell'ultimo decennio sono:

- Tossine algali;
- Biocidi;
- Disinfettanti;
- Droghe;
- Ritardanti di fiamma;
- Sostanze chimiche di origine industriale;
- Nanomateriali (organici e inorganici);
- Sostanze perfluorate;
- Prodotti per la cura delle persone (es. cosmetici, creme solari, fragranze);
- Farmaci ad uso umano e veterinario;
- Pesticidi e loro metaboliti;
- Plastificanti;
- Surfattanti;
- Microplastiche.

La diffusione di tali contaminanti è talmente rilevante che ad esempio in uno studio effettuato dal Joint Research Centre (JRC) della Commissione Europea (Loos *et al.*, 2013) su diversi effluenti di impianti di depurazione è risultato che tra le classi di contaminanti organici sono stati rilevati dolcificanti, ritardanti di fiamma, plastificanti, composti farmaceutici, antibiotici, biocidi, caffeina, sostanze perfluoroalchiliche (PFAS); tali contaminanti sono stati rilevati in concentrazioni variabili da pochi nanogrammi, fino a diversi mg/L. Come si può intuire le fonti di inquinamento degli ambienti acquatici da parte dei contaminanti emergenti sono molteplici e comprendono certamente le emissioni dei reflui urbani in quanto ad esempio gruppi di composti quali i cosmetici, lozioni, creme solari, farmaci, antibiotici anche ad uso veterinario a seguito del loro utilizzo finiscono nella rete di depurazione e poi direttamente nei corpi idrici in quanto spesso i sistemi di trattamento non riescono ad abatterli perché sono stati progettati per abbattere i patogeni e i contaminanti che sono adsorbiti ai solidi sospesi (Pomiès *et al.*, 2013). In genere i contaminanti emergenti sono composti polari persistenti che tendono anche ad essere estremamente solubili con possibili rischi anche di possibilità di presenza nelle reti idropotabile. Il caso relativo alla contaminazione di PFAS in Veneto in Italia è un esempio emblematico di come un contaminante emergente possa causare un impatto rilevante sugli ecosistemi e la salute umana (Valsecchi *et al.*, 2016).

Farmaci nell'ambiente

Tra i gruppi di contaminanti emergenti più importanti troviamo i farmaci i quali possono ad esempio rappresentare un rischio per gli ambienti acquatici a causa delle loro proprietà di interferenza endocrina (Zenker *et al.*, 2014), sono usati ovunque nel mondo e le loro proprietà di lipofilità, solubilità e la loro capacità di interagire con i sistemi biologici per esercitare la loro azione terapeutica fa sì che tali proprietà possono a sua volta causare potenziali effetti avversi acuti e cronici agli ecosistemi acquatici. Il numero di prodotti farmaceutici autorizzati a livello nazionale in ambito europeo varia da 850 a 3000. A seguito della loro somministrazione i farmaci possono essere escreti via il fegato o il rene ad esempio come una miscela di composti parentali e metaboliti che sono più polari e idrofilici del farmaco originario. Tali miscele di farmaci sono poi difficilmente rimovibili nei normali impianti di depurazione e finiscono nei corpi idrici superficiali e sotterranei. Tra i farmaci maggiormente rilevati nei corpi idrici troviamo gli

antiinfiammatori (es. diclofenac o ibuprofene), gli antibiotici (es. eritromicina, azitromicina), i beta bloccanti (metoprolol), i regolatori lipidici (gemfibrozil), gli antidepressivi (fluoxetina), antiepilettici (carbamazepina), diuretici, antidiabetici, protettori gastrici, ormoni sintetici (es. alfa estradiolo) e altri. Alcuni di questi composti possono avere anche proprietà di bioaccumulo e quindi potenzialmente avere la capacità di entrare nelle catene trofiche acquatiche o terrestri. Sono molteplici gli studi di letteratura scientifica e i progetti in cui si rilevano farmaci nei corpi idrici a concentrazioni superiori alle PNEC (*Predicted No Effect Concentrations*) (Johnson *et al.*, 2013). La Commissione Europea a tale proposito ha proposto una strategia europea per poter contrastare il fenomeno della contaminazione dell'ambiente da parte dei farmaci attraverso diverse azioni specifiche che possano essere intraprese dai diversi stati membri, tra queste ad esempio la necessità di produzione di farmaci meno impattanti sull'ambiente, maggiori fondi per la ricerca in relazione alla conoscenza degli effetti sull'ambiente, incentivi per migliorare i trattamenti depurativi, uno smaltimento sostenibile dei prodotti farmaceutici, l'integrazione di politiche ambientali e sanitarie.

Contaminanti emergenti nella Direttiva Quadro Acque

Una normativa a livello europeo che ha intrapreso un'azione di contrasto al fenomeno dell'inquinamento degli ambienti acquatici causato dai contaminanti emergenti è sicuramente la Direttiva Quadro Acque, nell'ambito di tale direttiva lo stato chimico buono dei corpi idrici superficiali è rappresentato dalla conformità delle concentrazioni rilevate di un elenco di sostanze chimiche prioritarie con gli standard di qualità ambientali che sono concentrazioni protettive per la salute umana e per l'ambiente. Tale lista di sostanze prioritarie viene costantemente aggiornata attraverso studi di valutazione semplificata del rischio che tengono conto delle caratteristiche tossicologiche ed ecotossicologiche delle sostanze, ma anche dei dati di monitoraggio e di esposizione. Il problema principale dei contaminanti emergenti è quello che non essendo monitorati, non possono essere nemmeno valutati e quindi la Commissione Europea ha deciso di intraprendere un meccanismo denominato watch-list per poter ottenere dati confrontabili a livello europeo. La Watch-List rappresenta un elenco di controllo di contaminanti emergenti per i quali gli Stati Membri hanno l'obbligo di effettuare dei monitoraggi in stazioni rappresentative con metodi analitici intercalibrati e con limiti di quantificazione adeguati. Il primo elenco è stato pubblicato con la decisione (Carere *et al.*, 2015; Europa, 2015)

Tabella 2. Elenco di controllo Direttiva Quadro Acque

Contaminante emergente	Uso
17-Alpha-etinilestradiolo (EE2)	Pillola contraccettiva
17-Beta-estradiolo (E2), Estrone (E1)	Ormone estrogenico
Diclofenac	Antinfiammatorio
2,6-Di-terz-butil-4-metilfenolo	Antiossidante
4-metossicinnamato di 2- etilesile	Filtri creme solari
Antibiotici Macrolidi (eritromicina, claritromicina, azitromicina)	Antibiotici ad uso umano e veterinario
Metiocarb	Pesticida
Neonicotinoidi (Imidacloprid, Thiacloprid, Thiamethoxam, Clothianidin, Acetamiprid)	Pesticidi
Ossadiazone	Pesticida
Triallato	Pesticida

Nell'ultima riunione del gruppo di Coordinamento Strategico della direttiva quadro acque dell'8 febbraio 2018 si è anche deciso di aggiungere gli antibiotici amoxicillina e ciprofloxacina in quanto tale controllo risulta anche fondamentale nell'ambito della conoscenza della diffusione e della frequenza del fenomeno globale dell'antibiotico resistenza.

Contaminanti emergenti e cambiamenti climatici: il progetto FRAME

Il tema dei contaminanti emergenti è strettamente collegato a quello dei cambiamenti climatici in quanto gli effetti causati quali ad esempio l'aumento di aree con scarsità d'acqua fa sì che ci sia sempre più la necessità di elaborare misure di gestione e adattamento che prevedano il ricorso al riutilizzo di acque reflue urbane, ma tali acque possono contenere all'interno contaminanti emergenti i cui rischi devono essere valutati e controllati. In tale contesto il progetto europeo Water JPI (*Joint Programme Initiative*) FRAME (*A novel FRamework to Assess and Manage contaminants of Emerging concern in indirect potable reuse*) rappresenta un esempio di valutazione del rischio da contaminanti emergenti nell'ambito di progetti e azioni che prevedono il riutilizzo indiretto ad uso potabile. Tale forma di riutilizzo prevede la presenza di un buffer ambientale necessario per attenuare e ridurre le concentrazioni degli inquinanti prima del loro passaggio nella falda e poi nella rete idrica potabile, tali buffers possono essere suoli o anche bacini acquatici. Il progetto FRAME, in cui l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha avuto un ruolo di primo piano nel coordinamento di un work package relativo alla valutazione del rischio e all'implementazione della normativa, ha previsto infatti l'analisi di contaminanti emergenti quali farmaci, pesticidi e metaboliti, PFAS, antibiotici, sottoprodotti di disinfezione dell'acqua in diverse fasi dei trattamenti depurativi ed ha individuato le migliori tecnologie di trattamento adatte ad abbattere tali contaminanti. La novità importante del progetto FRAME è che il rischio della presenza di contaminanti chimici emergenti non viene controllato solamente attraverso l'analisi chimica, ma anche attraverso l'uso di saggi biologici *in vivo* e *in vitro*, in particolare è stato previsto l'uso di embrioni di zebrafish per rilevare effetti causati da miscele, l'uso di saggi *in vitro* per rilevare effetti di sostanze ad azione estrogenica e test genetici quali quello di Ames per individuare sostanze genotossiche.

Futuri sviluppi e conclusioni

I contaminanti emergenti negli ecosistemi rappresentano un potenziale rischio per la salute umana e per l'ambiente (es. PFAS) e i cambiamenti climatici possono accentuare tali rischi (es. scarsità d'acqua) sono necessarie quindi metodologie e strategie adeguate in modo da ridurre l'impatto di questa problematica. Tali azioni devono comprendere quindi misure di contenimento a tutti i livelli per limitarne la diffusione, ma per far ciò è necessario avere una conoscenza adeguata del possibile rischio. I contaminanti emergenti immessi negli ecosistemi acquatici sono molteplici e quindi i costi di monitoraggio chimico sono sempre più elevati, inoltre non è possibile monitorare tutti gli inquinanti chimici presenti nei corpi idrici che oltretutto formano miscele il cui rischio è difficilmente quantificabile. A tal fine è sempre più in uso l'utilizzo di monitoraggi basati sugli effetti che possano quindi rilevare i modi di azione dei diversi gruppi di sostanze chimiche nell'ambiente (Wernersson *et al.*, 2015) e quindi, come si è anche visto nel progetto FRAME, per quanto riguarda i controlli e i monitoraggi il suggerimento è quello di utilizzare per il monitoraggio degli ambienti acquatici anche tecniche biologiche, ecotossicologiche,

bioanalitiche e in tale contesto quindi l'uso di saggi *in vitro*, *in vivo*, l'applicazione di *biomarker* e biosensori sono sicuramente fondamentali come strumenti di screening e anche di attenzione (*early warning*) in modo da poter prevenire gli effetti avversi negli ecosistemi. In conclusione le azioni intraprese e descritte in questo articolo nell'ambito della Direttiva Quadro Acque (*watch list*), del progetto europeo FRAME e della strategia europea dei farmaci rappresentano sicuramente alcuni esempi importanti di azioni di gestione della problematica.

Bibliografia

- Carere M, Polesello S, Kase R, Gawlik BM. The emerging contaminants in the context of the EU Water Framework Directive. In: M. Petrovic, S. Sabater, A. Elosegi, & D. Barceló (Eds.). *The handbook of environmental chemistry. Emerging Contaminants in River Ecosystems. Occurrence and effects under multiple stress conditions*. Cham: Springer International Publishing; 2015; 46.
- Colborn T, Vom Saal FS, Soto AM. Developmental effects of endocrine disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect* 1993;101:378.
- Europa. Decisione di esecuzione (UE) 2015/495 della Commissione del 20 marzo 2015 che istituisce un elenco di controllo delle sostanze da sottoporre a monitoraggio a livello dell'Unione nel settore della politica delle acque in attuazione della direttiva 2008/105/CE del Parlamento europeo e del Consiglio. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 78, 24.3.2015
- Europa. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 327, 22.12.2000.
- Johnson AC, *et al.* Do concentrations of ethinylestradiol, estradiol, and diclofenac in European rivers exceed proposed EU environmental quality standards? *Environ Sci Technol* 2013;47(21):12297-304.
- Loos R, Carvalho R, António DC, Comero S, Locoro G, Tavazzi S, Paracchini B, Ghiani M, Lettieri T, Blaha L, Jarosova B, Voorspoels S, Servaes K, Haglund P, Fick J, Lindberg RH, Schwesig D, Gawlik BM. EU-wide monitoring survey on emerging polar organic contaminants in wastewater treatment plant effluents. *Water Res* 2013;47(17):6475-87.
- Mandarić L, Celic M, Marcè R, Petrovic M. Introduction on emerging contaminants in rivers and their environmental risk. In: Petrovic M, Sabater S, Elosegi A, Barceló D (Ed.). *Emerging contaminants in river ecosystems: occurrence and effects under multiple stress conditions*. Cham: Springer International Publishing; 2016. p. 3-25.
- Pomiès M, Choubert JM, Wisniewski C, Coquery M. Modelling of micropollutant removal in biological wastewater treatments: a review. *Sci Total Environ* 2013;443:733-48.
- Valsecchi, S, Conti D, Crebelli R, Polesello S, Rusconi M, Mazzoni M, Preziosi E, Carere M, Lucentini L, Ferretti E, Balzamo S, Simeone M.G, Aste F. Deriving environmental quality standards for perfluorooctanoic acid (PFOA) and related short chain perfluorinated alkyl acids. *J Hazard Mater* 2017; 323(PtA):84-98.
- Wernersson AS, Carere M, *et al.* The European technical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. *Environmental Sciences Europe* 2015; 27(7):1-11.
- Zenker A, Cicero MR, Prestinaci F, Bottoni P, Carere M. Bioaccumulation and Biomagnification potential of pharmaceuticals with a focus to the aquatic environment. *Journal of Environmental Management* 2014;133C:378-87.

CAMBIAMENTI CLIMATICI E IMPATTO SULLE RISORSE IDRICHE

Serena Bernabei, Marilena Insolubile

Dipartimento di Tutela delle Acque Interne e Marine, Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale, Roma

Lo studio dell'andamento delle temperature e degli altri indicatori legati ai cambiamenti climatici rivestono oggi un ruolo fondamentale per valutare gli inevitabili impatti sulle risorse idriche.

Il 2016 è stato l'anno più caldo a livello globale sia della serie di temperature medie annuali sulla terraferma (con uno scarto di 0,10°C dal precedente record del 2015) sia della serie comprensiva di continenti e oceani (con uno scarto di 0,04°C dal precedente record 2015) (ISPRA, 2017). L'anomalia della temperatura media globale sulla terraferma, rispetto al trentennio climatologico 1961-1990, è stata di +1,31°C. I 18 anni più caldi dell'intera serie storica sono il 1998 e tutti gli anni successivi al 2000. Con il 2016, la temperatura media annuale globale segna un nuovo record della serie per il terzo anno consecutivo. I primi otto mesi dell'anno sono stati i più caldi delle rispettive serie, mentre gli altri 4 si collocano tra i 5 mesi più caldi delle rispettive serie. Ciò è probabilmente connesso alla presenza di intense anomalie di temperatura superficiale dell'oceano nel Pacifico tropicale. La presenza di tali anomalie riduce considerevolmente i flussi di calore tra atmosfera e oceano ai tropici, diminuendo la quantità di calore che gli stessi oceani riescono ad assorbire dall'atmosfera a quelle latitudini e determinando così un aumento della temperatura atmosferica globale.

Nello stesso anno non sono mancati eventi di forte intensità, anche prolungati, come quelli che hanno colpito la Liguria e il Piemonte nella terza decade di novembre. Tuttavia, la caratteristica più rilevante del 2016 è stata forse la persistenza di condizioni siccitose, parzialmente alleviate dalle piogge primaverili che hanno agevolato la gestione delle risorse idriche. La seconda parte del 2016 è stata caratterizzata da periodi prolungati di carenza o addirittura assenza di piogge su diverse aree del territorio nazionale, che a fine anno hanno riportato le risorse idriche generalmente su livelli molto bassi.

Le precipitazioni cumulate annuali del 2016 in Italia sono state complessivamente inferiori alla media climatologica del 6% circa.

Il Mediterraneo è considerato un'area molto sensibile ai cambiamenti climatici e già oggi vi sono problemi sulla risorsa idrica: piove meno e le precipitazioni nevose diminuiscono. I regimi fluviali diventano meno stabili durante l'anno e aumentano i periodi siccitosi. Nonostante piova di meno, le precipitazioni sono molto intense e aumentano le frane, gli smottamenti e le inondazioni.

L'aumento delle temperature ha avuto conseguenze rilevanti su molte specie animali e vegetali, sia terrestri che acquatiche, che negli ultimi decenni hanno modificato i propri areali di distribuzione, spostandosi verso nord nell'emisfero boreale e/o verso altitudini maggiori nelle zone montane.

Non tutte le specie rispondono allo stesso modo al riscaldamento globale, con il rischio di sfasamento ("mismatch") fra le varie componenti delle comunità biologiche naturali, possibile perdita di biodiversità e cambiamento radicale, o eventualmente collasso, di alcuni ecosistemi.

Questo problema è amplificato dalla attuale forte frammentazione degli habitat naturali dovuta ad ostacoli di origine antropica (città, autostrade e linee ferroviarie, alvei fluviali artificiali), che

possono impedire gli spostamenti di piante e animali e indurre estinzioni locali o globali di molte specie.

Profondi cambiamenti sono stati anche osservati nel Mar Mediterraneo. L'analisi dei dati di temperatura superficiale del mare, ottenuta dalle ricostruzioni dei dati disponibili, ha evidenziato che la temperatura media del bacino è aumentata di circa 0,004°C/anno nei 135 anni fra il 1871 e il 2006, in analogia con l'aumento osservato globalmente.

I dati degli ultimi 30 anni, che hanno una distribuzione più omogenea, evidenziano un aumento di 0,7°C, contro 0,3°C dell'oceano globale.

Recenti analisi hanno mostrato che negli ultimi 40 anni c'è stata una riduzione di circa il 20% dell'apporto fluviale verso il Mar Mediterraneo, con conseguenze sia sulla salinità sia sulla concentrazione di nutrienti. In particolare, la successiva diminuzione di nutrienti disponibili ha influito negativamente sulla produzione primaria lungo la fascia costiera Mediterranea.

I cambiamenti climatici stanno producendo una serie di effetti sul ciclo idrologico. Variazioni di temperatura, evaporazione e precipitazione hanno evidenti ricadute sui deflussi, sull'umidità dei suoli e sulla ricarica degli acquiferi. La modifica dei valori medi, ma anche e soprattutto la variabilità e gli eventi estremi producono effetti notevoli sul ciclo idrologico. Infatti, le alterazioni attese della distribuzione dei parametri climatici, sia a scala di evento sia di andamento stagionale, possono determinare importanti mutamenti del processo idrologico.

In termini di proiezioni future, l'IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*) (IPCC, 2007; IPCC, 2013) prevede per la regione Mediterranea un innalzamento delle temperature e una contemporanea contrazione delle precipitazioni (specie nel periodo estivo), inducendo un effetto di estremizzazione dei caratteri tipici del clima. Ciò potrà dar luogo al contemporaneo acuirsi, nelle diverse stagioni, dei fenomeni estremi di siccità e di piogge intense in grado di incrementare il rischio idrogeologico.

In termini di impatti, ci si dovrà quindi aspettare una diminuzione dei deflussi superficiali nei corsi d'acqua e di quelli profondi che ricaricano gli acquiferi. A ciò sarà anche legata una contrazione del contenuto idrico medio dei suoli nel periodo estivo, dovuto soprattutto alla scarsità di piogge e a un possibile aumento dell'evaporazione; tuttavia a un tale iniziale aumento, fa seguito un incremento della copertura nuvolosa con una probabile diminuzione della circolazione dei venti. Allo stato attuale delle conoscenze non è sempre prudente fornire stime quantitative dei fenomeni attesi in termini di variazioni percentuali delle diverse variabili climatiche e idrologiche, ma ciò che è evidente sono i fenomeni di retroazione (feedback) che questi comportano sul ciclo idrologico, tali da determinare effetti sinergici potenzialmente negativi. Ad esempio si può citare che un suolo più secco si riscalda più facilmente, aumentando quindi lo stress per la vegetazione e si lascia penetrare più lentamente da piogge intense; questo limita la capacità di accumulo, riducendo ulteriormente il contenuto idrico che a sua volta limita lo sviluppo della vegetazione, determinando condizioni favorevoli alla desertificazione con riduzione della biodiversità del sistema.

Gli ecosistemi di acque interne sono particolarmente esposti agli effetti dei cambiamenti climatici in quanto, essendo componenti particolarmente reattivi del ciclo idrologico, sono soggetti alle sue perturbazioni. Nel contempo, sono sottoposti a marcate pressioni dovute alla crescente domanda idrica che, a sua volta, è correlata ai cambiamenti climatici. Infine, le deposizioni umide intense possono provocare eventi idrologici estremi che spesso sono causa del dissesto idrogeologico e della perdita di habitat e di specie che sono alla base del funzionamento degli ecosistemi acquatici.

Il settore degli ecosistemi di acque interne è trasversale e riguarda aspetti molteplici della strategia nazionale per l'adattamento ai cambiamenti climatici. La biodiversità e le componenti naturali degli ecosistemi acquatici sono in genere sottovalutate e non vengono considerate, se non marginalmente, nella pianificazione di bacino e nella gestione dei rischi e della sicurezza

idraulica. A fronte di queste carenze, dalla letteratura internazionale emerge chiaramente che biodiversità e processi ecologici sono alla base di numerosi servizi ecosistemici che garantiscono, ad esempio, qualità e quantità delle risorse idriche e, se correttamente gestiti, contribuiscono anche alla prevenzione dei dissesti e al controllo dei rischi idrogeologici

Effetti marcati dell'aumento della temperatura sono attesi per i fiumi alpini, a causa del ridursi della copertura nevosa e dei ghiacciai, con immediate conseguenze sulla stabilità delle portate stagionali.

Nei fiumi dell'Italia peninsulare e insulare, invece, saranno le variazioni dell'andamento delle piogge a determinare, come sopra accennato, una proiezione di maggiori siccità estive accompagnate da incrementi del rischio di eventi piovosi estremi nei periodi invernali e primaverili, a causa di una diminuzione dei giorni piovosi e una conseguente concentrazione delle precipitazioni.

La vulnerabilità dei grandi corsi d'acqua dipenderà invece dall'interazione tra le pressioni locali, le variazioni del regime idrologico e la gestione delle risorse idriche. In particolare potranno aumentare le oscillazioni del livello idrico e delle portate e, soprattutto nella parte peninsulare, dell'intermittenza del deflusso.

A scala continentale si registrano evidenti incrementi di temperatura delle acque di diversi fiumi europei in relazione all'aumento della temperatura atmosferica.

Nei laghi tale incremento ha effetti molto articolati sulla termica lacustre e dipende dalle caratteristiche morfometriche e idrologiche. La capacità di "memoria climatica" dei laghi italiani profondi determina, in una prospettiva di riscaldamento globale, un aumento delle temperature ipolimniche in grado di modificare il ciclo annuale di stratificazione/destratificazione delle acque e la ciclicità pluriennale della completa circolazione invernale.

Una riduzione della frequenza dei periodi di piena ha dirette implicazioni sulla dinamica di nutrienti e inquinanti che tenderebbero a risiedere per un periodo maggiore negli strati profondi dei laghi.

Per quanto concerne l'idrodinamica lacustre, le conseguenze sono anche più ampie per il contemporaneo modificarsi delle temperature degli affluenti, del regime dei venti e delle precipitazioni che influenzano notevolmente gli scambi delle acque nel lago, con impatti diretti e indiretti sulla distribuzione dei nutrienti, sulle fioriture algali, sul consumo di ossigeno, ecc.

Tra gli ecosistemi di acque interne a maggiore vulnerabilità si annoverano gli ambienti acquatici marginali e gli ecosistemi dipendenti dalle acque sotterranee (GDE), i laghi d'alta quota, nonché i corsi d'acqua appenninici e delle isole maggiori sui quali già insistono pressioni significative di sfruttamento del territorio e della risorsa idrica.

Per i grandi laghi profondi sono critiche le condizioni derivanti dal bilancio termico e dal conseguente aumento della temperatura delle acque che causa stratificazione persistente delle masse idriche.

Nell'arco alpino, nel lungo termine, la diminuzione degli apporti nivali e glaciali e l'aumento dei prelievi idrici potranno causare anche oscillazioni del livello idrico con gravi impatti sulle zone litoranee di basso fondale.

Condizioni di particolare vulnerabilità sono previste per i laghi poco profondi dell'Italia centrale, come il Lago Trasimeno.

Nei laghi artificiali dell'Italia meridionale e delle isole, le minori precipitazioni e l'aumento della temperatura potranno indurre una maggiore domanda di acqua con pesanti conseguenze sulle variazioni del livello idrico, favorendo l'affermazione di specie invasive e fioriture algali.

Gli ecosistemi acquatici dipendenti dalle acque sotterranee sono decisamente influenzati dallo sfruttamento delle acque di falda. Questo fenomeno, associato al crescente inquinamento da nitrati e pesticidi, sta compromettendo in maniera allarmante la qualità degli ecosistemi acquatici sub-superficiali (SGDE).

Gli acquiferi costieri stanno invece subendo con intensità crescente l'ingressione del cuneo salino che altera la qualità chimico fisica delle acque sotterranee e la sua biodiversità.

Complessivamente, le tendenze evolutive degli ecosistemi lagunari potranno essere determinate dagli effetti derivanti dalle pressioni sui bacini idrografici e dall'aumento del livello del mare, combinati con il riscaldamento delle acque. Tali condizioni potranno essere sfavorevoli per le specie autoctone a vantaggio delle specie esotiche, con possibili impatti anche sulle attività di pesca e acquacoltura.

Bibliografia

- IPCC. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2007.
- IPCC. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK, New York, NY: Cambridge University Press; 2013.
- ISPRA. *Gli indicatori del clima in Italia nel 2016. Anno XII*. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale; 2017. (Stato dell'Ambiente 72/2017).

USO DI STRUMENTI MODELLISTICI PER LA VALUTAZIONE DEGLI IMPATTI DEI CAMBIAMENTI CLIMATICI SU ECOSISTEMI E BIODIVERSITÀ

Maria Francesca Fornasier (a), Alessandra De Marco (b)

(a) Servizi Ambientali, Istituto Superiore per la Ricerca Ambientale, Roma

(b) Sezione Trasferimento tecnologico verso i Paesi in Via di Sviluppo in ambito cambiamento climatico, Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l'energia e lo sviluppo economico sostenibile, Roma

Negli ultimi 50 anni l'aumento di popolazione e la diminuzione di terre coltivabili ha indotto un sempre maggiore utilizzo di fertilizzanti in agricoltura che insieme a processi industriali e all'uso di combustibili fossili ha prodotto un aumento esponenziale delle concentrazioni di azoto reattivo (Nr) in ambiente con serie implicazioni su salute umana, biodiversità e qualità di acqua e aria.

L'azoto reattivo inoltre interagisce con i principali inquinanti responsabili dell'effetto serra (N_2O , CH_4 , CO_2) con conseguenze quindi sui cambiamenti climatici (Suddick *et al.*, 2013).

Per comprendere bene entità del fenomeno e gli impatti che ne derivano basti pensare che l'innalzamento della temperatura è stato tale che ciascuna delle ultime tre decadi è stata più calda della precedente (Wong *et al.*, 2014); il livello del mare si è innalzato di circa 20 cm negli ultimi 20 anni (Wong *et al.*, 2014); il pH degli oceani è aumentato del 36% rispetto all'epoca preindustriale (Wong *et al.*, 2014); mentre i ghiacci sono diminuiti in volume del 3,6% nello stesso periodo (Wong *et al.*, 2014); la salinità è aumentata nelle zone ad elevata salinità e diminuita in quelle a bassa salinità (Wong *et al.*, 2014).

La comprensione e la gestione di queste problematiche strettamente correlate (cambiamenti climatici, inquinamento atmosferico, alterazione del ciclo dell'azoto, ecc.) è stata riconosciuta essere prioritaria a livello mondiale per la salvaguardia della salute umana e del pianeta.

L'approccio modellistico costituisce uno dei principali strumenti utilizzati per valutare i potenziali impatti dovuti all'inquinamento e l'efficacia delle azioni intraprese a tutela e ripristino delle condizioni di sostenibilità ambientale.

Esistono diversi tipi di modelli da applicare in ambito ambientale, come i modelli statistici od i modelli integrati. I primi permettono di analizzare ampie banche dati simultaneamente e stimare la relazione tra le variabili considerate definendo il contributo di ciascuna variabile nel determinare l'effetto sulla variabile dipendente. In altre parole questi modelli permettono di valutare l'influenza di variabili quali temperatura, o concentrazioni di inquinanti su salute umana o equilibrio degli ecosistemi.

I modelli integrati invece permettono di valutare l'efficacia delle politiche nel ridurre l'inquinamento atmosferico sia in termini di minor impatto sugli ecosistemi sia in termini economici, in quanto forniscono indicazioni sui costi delle misure intraprese in relazione alla loro efficacia.

In questo rapporto vengono brevemente illustrati a titolo di esempio tre studi applicativi in cui diversi modelli sono stati utilizzati per analizzare gli impatti dell'inquinamento atmosferico e i possibili scenari di riduzione.

Il *Very Simple Dynamic Model (VSD)*, sviluppato in ambito europeo nel contesto degli accordi internazionali sull'inquinamento transfrontaliero, viene utilizzato allo scopo di indagare gli

impatti di azoto e zolfo sulla ricchezza di biodiversità in un sito specifico a fronte di condizioni climatiche definite. Il modello può essere applicato nelle condizioni attuali o in presenza di uno scenario futuro, sia in termini di inquinamento sia in termini climatici.

Il VSD utilizza dati di input elaborati da modelli satellite che con il VSD costituiscono una catena di questi modelli: il MetHyd (Meteo-Hydrological Pre-Processor) che elabora dati climatici e di chimica dei suoli, il Growup (*Growth Uptake Pre-Processor*) che elabora parametri legati alla crescita della vegetazione e al management e il PROPS (*Plant Species Occurrence Probability*) che, a partire dai parametri ecologici di una lista di circa 4000 specie elabora indicatori di biodiversità. Questi tre modelli satellite del VSD insieme al modello principale restituiscono i livelli di carico critico di azoto, ovvero i livelli minimi e massimi di concentrazione di azoto, entro i quali l'ecosistema in esame non subisce alterazioni allo stato attuale delle conoscenze.

Se i livelli di azoto nel sito superano i livelli critici, si ha eccedenza di azoto nutriente e di conseguenza un rischio di perdita di biodiversità. L'uso degli scenari di inquinamento e climatici permette di valutare come questi parametri andranno ad impattare la biodiversità nel futuro, considerando che le politiche europee vigenti hanno come obiettivo al 2030 una "no net loss of biodiversity".

Da una prima analisi effettuata, per individuare le aree a rischio di eccedenza per carico critico di eutrofizzazione e biodiversità è risultato che certamente i cambiamenti climatici incidono sugli effetti dell'inquinamento atmosferico sugli ecosistemi poiché il trend di aumento della temperatura e il cambiamento del regime idrico che ne deriva, tanto per fare un esempio, comporteranno un inasprimento dell'effetto negativo di concentrazioni elevate di N prodotto dalle emissioni.

In generale a fronte di una tendenza alla diminuzione delle deposizioni di azoto, frutto delle politiche di contenimento, si osserva un generale aumento della biodiversità. Tuttavia restano ancora diverse aree di eccedenza principalmente nel centro nord che richiedono un ulteriore sforzo di diminuzione delle emissioni di azoto. Tale sforzo dovrà essere richiesto al settore agricolo, principale responsabile delle deposizioni azotate.

Inoltre nel definire i limiti alle deposizioni necessari alla protezione della biodiversità non si potrà prescindere al considerare anche l'effetto dei cambiamenti climatici.

Il secondo sistema modellistico di cui riportiamo un esempio applicativo è MINNI (Modello Integrato Nazionale a supporto della Negoziazione Internazionale sui temi dell'Inquinamento Atmosferico), questo modello in grado di simulare sul lungo periodo concentrazioni e deposizioni secche e umide dei principali inquinanti atmosferici primari e secondari e di valutare l'impatti sugli ecosistemi e costi delle misure necessarie a ridurre gli impatti stessi, fornendo in questo modo gli strumenti utili a definire le possibili politiche di contenimento. Uno dei maggiori fattori che produce deposizioni di azoto è la produzione di animali per il consumo di carne nella dieta.

Variazioni nel consumo di carne o nell'allevamento del bestiame da carne incidono sulle deposizioni azotate. Il modello MINNI è stato utilizzato per elaborare tre diversi scenari: il primo relativo ad una diminuzione del 50% dell'attuale consumo di carne, il secondo considerando una diminuzione del contenuto di azoto nei mangimi (*Low Nitrogen Feeding*, LNF), e un terzo scenario che contempla entrambe le precedenti condizioni. I risultati sono evidentemente a favore della riduzione di carne rossa nella dieta soprattutto in relazione a due forme di azoto (ammoniaca e monossido di diazoto).

Il terzo esempio riportato in questo report riguarda il risk-assessment per il rischio da ozono, cioè l'insorgenza di effetti relativi all'esposizione ad ozono di popolazione (in termini di morti premature) e vegetazione (in termini di indicatori di danno e riduzione della resa agricola di riso e grano). È noto che l'ozono troposferico provoca milioni di morti (Lelieveld *et al.*, 2015) ogni anno in tutto il mondo riducendo contemporaneamente estensione e produttività di superfici agricole e forestali (Feng, 2015).

Grazie alla disponibilità dei dati orari relativi alla concentrazione di ozono derivanti da circa 1400 stazioni di misura distribuite su tutto il territorio della Cina, è stato possibile fare delle valutazioni sulla popolazione esposta e sulla riduzione della produttività di diverse colture (riso e grano) confrontando i risultati ottenuti con i dati di otto modelli globali derivanti dall'esperienza ACCMIP (*Atmospheric Chemistry and Climate Model Intercomparison Project*) (Lamarque *et al.*, 2013). È stato dunque stimato il numero di morti premature dovute all'ozono sul territorio cinese ottenuto utilizzando tre diverse soglie di superamento: SOMO0 (*Sum of Ozone Means over 0 ppb*: nessuna soglia), SOMO35 (*Sum of ozone means over 35 ppb*: la somma delle concentrazioni medie di ozono che superano la soglia di 35 ppb), e SOMO50 (*Sum Of Ozone Means over 50 ppb*: la somma delle concentrazioni medie che superano i 50 ppb). L'incremento delle morti premature è risultato pari a: 152,938 unità su base annua per un costo calcolato pari a 15.360.000 dollari. Nelle aree a coltivazione di riso e grano la produttività è scesa rispettivamente di 8% e 6%.

Bibliografia

- Feng Z, *et al.* Ground-level O₃ pollution and its impacts on food crops in China: A review. *Environ Pollut* 2015;199:42-8.
- Lamarque JF, *et al.* The Atmospheric Chemistry and Climate Model Intercomparison Project (ACCMIP): overview and description of models, simulations and climate diagnostics. *Geosci Model Dev* 2013;6(1):179-206.
- Lelieveld J, Evans JS, Fnais M, Giannadaki D, Pozzer A. The contribution of outdoor air pollution sources to premature mortality on a global scale. *Nature* 2015;525:367-71.
- Suddick EC, Whitney P, Townsend AR, Davidson EA. The role of nitrogen in climate change and the impacts of nitrogen-climate interaction in the United States: forward to thematic issue. *Biogeochemistry* 2013;114(1-3):1-10.
- Wong PP, Losada IJ, Gattuso J.-P, Hinkel J, Khattabi A, McInnes KL, Saito Y, Sallenger A. Coastal systems and low-lying areas. In: Field CB, Barros VR, Dokken DJ, Mach KJ, Mastrandrea MD, Bilir TE, Chatterjee M, Ebi KL, Estrada YO, Genova RC, Girma B, Kissel ES, Levy AN, MacCracken S, Mastrandrea PR, White LL (Ed.). *Climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. New York, NY: Cambridge University Press; 2014. p. 361-409.

PROGETTAZIONE DI UN PIANO DI MONITORAGGIO NEGLI ECOSISTEMI ACQUATICI

Teresa Trabace

Centro Ricerche Metaponto, Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente Basilicata, Metaponto (MT)

Premessa

La valutazione degli effetti determinati dai cambiamenti climatici su scala regionale, sul ciclo delle acque e della gestione delle stesse in funzione degli usi sostenibili individua dei percorsi di analisi e di definizione dei rischi molto complessi. Eventi pluviometrici intensi o lunghi periodi di carenza di disponibilità idrica coinvolgono aspetti economici e sociali soprattutto per una regione come la Basilicata che condivide la risorsa idrica con altre regioni. Il ruolo degli organi di pianificazione e controllo deve essere decisivo nella corretta analisi e interpretazione dei dati, nella quantificazione dei rischi, nella trasformazione del territorio stesso, finalizzato alla programmazione socio economica e alla gestione sostenibile della risorsa idrica.

Introduzione

La conoscenza diretta del territorio e delle pressioni ambientali sono coniugate con le politiche nazionali ed europee di prevenzione e protezione dell'ambiente e della salute dell'uomo e degli esseri viventi. Il sistema a cui è affidato il controllo e la prevenzione è costituito dalle Agenzie Ambientali Regionali e Provinciali per la Protezione Ambientale (ARPA e APPA) con il coordinamento dell'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) che confluisce in un sistema federativo costituito dal Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente (SNPA). Tutte le attività fanno parte di una programmazione pluriennale.

Obiettivo di un piano di monitoraggio delle acque

L'obiettivo di un piano di monitoraggio ambientale delle acque è quello di controllare lo stato di qualità dei corsi d'acqua, dei laghi e invasi, delle acque marino costiere, delle acque sotterranee attraverso l'elaborazione di due indicatori, lo stato ecologico e lo stato chimico.

L'obiettivo da raggiungere, ai sensi della Direttiva quadro 2000/60/CE, è lo "stato buono" sia dal punto di vista biologico che chimico, infatti al punto 26 della Direttiva si afferma: gli Stati membri dovrebbero cercare di raggiungere almeno l'obiettivo di un buono stato delle acque definendo e attuando le misure necessarie nell'ambito di programmi integrati di misure, nell'osservanza dei vigenti requisiti comunitari. Ove le acque abbiano già raggiunto un buono stato, si dovrebbe mantenere tale situazione.

Come impostare un piano di indagine

L'impostazione di un piano deve affrontare tutti gli aspetti tecnici e operativi utili per la produzione di informazioni di qualità. L'esecuzione di un piano di monitoraggio, soprattutto per la tipologia di indagini, richiede innanzitutto lo sviluppo di conoscenze adeguate, e un impegno di risorse umane e strumentali oneroso.

L'obiettivo del monitoraggio è quello di stabilire un quadro generale coerente ed esauriente dello Stato Ecologico e dello Stato Chimico delle acque.

Le modalità per la classificazione dello stato di qualità dei corpi idrici sono dettate dall'applicazione del DL.vo 3 aprile 2006, n.152 e successive modifiche e integrazioni, quali il Decreto Ministeriale 14 aprile 2009, n. 56 "Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici e l'identificazione delle condizioni di riferimento per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n.152, recante Norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3, del decreto legislativo medesimo".

Lo "Stato Ecologico" è espressione della qualità della struttura e del funzionamento degli ecosistemi acquatici associati alle acque superficiali.

Alla sua definizione concorrono:

- elementi biologici (macrobenthos, fitobenthos, macrofite e fauna ittica);
- elementi idromorfologici, a sostegno degli elementi biologici;
- elementi fisico-chimici e chimici, a sostegno degli elementi biologici.

Gli elementi fisico-chimici e chimici a sostegno comprendono i parametri fisico-chimici di base e le sostanze inquinanti la cui lista, con i relativi Standard di Qualità Ambientale (SQA), è definita a livello di singolo Stato membro sulla base della rilevanza per il proprio territorio (Tab.1/B del DL.vo 172/2015). Nella definizione dello stato ecologico la valutazione degli elementi biologici diventa dominante e le altre tipologie di elementi (fisico-chimici, chimici e idromorfologici) vengono considerati a sostegno.

La classificazione dello "Stato Chimico" dei corpi idrici è effettuata valutando i superamenti dei valori standard di qualità di cui alla Tab. 1/A del DL.vo 172/2015 che ha aggiornato elenco e standard di qualità rispetto al DM 260/10.

Progettazione del piano di monitoraggio negli ecosistemi acquatici

Tutte le Regioni dispongono di una rete regionale per la tutela delle acque, di un numero di stazioni adeguato allo scopo delle tipologie di monitoraggio, finalizzata a definire lo stato di qualità dei Corpi Idrici all'interno di ogni bacino e sottobacino, a contribuire a validare l'analisi delle pressioni e di rischio, a verificare gli impatti e l'efficacia delle misure adottate.

Le ARPA attuano i piani di monitoraggio ambientale. In particolare la progettazione di un piano di monitoraggio degli ecosistemi acquatici prevede diverse fasi di indagini così come riassunte nella Tabella 1.

Il Modello sviluppato dall'Agenzia Europea per l'Ambiente è basato su una struttura di relazioni causa/effetto che lega tra loro i seguenti elementi: Determinanti (D), Pressioni (P), Stato (S), Impatto (I), Risposte (R).

Tabella 1. Sintesi di un piano di monitoraggio negli ecosistemi acquatici

Fase	Attività previste
A	Individuazione area di indagine: ecosistemi acquatici: fiumi, laghi, invasi, acque marine, acque sotterranee
B	Analisi degli impatti: analisi pressioni legate all'uso del suolo, analisi dei dati pregressi
C	Individuazione delle stazioni di indagine: sopralluoghi, analisi in situ
D	Definizione della strategia di campionamento, tipologia di indagine, frequenza: effettuare prelievi di acqua, di substrati, di macro e microrganismi con idonea attrezzatura, impostare il lavoro di laboratorio dopo il trasporto dei campioni, analizzare i campioni nei laboratori chimici e biologici, effettuare controlli crociati con operatori di altri laboratori
E	Valutazione dello stato qualitativo ecologico e chimico delle acque e dei sedimenti: elaborare i dati, interpretare i risultati, elaborare i giudizi di qualità, mappe tematiche

Conclusioni

L'insufficienza idrica del nostro Paese sta assumendo, a causa dei cambiamenti climatici, caratteristiche strutturali, cui si deve rispondere aumentando la capacità di resilienza del territorio, bisogna garantire la disponibilità futura delle risorse e gli usi prioritari quali il consumo umano e usi produttivi. Il monitoraggio ha l'obiettivo di conoscere, proteggere, lo stato degli ecosistemi acquatici e degli ecosistemi terrestri ad esso collegati e solo un attento controllo e una grande coscienza del rispetto dell'ambiente può evitare l'ulteriore degrado.

Bibliografia

- Europa. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee* L 327/1 del 22/12/2000.
- ISPRA. *Guida Tecnica per la progettazione di reti e programmi di monitoraggio delle acque ai sensi della D.Lgs 152/2006 e relativi decreti attuativi*. Seduta del 30 giugno 2014. Doc. n.42/14-C. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale; 2014. (Manuali e Linee Guida 116/2014).
- Italia. Decreto Legislativo n. 152 - 3 aprile 2006. Norme in materia ambientale. *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 88 del 14 aprile 2006 – *Supplemento Ordinario* n. 96.
- Italia. Decreto Legislativo n. 172 - 13 ottobre 2015. Attuazione della direttiva 2013/39/UE, che modifica le direttive 2000/60/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. (15G00186) *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n.250 del 27-10-2015.
- Italia. Decreto Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio n. 56 - 14 aprile 2009. Criteri tecnici per il monitoraggio dei corpi idrici – Articolo 75, DL.vo 152/2006. *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 124 del 30 maggio 2009 – *Supplemento Ordinario* n. 83.
- Italia. Decreto Ministero dell'ambiente e della tutela del territorio n. 260 - 8 novembre 2010. Regolamento recante i criteri tecnici per la classificazione dello stato dei corpi idrici superficiali, per la modifica delle norme tecniche del decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152, recante norme in materia ambientale, predisposto ai sensi dell'articolo 75, comma 3 del medesimo decreto legislativo. (11G0035) *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n.30 del 7 febbraio 2011 – *Supplemento Ordinario* n. 31.

FITODEPURAZIONE E SERVIZI ECOSISTEMICI ANNESI

Filippo Chiudioni

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il carico inquinante presente nelle acque superficiali rappresenta un forte impatto sui corpi idrici rendendo più difficile il raggiungimento di una buona qualità delle risorse idriche come richiesto dalla Direttiva 2000/60/CE (Water Framework Directive - WFD) la quale costituisce un importante strumento per la tutela delle acque continentali. Per la riduzione e/o rimozione del carico inquinante è necessario dotarsi di una efficace rete di depurazione il più possibile distribuita capillarmente.

Nonostante l'attenzione, sia a livello normativo che tecnologico, nei confronti della depurazione delle acque reflue, gli impianti di trattamento reflui presenti in Italia risultano insufficienti a soddisfare la necessità depurativa dell'intero territorio nazionale, sia per capacità di trattamento sia per l'incompletezza e/o inadeguatezza delle reti di collettamento (ISPRA, 2012). La norma comunitaria di riferimento in materia di trattamento delle acque reflue in ambito comunitario è rappresentata dalla Direttiva 91/271/CEE (Urban Waste Water Treatment Directive, UWWTD) riguardante la raccolta, il trattamento e lo scarico delle acque reflue urbane, nonché il trattamento e lo scarico delle acque reflue originate da taluni settori industriali, al fine di proteggere l'ambiente da possibili danni che da queste possono derivare.

Le acque reflue provenienti da piccole e piccolissime comunità, agglomerati urbani con meno di 2.000 abitanti equivalenti (AE), spesso non risultano collettate alla rete fognaria e quindi non vengono recapitate agli impianti di depurazione, questo perché per tali comunità è di fondamentale importanza una valutazione costi/benefici, che spesso evidenzia difficoltà nel realizzare impianti ad elevata tecnologia.

In queste realtà territoriali le tecniche di depurazione naturale, come ad esempio quelle di fitodepurazione, assumono un'elevata importanza rappresentando una possibile soluzione alle problematiche depurative.

Per il trattamento delle acque reflue la fitodepurazione rappresenta l'utilizzo di un processo naturale che avviene nei fiumi e nelle zone umide grazie all'interazione della componente vegetale (macrofite) con la matrice acqua. Questo processo insieme ad altri mediati da microrganismi, a reazioni chimico-fisiche e ai sedimenti costituiscono la capacità autodepurante di un corso d'acqua. I processi che in natura permettono l'abbattimento di alcune tipologie di inquinanti vengono replicati in sistemi più o meno artificializzati con particolari specie vegetali tolleranti e dotate di elevata capacità di accumulo. L'utilizzo di queste tecnologie prende il nome di fitotecnologie.

Le fitotecnologie sono strumenti di ripristino ambientale che si servono di piante per il trattamento di contaminanti come metalli pesanti e composti organici nel suolo, nelle acque di falda, nelle acque superficiali e in scarichi di origine agricola, civile o industriale (Baker *et al.*, 1991; Raskin *et al.*, 1997; Wenzel *et al.*, 1999).

Il trattamento delle acque avviene in zone umide riprodotte in bacini artificiali, impermeabilizzati. Questi sistemi sono sistemi definiti "naturali" in quanto tendono a riprodurre, in un ambiente controllato, i processi di autodepurazione che avvengono nelle zone umide naturali e si suddividono in sistemi con macrofite galleggianti, radicate sommerse, emergenti e infine sistemi misti nei quali queste tre tipologie vengono utilizzate simultaneamente.

I tre principali sistemi di fitodepurazione si differenziano per la tipologia di flusso idrico e per le differenti tipologie di macrofite utilizzate: i sistemi a flusso orizzontale (*Horizontal Flow*, HF) e i sistemi a flusso sommerso verticale (*Vertical Flow*, VF) che utilizzano le macrofite radicate emergenti e i sistemi a flusso libero (*Free Water System*, FWS) nei quali possono essere utilizzati tutti e tre le tipologie di macrofite precedentemente indicate (ISPRA, 2012).

Nella fitodepurazione i processi mediante i quali i diversi contaminanti vengono rimossi dalla matrice acqua sono la fitodegradazione, ovvero l'assorbimento e la trasformazione del contaminante per mezzo di processi vegetali, la fitoestrazione processo in cui il contaminante viene estratto e accumulato e successivamente traslocato nelle radici e/o nelle parti aeree e infine la fitovolatizzazione dove il contaminante viene assorbito dalla pianta, eventualmente modificato nella sua forma chimica, e rilasciato dalle foglie nell'atmosfera attraverso il processo di traspirazione.

I sistemi di fitodepurazione possono essere utilizzati efficacemente nel trattamento secondario e terziario delle acque reflue con buone rese depurative, basso impatto ambientale e consumi energetici nettamente inferiori rispetto ad altri sistemi di depurazione.

I sistemi di fitodepurazione inoltre possono essere utilizzati in contesti naturali per la mitigazione degli effetti degli inquinanti (nutrienti, solidi sospesi, micro inquinanti, metalli pesanti) sull'ecosistema, nonché in condizioni controllate utilizzando specie con elevata capacità di rimozione di contaminanti specifici (es. metalli pesanti e le sostanze perfluoroalchiliche note come PFAS) (Chiudioni *et al.*, 2017; Pi *et al.*, 2017).

Le future sfide nel campo della ricerca sono quelle di testare diverse specie di macrofite in grado di mitigare la presenza di patogeni nelle acque sfruttando l'affinità tra rizosfera e microrganismo. Diversi studi hanno dimostrato come alcuni batteri patogeni (*Salmonella* spp., *Escherichia coli*) siano in grado di colonizzare l'apparato radicale, trovando un substrato di crescita ideale, sfruttando le sostanze prodotte dalla pianta in prossimità delle radici. In diversi studi è stato inoltre osservato un processo di internalizzazione di questi microrganismi nella pianta attraverso l'apparato radicale e/o vie d'accesso causate da danni/ferite della pianta (Zheng *et al.*, 2013; Guo *et al.* 2001; Gough *et al.*, 1997).

Gli impianti di fitodepurazione, qualunque essi siano e per qualsiasi tipologia di inquinante, presentano dei vantaggi notevoli rispetto alle tecnologie convenzionali. Questi vantaggi sono rappresentati da costi limitati, la fitodepurazione è meno costosa degli altri interventi (ITRC, 2001), dall'applicabilità in contesti dove le tecnologie convenzionali non sarebbero ugualmente efficienti, ad esempio nella rimozione di basse concentrazioni di contaminante su aree estese e su siti contaminati da più inquinanti, dalla percezione positiva da parte degli utenti in quanto tali impianti aumentano il valore estetico dell'area e infine dal ruolo ecologico degli impianti di fitodepurazione nel fornire specifici servizi ecosistemici.

I servizi ecosistemici come definito dal *Millennium Ecosystem Assessment* (MEA) 2005 sono quei "benefici multipli forniti dagli ecosistemi al genere umano":

- a) servizi di approvvigionamento, che forniscono i beni veri e propri, quali cibo, acqua, legname, ecc.
- b) servizi di regolazione, che regolano il clima e le precipitazioni, l'acqua (es. le inondazioni), i rifiuti e la diffusione delle malattie si esplicano nella regolazione dei processi fisici, ecologici e biologici fondamentali per garantire l'integrità degli ecosistemi. Tali funzioni di regolazione forniscono servizi più o meno diretti alla società, come la disponibilità di aria pulita, la fornitura di acqua e terreno fertile, il controllo e la regolazione dei cicli bio-geo-chimici e biologici;
- c) servizi culturali, relativi alla bellezza, all'ispirazione e allo svago che contribuiscono al nostro benessere spirituale;

- d) servizi di supporto, sono necessari per la produzione degli altri servizi ecosistemici e comprendono la creazione di habitat, la conservazione della biodiversità genetica, la formazione di suolo, il ciclo dei nutrienti e la produzione primaria.

I sistemi di fitodepurazione forniscono in parte servizi di supporto ma principalmente servizi di regolazione in quanto sono in grado di regolare il microclima locale, di mitigare, se inseriti in un contesto naturale, gli eventi estremi come ad esempio le inondazioni e infine di trattare le acque reflue riducendo o eliminando i contaminanti presenti (MEA, 2005).

Bibliografia

- Baker AJM, Reeves RD, Mcgrath SP. In situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal accumulating plants: a feasibility study. In: Hinchee RL, Olfenbuttel RF (Ed.). *In situ bioreclamation*. Boston: Butterworth – Heinemann; 1991. p. 600-605.
- Chiudioni F, Trabace T, Di Gennaro S, Palma A, Manes F, Mancini L. Phytoremediation applications in natural condition and in mesocosm: The uptake of cadmium by *Lemna minuta* Kunth, a non-native species in Italian watercourses. *International Journal of Phytoremediation* 2017;19(4):371-6.
- Europa. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio della Comunità Europea del 23 ottobre 2000 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* n. L 327/1 del 22 dicembre 2000.
- Europa. Direttiva 91/271/CE del Consiglio della Comunità Europea, del 21 maggio 1991, concernente il trattamento delle acque reflue urbane. *Gazzetta ufficiale* n. L 135 del 30 maggio 1991.
- Gough C, Galera C, Vasse J, Webster G, Cocking EC and Denarie J. Specific flavonoids promote intercellular root colonization of *Arabidopsis thaliana* by *Azorhizobium caulinodans* ORS571. *Mol Plant Microbe Interact* 1997;10:560-70.
- Guo X. Survival of *Salmonella* on and in tomato plants from the time of inoculation at flowering and early stages of fruit development through fruit ripening. *Appl. Environ. Microbiol* 2001;67:4760-4.
- ISPRA. *Guida Tecnica per la progettazione e gestione dei sistemi di fitodepurazione per il trattamento delle acque reflue urbane*. Delibera del Consiglio Federale. Seduta del 5 aprile 2012-Doc. n. 11/12-CF. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale; 2012. (Manuali e Linee Guida 81/2012).
- ITRC. *Technical and Regulatory Guidance Document, Phytotechnology*. Washington, DC: Interstate Technology Regulatory Council; 2001.
- MEA (Millennium Ecosystem Assessment). *Ecosystems and human well-being: A Framework for assessment*. Washington, DC: Island Press; 2005.
- Pi N, Ng JZ, Kelly BC. Uptake and elimination kinetics of perfluoroalkyl substances in submerged and free-floating aquatic macrophytes: Results of mesocosm experiments with *Echinodorus horemanii* and *Eichhornia crassipes*. *Water Research* 2017;117:167-74.
- Raskin I, Smith RD, Salt DE. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Curr Opin Biotechnol* 1997;8:221-6.
- Wenzel WW, Lombi E, Adriano DC. Biogeochemical processes in the rhizosphere: role in phytoremediation of metal-polluted soils. In: Prasad MNV, Hagemeyer J (Ed.). *Heavy metal stress in plants - From molecules to ecosystems*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 1999. p. 271-303.
- Zheng J, Allard S, Sara Reynolds S, Millner P, Arce G, Blodgett R, Brown EW. Colonization and Internalization of *Salmonella enterica* in Tomato Plants. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 2013;79(8):2494-502.

GENO-ECOTOSSICOLOGIA NEGLI ECOSISTEMI

Silvana Cacioli

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Premessa

Ecotossicologia è un termine coniato nel 1969 da René Truhaut, professore all'Università di Parigi di tossicologia, disciplina dalla quale ha preso principi e metodi, applicati però all'Ecologia, definendola: "branca della tossicologia che tratta degli effetti diretti o indiretti di sostanze naturali e di contaminanti artificiali sugli organismi viventi". Il potenziale genotossico di contaminanti ambientali è la capacità di produrre alterazioni alla macromolecola del DNA. Qualsiasi sostanza, nessuna esclusa, può causare danni e/o morte dell'organismo, qualunque sostanza, può diventare tossica con l'aumento della dose, mentre nessuna sostanza che non sia genotossica può diventarlo con l'aumento della dose, dato che la genotossicità richiede la possibilità di agire sul DNA, e ciò dipende esclusivamente dalla struttura chimica del composto.

Introduzione

Composti organici e inorganici provenienti da rifiuti industriali, dall'attività agricola, dall'allevamento vengono scaricati nei corsi d'acqua o rilasciati nel terreno dove possono penetrare e diffondersi causando contaminazioni di suolo, di acque superficiali fino ad arrivare alle falde acquifere. Tali sostanze, soprattutto se persistenti nell'ambiente, possono costituire una fonte di rischio per la salute di tutti gli organismi, uomo compreso, sia direttamente che indirettamente attraverso il metabolismo. Gli effetti dell'interazione tra organismi e agenti contaminanti (xenobiotici) possono essere distinti in tre principali categorie:

- *Effetto tossico*: è il grado con cui una sostanza può danneggiare la capacità di un organismo di funzionare nel suo ambiente; si parla di tossicità acuta quando questa capacità viene distrutta, viene inibita cioè la progressione del ciclo cellulare e la mitosi. Livelli superiori di tossicità possono indurre letalità cellulare. La tossicità è cronica quando la capacità di funzionare dell'organismo è compromessa riducendo la sua competitività.
- *Effetto genotossico*: è la capacità di contaminanti di indurre alterazioni alla molecola del DNA, provocare cioè un danno primario o pre-mutazionale in quanto solo potenzialmente mutageno; le cellule, infatti, sono provviste di meccanismi di riparazione per cui non tutti i danni primari si tramutano in mutazioni in conseguenza dell'efficienza o meno dei processi di riparazione messi in atto dalla cellula per la loro rimozione.
- *Effetto mutageno*: è dovuto all'induzione di variazioni permanenti e trasmissibili nelle sequenze del materiale genetico delle cellule. Queste mutazioni possono interessare singoli geni, blocchi di geni, interi cromatidi.

Quali sono le conseguenze di una mutazione cellulare?

- se il danno non può essere riparato, segue la morte cellulare;
- se il danno genetico non è riparato, ma è compatibile con la sopravvivenza, segue la malattia; è il caso delle malattie, come il cancro, che possono impiegare molti anni per manifestarsi.

Gli effetti tossici spesso si manifestano in un tempo relativamente breve dopo l'esposizione (Brusick, 1987), alcune sostanze tossiche inoltre possono esprimere anche un effetto mutageno, ma questo si manifesta solo a concentrazioni inferiori a quelle tossiche a causa del prevalere degli effetti citotossici o letali indotti da queste ultime. Infatti, l'effetto mutageno di uno xenobiotico aumenta con l'aumentare della concentrazione e raggiunge un massimo in corrispondenza di dosi che non inducono elevata tossicità.

Test di ecotossicità, genotossicità

Test di ecotossicità

Il saggio ecotossicologico è un esperimento biologico atto a verificare se un composto, potenzialmente tossico, o un campione ambientale, causa una risposta biologica rilevante negli organismi utilizzati per il test.

I saggi ecotossicologici sono generalmente applicati sulle seguenti matrici:

- acque superficiali
- acque sotterranee
- scarichi civili
- scarichi industriali
- suoli di siti contaminati
- sedimenti fluviali

Questi test prevedono l'impiego di specie (animali e vegetali) sensibili; poiché non esiste una singola specie adatta ad esprimere gli effetti di tutti i possibili tossici, è necessario utilizzare una serie di organismi, con una diversa sensibilità nei confronti delle sostanze tossiche.

Il parametro osservato e misurato (*endpoint*) nei differenti gruppi di organismi può essere la mobilità, la sopravvivenza, la dimensione o crescita, il numero di uova o figli, oppure qualsiasi variabile biochimica o fisiologica che può essere attendibilmente quantificata. Le osservazioni possono essere effettuate dopo uno o più periodi di esposizione prefissata. Solitamente, gli organismi vengono esposti a differenti concentrazioni o dosi di una sostanza di prova o di un campione (acqua di scarico, fango di depurazione, suolo, sedimento fluviale, ecc.) diluiti in un mezzo opportuno.

Un gruppo di organismi (gruppo di controllo) non è sottoposto alla sostanza di prova o al campione, ma è trattato esattamente nello stesso modo degli organismi esposti.

La batteria di test ecotossicologici deve comprendere individui appartenenti almeno a 3 livelli diversi della catena alimentare, selezionata in base alla rappresentatività ecologica, in funzione cioè del tipo di ambiente sul quale verrà effettuata l'indagine e dell'obiettivo prefissato:

1. un'alga: organismo unicellulare (*Pseudokirchneriella subcapitata*)
È l'organismo unicellulare con cui si valuta l'inibizione della crescita e rappresenta un test cronico (72 h). La risposta finale ad una eventuale sostanza tossica presente nel campione testato si manifesta mediante una inibizione della proliferazione delle cellule algali (UNI EN ISO 8692; OECD, 2011);
2. un batterio: organismo unicellulare (*Vibrio fischeri*)
Il batterio *Vibrio fischeri*, organismo unicellulare con cui si valuta l'inibizione della bioluminescenza, rappresenta un test acuto (15 min). Il saggio con batteri bioluminescenti sfrutta la naturale capacità di questi batteri marini di emettere luce se si trovano nelle condizioni ottimali (UNI EN ISO 11348-3);

3. un invertebrato: organismo pluricellulare (*Daphnia magna*)

Il crostaceo *Daphnia magna*, organismo pluricellulare, rappresenta un test acuto. I neonati di meno di 24h vengono immessi nel campione da analizzare e dopo un periodo di tempo prestabilito (24 - 48h) si osserva la percentuale di individui sopravvissuti o immobilizzati (APAT IRSA-CNR, 2003; OECD, 2012).

Per una maggiore rappresentatività ecologica, si effettuano anche test di fitossicità della durata di 72 ore, con semi di piante mono e dicotiledoni, come il sorgo (*Sorghum saccharatum*), il crescione (*Lepidium sativum*) e la senape bianca (*Sinapis alba*) sia su matrici acquose che solide (sedimenti, fanghi di depuratori e compost). Vengono verificati due *endpoint*, ovvero la germinazione dei semi e l'allungamento radicale.

Test di genotossicità

Nelle cellule esiste un sistema deputato alla riparazione delle lesioni al DNA, la cui espressione viene attivata a seconda del tipo di danno prodotto e della fase in cui si trova la cellula. Il sistema SOS (*Son Of Sevenless*) è costituito da numerosi geni (più di 15) di cui risultano molto importanti i geni *lexA*, *recA* e *umuDC*. Alcuni geni SOS possono essere indotti quando i danni del DNA sono pochi o lievi, altri entrano invece in funzione solo quando il danno al DNA è persistente e grave (Grimaldi, 2006).

I test di genotossicità si basano sulla fusione di uno dei geni coinvolti in questo sistema di riparazione (gene bersaglio) con il gene *LacZ* che codifica per la β -galattosidasi (gene reporter) che può essere evidenziato attraverso un cambiamento di colore. Si tratta infatti di test colorimetrici. Poiché l'induzione della risposta SOS è strettamente correlata alla presenza del danno al DNA, il trattamento con sostanze ad attività mutagenica è in grado di attivare, in maniera dose-dipendente, l'espressione del gene SOS di interesse (ISO 11350:2012).

Alcuni composti xenobiotici potrebbero non agire come mutageni in quanto tali, ma necessitano di una attivazione metabolica per esprimere il potenziale genotossico e quindi si usa fare l'esperimento con e senza l'aggiunta dell'estratto post mitocondriale S9 preparato dal fegato di ratto pretrattato con ALOCOR 1254.

SOS-chromo test

È progettato per una rapida rilevazione del danno al DNA e utilizza meccanismi propri della cellula. In particolare il test adopera un ceppo di *Escherichia coli* (PQ37) che porta un plasmide in cui il gene *lacZ* per la β -galattosidasi è fuso con il gene *sfiA*, uno dei geni coinvolti nella risposta SOS. In questo modo l'attività della β -galattosidasi diventa strettamente dipendente dall'espressione del gene *sfiA*; pertanto rilevare la presenza di β -galattosidasi, che può essere evidenziato attraverso un cambiamento di colore, equivale a rilevare l'induzione del gene *sfiA*. I ceppi di *E. coli* PQ37 presentano, inoltre, altre caratteristiche genetiche volte a migliorarne la sensibilità nei confronti degli agenti mutageni. Il ceppo porta, infatti, le mutazioni *rfa* e *uvrA* che aumentano la permeabilità dell'involucro cellulare per consentire la penetrazione anche di sostanze tossiche di maggiore dimensione.

Umu-chromo test

Quando il batterio *Salmonella typhimurium* TA 1535 [pSK 1002] viene esposto ad una sostanza genotossica, il danno a livello del DNA, induce la risposta SOS della cellula. Il plasmide

pSK1002 contiene il gene *umuC* fuso con il gene *lacZ*. L'induzione di questo gene, quindi, è una misura del potenziale genotossico del campione. Visto che il gene è fuso con il gene *lacZ* per la β -galattosidasi, l'induzione di *umuC*-gene può essere facilmente valutato dall'attività della β -galattosidasi, attraverso la conversione colorimetrica da incolore a giallo. Come in altri test genotossici, alcuni xenobiotici hanno bisogno di essere attivati con l'aggiunta dell'estratto microsomiale di estratto di fegato di ratto S9 (ISO 13829:2000).

Test di mutagenesi

Test di Ames

Il test di Ames, in cui l'*endpoint* è un netto cambiamento di colore, si basa sul concetto di reversione della mutazione: in un ceppo di individui mutanti nell'operone che codifica la sintesi dell'Histidina, può capitare che avvenga una nuova mutazione che ristabilisca la situazione originaria. Il test di Ames sfrutta questa loro capacità per determinare il potere mutageno delle sostanze.

Grazie a questa possibilità, in un ceppo di mutanti auxotrofi possono nascere, spontaneamente o indotti da un mutageno, individui prototrofi, cioè in grado di sintetizzare da soli la sostanza che i mutanti non erano più in grado di sintetizzare. Questi revertanti sono quindi in grado di crescere su terreno minimo.

La maggior parte dei ceppi di *Salmonella* utilizzati nel test presentano anche altre mutazioni che alterano la permeabilità della parete consentendo l'ingresso nel batterio di mutageni anche di grosse dimensioni, o eliminano l'azione dei meccanismi di riparo del DNA permettendo in tal modo il mantenimento delle mutazioni ottenute (ISO 16240:2005). La norma (OECD Guideline 471) indica l'utilizzo di quattro ceppi di *Salmonella typhimurium* e uno *Escherichia coli* per evidenziare mutazioni puntiformi che comprendono sostituzione, addizioni e delezioni di uno o più coppie di basi. Le mutazioni puntiformi sono la causa di molte malattie genetiche umane.

Muta chromo-Ames test a 96 pozzetti

È la versione a 96 pozzetti dell'Ames. L'*endpoint* è un netto cambiamento di colore. Il test impiega ceppi mutanti di *Salmonella typhimurium*, con mutazione/i nell'operone che codifica la sintesi dell'Histidina. Quando il batterio viene esposto ad agenti mutageni, avviene una retro mutazione da aminoacido (histidina) auxotrofo a prototrofo*.

Se il batterio riacquista la sua capacità, vuol dire che è avvenuta una retromutazione e il batterio riassume la capacità di sintetizzare l'histidina e cresce virando il colore viola del pozzetto in giallo. Si confronta la piastra di controllo con quella con il campione.

Il test si effettua in presenza e in assenza dell'enzima di attivazione S9 (estratto di fegato di ratto per fornire gli enzimi epatici che possono metabolizzare la sostanza da testare). Questo si fa perché la sostanza potrebbe non agire come mutageno in quanto tale, ma potrebbe agire una volta metabolizzata.

* Un organismo *auxotrofo* non è in grado di sintetizzare una molecola organica che è richiesta per la sua crescita: quando questo composto viene fornito all'organismo con gli altri nutrienti che richiede, allora la crescita dell'organismo può verificarsi. Un batterio si definisce *prototrofo* quando per crescere richiede un terreno minimo senza bisogno di sostanze organiche aggiunte.

Test dei Micronuclei in semi di *Vicia faba*

Il test dei micronuclei (*MicroNucleus test*, MN-test) rappresenta un indice del danno genetico che un organismo esposto ha accumulato durante la vita. È in grado di misurare sia gli effetti clastogeni, che producono cioè rotture alla doppia elica del DNA, sia gli effetti aneugeni, che inducono mal distribuzione cromosomica e aneuploidia (White & Claxton, 2004; Ohe *et al.*, 2014).

Grazie alla sua elevata sensibilità, questo test viene eseguito in cellule di un gran numero di specie sia acquatiche che terrestri, sia animali che vegetali (Bolognesi & Hayashi, 2011; Foltête *et al.*, 2011; Ferretti *et al.*, 2012). Per il basso costo e per limitare l'utilizzo di animali da laboratorio, si possono utilizzare gli apici radicali di semi di *Vicia faba* (Figura 1) (Gustavino *et al.*, 2013); tale test per l'affidabilità e sensibilità rappresenta uno dei metodi maggiormente utilizzati negli studi di genotossicità degli ambienti acquatici.



Figura 1. *Vicia faba*: differenti varietà di semi secchi

I micronuclei, provvisti di una propria membrana nucleare, sono piccoli corpi extranucleari di dimensioni inferiori rispetto al nucleo principale, che si riscontrano in cellule in interfase. La loro comparsa è legata alla formazione, durante la divisione cellulare, di frammenti cromosomici o alla perdita di interi cromatidi (mitotica o meiotica) che, non legandosi alle fibre del fuso, risultano esclusi dal processo di segregazione dando origine al micronucleo (Figura 2) (Gustavino *et al.*, 2013).

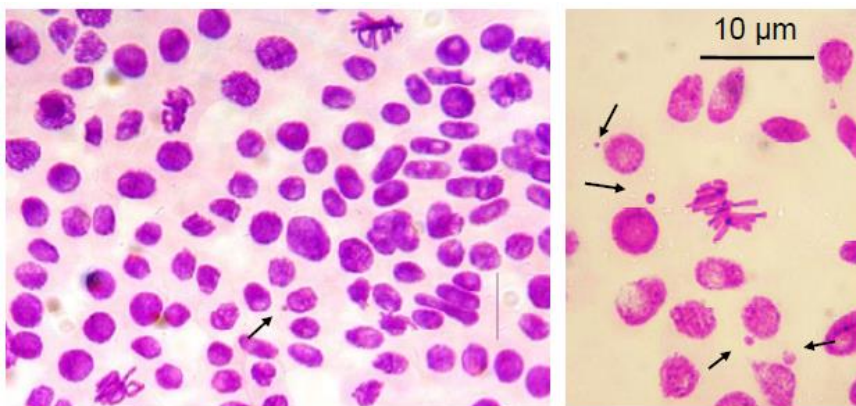


Figura 2. Micronuclei in cellule di apici radicali di *Vicia faba* al microscopio ottico (indicati da frecce). L'attività proliferativa dei tessuti esaminati è dimostrata dalla presenza di mitosi (colorazione Feulgen)

Dal momento della loro comparsa, la frequenza dei micronuclei raggiunge il valore massimo per poi diminuire attraverso le generazioni, poiché ad ognuna di esse si dimezza il numero di cellule che li ereditano (Figura 3) (Gustavino *et al.*, 2013). Inoltre, un'ulteriore riduzione della loro frequenza può essere determinata da meccanismi di eliminazione delle cellule micronucleate per incompatibilità con la sopravvivenza cellulare dovuta agli effetti genetici della mutazione, o dalla possibilità che i cromosomi all'interno dei micronuclei vengano reintegrati nel nucleo principale durante le mitosi successive (Rizzoni *et al.*, 1989; Gustavino, 2006).

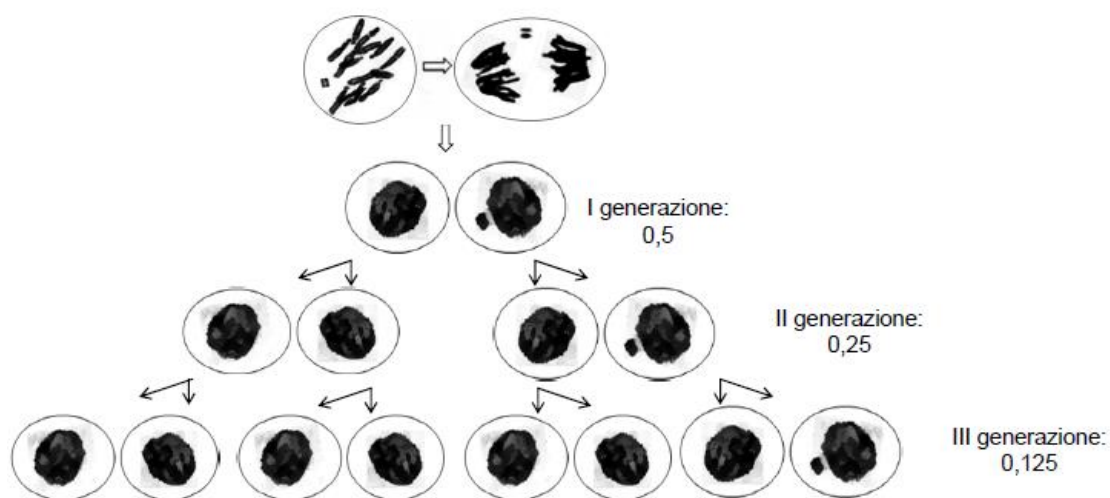


Figura 3. Insorgenza di un micronucleo, a partire dalla formazione di un frammento cromosomico rilevato in mitosi (delezione), presente in una delle due cellule figlie prodotte dalla prima divisione mitotica (la sua frequenza iniziale viene dimezzata ad ogni ciclo di divisione cellulare successivo, risultando 1/4 nella popolazione di II generazione, e 1/8 in quella di III generazione)

La durata del tempo di esposizione all'agente di cui si vuole studiare l'effetto mutageno può influenzare notevolmente la risposta della cellula nella induzione dei micronuclei. Si possono verificare due situazioni:

- *esposizione breve*: può già essere efficace nell'indurre frammentazione cromosomica e manifestare immediatamente l'aumento della frequenza dei micronuclei e in tempi prolungati può determinare l'arresto della proliferazione e/o morte delle cellule;
- *esposizione prolungata*: simile ad un'esposizione cronica in quanto l'effetto mutageno è lieve e risulta compatibile con la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule. La formazione dei micronuclei, dopo un'iniziale aumento, sarà costante.

È importante quindi predisporre un protocollo che preveda entrambe le esposizioni per evitare valutazioni errate sul potenziale mutageno dei contaminanti ambientali esaminati.

Controllo negativo

Come nella progettazione di qualsiasi saggio biologico, almeno un gruppo di organismi non è sottoposto alla sostanza di prova o al campione, ma è trattato esattamente nello stesso modo degli organismi esposti per misurare la frequenza spontanea degli eventi mutazionali. Il gruppo di radici utilizzate come controllo negativo vengono esposte all'acqua fino ai tempi stabiliti dal protocollo.

Controllo positivo

Allo scopo di dimostrare l'effettiva sensibilità del sistema biologico utilizzato, si inserisce un ulteriore punto sperimentale. Un gruppo di piantine viene sottoposto a trattamento con un agente mutageno forte come l'Idrazide Maleica diluita alla 10^{-4} M per 4 ore, seguito da 44 o 68 ore di recupero in acqua di fonte.

Analisi dell'indice mitotico e della frequenza dei micronuclei

L'analisi della frequenza dei micronuclei si effettua al microscopio ottico selezionando l'area di osservazione in base alla buona colorazione dello strato cellulare e alla presenza di un abbondante numero di mitosi. Lo stato proliferativo delle cellule esaminate influenza la frequenza dei MN, infatti, se l'analisi venisse effettuata in popolazioni di cellule non proliferanti, il risultato ottenuto sarebbe negativo poiché, anche nel caso in cui il campione fosse altamente mutageno, non si osserverebbe la comparsa dei MN a causa del blocco delle mitosi (Figura 2). La stima dell'indice mitotico, è dato dal rapporto numerico tra cellule in fase mitotica e il totale delle cellule esaminate.

Per effettuare l'analisi statistica dei dati ottenuti sono disponibili diversi programmi per PC, facilmente reperibili e di facile applicazione. I dati ottenuti dal conteggio dei micronuclei per la stima dell'eventuale effetto mutageno di uno xenobiotico è dato dal confronto binario eseguito tra la frequenza dei micronuclei del campione negativo rispetto alla frequenza rilevata in ciascuno dei punti sperimentali (es. il test di Mann-Whitney).

La frequenza dei micronuclei viene studiata analizzando per ogni punto sperimentale 10.000 cellule per apice per almeno 10 apici, per un totale di 100.000 cellule per punto sperimentale.

Bibliografia

- APAT, IRSA-CNR. Sezione 8000 - Metodi ecotossicologici. In: *Metodi analitici per le acque*. Roma: Agenzia per la Protezione dell'Ambiente e per i servizi Tecnici; 2003. (APAT Manuali e linee guida 29/2003).
- Bolognesi C, Hayashi M. Micronucleus assay in aquatic animals. *Mutagenesis* 2011;26:205-13.
- Brusick D. *Principles of genetic toxicology* - Second Edition. New York: Plenum Press; 1987.
- Feretti D, Ceretti E, Gustavino B, Zerbini I, Zani C, Monarca S, Rizzoni M. Ground and surface water for drinking: a laboratory study on genotoxicity using plant tests. *Journal of Public Health Research* 2012;1:31-7.
- Foltête AS, Dhyèvre A, Féraud JF, Cotellet S. Improvement of Vicia-micronucleus test for assessment of soil quality: a proposal for international standardization. *Chemosphere* 2011;85:1624-29.
- Grimaldi IL. *Come funziona il sistema SOS di correzione del DNA?* viaLattea.net. Categoria: Biologia Molecolare e Genetica: Scienze Biologiche. Views:4321; 18/11/2006. Disponibile all'indirizzo: <https://www.vialattea.net/content/2784/>; ultima consultazione 05/02/2018).
- Gustavino B, Caciolli S, Mancini L (Ed.). *Linea guida del test dei micronuclei in Vicia faba per la valutazione di effetti mutageni in acque dolci e sedimenti*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2013. (Rapporti ISTISAN 13/27).
- Gustavino B. Applicazione dei test di mutagenesi al monitoraggio ambientale. In: Cassoni F, Bocchi C (Ed.). *Atti del corso di formazione nazionale. Quaderno ARPA*. Bologna: IGTM; 2006. p. 50-9.

- ISO 11350. *Determination of the genotoxicity of water and waste water – Salmonella/microsome fluctuation test*. Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
- ISO 13829. *Water quality - Determination of the genotoxicity of water and waste water using the UMU test*. Geneva: International Organization for Standardization; 2000.
- ISO 6341. *Water quality -- Determination of the inhibition of the mobility of Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea) -- Acute toxicity test*. Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
- ISO16240. *Water quality - Determination of the genotoxicity of water and waste water- Salmonella/microsome test (Ames test)*. Geneva: International Organization for Standardization; 2005.
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). *Test No. 201: Freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test*. Paris: OECD Publishing; 2011. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2)
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). *Test No. 211: Daphnia magna Reproduction Test*. Paris: OECD Publishing; 2012. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2).
- OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development). *Test No. 471: Bacterial Reverse Mutation Test*. Paris: OECD Publishing; 1997. (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4).
- Ohe T, Watanabe T, Wakabayashi K. Mutagens in surface waters: a review. *Mutat Res* 2004;567:109-49.
- Rizzoni M, Tanzarella C, Gustavino B, Degrassi F, Guarino A, Vitagliano E. Indirect mitotic nondisjunction in *Vicia faba* and Chinese hamster cells. *Chromosoma* 1989;97:339-46.
- UNI EN ISO 11348-3. *Water quality-Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of Vibrio fischeri (Luminescent bacteria test). Method using frized-dried bacteria*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione 2007.
- UNI EN ISO 8692. *Water quality-Freshwater algal growth inhibition tests with unicellular green algae*. Milano: Ente Nazionale Italiano di Unificazione; 2005.
- White PA, Claxton LD. Mutagens in contaminated soil: a review. *Mutat Res* 2004; 567:227-345.

APPROCCI ECOTOSSICOLOGICI INNOVATIVI AI FINI DELLA PROTEZIONE AMBIENTALE E DELLA SALUTE UMANA

Ines Lacchetti, Walter Cristiano, Kevin Di Domenico, Margherita Corti
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Premessa

È ormai noto che i cambiamenti globali in atto possono alterare l'esposizione umana agli inquinanti in modo diretto o indiretto. Il rilascio e l'immissione nell'ambiente di miscele di contaminanti, possono generare fattori di stress multipli a diversi livelli dell'ecosistema. La loro diffusione, interazione ed effetti sulla salute umana, inoltre, sono spesso ignoti o poco conosciuti, tanto da essere necessaria l'individuazione di approcci e metodologie innovative in una ottica di prevenzione per la salute umana (Mancini *et al.*, 2017).

In questo contesto il ruolo dell'ecotossicologia diventa fondamentale per la gestione e la comprensione di potenziali effetti avversi derivanti dall'esposizione multipla a contaminanti considerati emergenti.

La conoscenza e il rilevamento degli impatti sugli ecosistemi, attraverso gli studi ecotossicologici, rappresentano un elemento chiave di prevenzione primaria nell'ottica di protezione dell'ambiente e della salute umana, attraverso la comprensione e l'individuazione delle modalità di azione dei diversi contaminanti.

In Italia l'ecotossicologia viene riconosciuta anche a livello normativo come valido supporto alle analisi chimiche. Ad esempio viene prevista la conduzione di saggi ecotossicologici per la classificazione dei rifiuti (HP14), per la valutazione delle acque reflue, per la classificazione dei materiali di dragaggio, per la derivazione di valori limite (es. standard di qualità ambientali), nonché nel testo unico ambientale Legge 152/2006 per la qualità delle acque superficiali.

In Europa l'interesse e la consapevolezza crescente verso le potenzialità dell'ecotossicologia si stanno concretizzando con la formazione di gruppi di esperti ad hoc e attraverso la ricerca di metodi validi e affidabili che nel contempo risultino di facile applicazione. Tutto ciò sta indirizzando i ricercatori verso la scelta di batterie integrate di biosaggi che prevedano sia la valutazione di effetti di tossicità acuta e cronica ma anche effetti genotossici.

Modello “zebrafish” in ecotossicologia: il *Fish Embryo Acute Toxicity test*

Nei progetti europei che si rivolgono in particolare alla qualità delle acque superficiali, viene inserito tra i saggi il *Fish Embryo Acute Toxicity* (FET) test, poiché sembra essere molto promettente anche in sostituzione del saggio di tossicità acuta su pesci adulti.

Tale saggio è stato adottato il 26 luglio 2013 dall'*Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) e inserito come linea guida per il Test di sostanze chimiche (OECD, 2013) ed è già utilizzato in Europa per testare farmaci, pesticidi e prodotti chimici, in particolare in Germania è stato reso obbligatorio dal 2005 per la sorveglianza delle acque reflue urbane e

industriali. Al fine di ridurre il numero di test sugli animali, il FET test è stato recentemente suggerito dal regolamento europeo REACH (*Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of Chemicals*) che promuove metodi alternativi per la valutazione dei pericoli delle sostanze, come uno dei metodi alternativi ai test di tossicità nei pesci adulti (ECHA, 2016).

Il FET test prevede l'utilizzo di embrioni di pesci tra questi la specie *Danio rerio* (Hamilton-Buchanan, 1822) più conosciuto come zebrafish. Zebrafish è considerato il modello animale probabilmente designato a sostituire il modello "roditore" in particolare negli studi sanitari. Negli ultimi anni, infatti, si è registrato un forte e crescente utilizzo di zebrafish nella ricerca biomedica soprattutto dopo l'intero sequenziamento del suo genoma e in seguito alla dimostrazione di una correlazione esistente tra le risposte fisiologiche dei pesci con i vertebrati superiori quali l'uomo.

I principali vantaggi nell'utilizzo di zebrafish rispetto ad altri vertebrati, come ad esempio i roditori, è senza dubbio il suo facile allevamento in laboratorio e la trasparenza dell'embrione. Sono ugualmente da ricordare anche altri fondamentali aspetti che fanno di zebrafish l'organismo sempre più utilizzato negli studi scientifici: ciclo vitale breve, elevata produzione di uova (circa 100 uova a deposizione), fecondazione esterna, trasparenza dell'embrione, rapido sviluppo embrionale, costi e spazi ridotti, assenza di alimentazione per l'intera durata del test, semplicità e rapidità del metodo, quantità di scarti prodotti contenuta (~ 200mL), risorse impegnate e costi ridotti, non rientra nella Direttiva 2010/63/UE del Parlamento e del Consiglio dell'Unione Europea.

Le prime ricerche con zebrafish risalgono agli anni '60 del secolo scorso in cui *Danio rerio* venne utilizzato in studi pionieri di biologia dello sviluppo dal ricercatore George Streisinger, Università dell'Oregon.

Negli anni '80 vengono condotti studi di carcinogenesi indotta da agenti chimici e a partire dagli anni '90, grazie alla messa a punto di metodologie di transgenesi, zebrafish diviene modello sperimentale affermato per studi sul cancro, infatti lo sviluppo di tumori in *Danio rerio* è quasi sempre comparabile a quello umano, sia dal punto di vista istologico che genetico e/o genomico (Ceol *et al.*, 2008; Kaufman *et al.*, 2016).

Negli ultimi anni l'utilizzo di organismi mutanti (fluorescenti) chimicamente indotti e di ablazioni funzionali ha permesso l'impiego di zebrafish nello studio di diverse malattie umane, ad esempio per modellizzare il sistema ematopoietico, cardiovascolare, studi sul sistema visivo, disordini renali, in studi sull'angiogenesi e sulla sordità. È considerato, inoltre, un modello emergente per lo studio di modelli neurodegenerativi e neuromuscolari come la malattia di Alzheimer (Newman *et al.*, 2014; Pu *et al.*, 2017).

Più recentemente il modello zebrafish è utilizzato anche nei monitoraggi ambientali e in ecotossicologia, poiché si è dimostrato un organismo molto sensibile a differenti contaminanti anche presenti in miscele ed è considerato un valido indicatore della presenza di inquinanti emergenti e sostanze neurotossiche (Hollert *et al.*, 2015).

Il test acuto con zebrafish ha recentemente avuto un crescente aumento di impiego dopo la pubblicazione della linea guida dell'OECD per il test delle sostanze chimiche, che utilizza embrioni di *Danio rerio* fino a 96 ore, periodo in cui il pesce non è in grado di alimentarsi autonomamente. Questo aspetto è fondamentale per gli studi scientifici che lo utilizzano poiché li svincola dall'autorizzazione alla sperimentazione animale, garantendo comunque risultati sovrapponibili con il corrispondente test acuto su pesci adulti (OECD, 2013; EURL ECVAM, 2014).

Come funziona il FET test

Il principio del FET test si basa sull'esposizione di singole uova di *Danio rerio* poste in piastre da 24 pozzetti per valutare l'eventuale embriotossicità del campione.

Il test, che deve iniziare entro 90 minuti dopo la fecondazione delle uova, viene condotto in triplo su cinque concentrazioni del campione. È previsto l'allestimento di anche di un controllo positivo ad una concentrazione fissa di 4 mg/L di 3,4-dicloroanilina per ogni gruppo di uova utilizzate. Le piastre multipozzetto contenenti per ciascuna concentrazione 20 uova e 4 per il controllo negativo interno alla piastra, vengono incubate a $26 \pm 1^\circ\text{C}$ con ciclo luce-buio, per 96 ore.

Eventuali malformazioni dell'embrione vengono registrate attraverso l'osservazione ogni 24 ore, di quattro distinti *endpoint*:

- *Coagulazione dell'embrione*
Può verificarsi anche entro poche ore dall'inizio esposizione e indica effetto tossici acuti generico.
- *Mancanza di formazione del somite*
Il somite dovrebbe essere visibile dopo 12 ore dalla fecondazione e se assente, l'embrione non si svilupperà ulteriormente determinandone la morte;
- *Mancato distacco della coda*
Il distacco della coda dal tuorlo si osserva dopo 24 ore dalla fecondazione, indicando la normale crescita dell'embrione.
- *Assenza di battito cardiaco*
Il battito è facilmente rilevabile dopo 30 ore dalla fecondazione e la sua assenza indica la morte dell'embrione.

Al termine del periodo di esposizione, la tossicità acuta è determinata sulla base di un risultato positivo di una delle quattro osservazioni apicali registrate e espressa come LC_{50} (*Lethal Concentration, 50 percent*).

Attraverso l'impiego di questo metodo, inoltre, è possibile l'osservazione anche di diversi *endpoint* subletali che possono fornire importanti informazioni sui “modes of action” delle possibili sostanze tossiche presenti nei campioni. Attraverso lo studio di questi endpoint, quindi, si possono rilevare effetti di neurotossicità, cardiotoxicità, teratogenicità, genotossicità, immunotossicità e interferenti endocrini dovuta alla presenza di contaminanti anche a basse concentrazioni e si rivelano spesso più sensibili se paragonati ai corrispondenti endpoint acuti (Velki *et al.*, 2017). Un elenco dei possibili *endpoint* subletali rilevabili su embrioni e larve di zebrafish sono riportati nella Tabella 1 (Lammer *et al.*, 2009).

Tra i possibili *endpoint* rilevabili sono da menzionare ad esempio la deformità, la frequenza cardiaca, l'attività embrionale che possono essere facilmente registrati e analizzati attraverso sistemi video, associati a software specifici, semplificando in tal modo le misure di correlazione degli effetti di differenti sostanze contaminanti.

Il comportamento delle larve, inoltre, è considerato uno strumento molto efficace nella descrizione dei “modes of action” di molteplici sostanze (Weichert *et al.*, 2017). Anche per questo *endpoint* esistono attualmente in commercio sistemi di videotracking che permettono di tracciare e analizzare simultaneamente il percorso dei singoli individui alloggiati in piastre multipozzetto.

Al fine di poter valutare gli effetti sulla salute umana esercitata da una miscela di contaminanti presenti nell'ambiente, il Reparto “Ecosistemi e salute” dell'Istituto Superiore di Sanità sta conducendo studi di ricerca sperimentale su embrioni di zebrafish con l'obiettivo di individuare un segnale precoce di allerta di contaminazione e, conseguentemente, di rischio per l'uomo.

Tabella 1. Endpoint letali e subletali per il FET test con *Danio rerio*

Endpoint	Tempo di esposizione				
	8h	24h	48h	96h	108/120h
<i>Endpoint di letalità</i>					
Coagulazione	+	+	+	+	
Mancato distacco della coda		+	+	+	
Assenza di battito cardiaco		+	+	+	
Mancata formazione dei somiti			+	+	
Mancanza di schiusa					+
<i>Endpoint subletali di sviluppo</i>					
Completamento della gastrula	+				
Formazione dei somiti		+			
Sviluppo degli occhi		+	+	+	
Movimenti spontanei		+	+	+	
Battito/flusso cardiaco			+	+	
Frequenza cardiaca			+	+	
Pigmentazione			+	+	
Formazione di edema			+	+	
<i>Endpoint di teratogenicità</i>					
Malformazione della testa	+	+	+	+	
Malformazione otoliti	+	+	+	+	
Malformazione della coda	+	+	+	+	
Malformazione del cuore	+	+	+	+	
Modificazione della struttura della corda	+	+	+	+	
Scoliosi	+	+	+	+	
Rachitismo	+	+	+	+	
Deformazione del sacco vitellino	+	+	+	+	
Ritardo generale di accrescimento	+	+	+	+	
Lunghezza coda					+

Gli studi sono condotti attraverso l'integrazione dei risultati degli endpoint letali e degli endpoint subletali con i risultati di genotossicità-Comet Assay applicati sulle stesse larve. Zebrafish, infatti, è considerato un ottimo modello multi-endpoint (Pham *et al.*, 2016) e viene utilizzato in diversi studi anche di genotossicità (Babic *et al.*, 2017).

L'obiettivo, pertanto, è quello di acquisire maggiori e informazioni più dettagliate in breve tempo sul potenziale tossico di un campione ambientale nell'ottica della prevenzione della salute umana. A tal fine, inoltre, si sta elaborando una scala di tossicità integrata con lo scopo finale di formulare, insieme alle nuove conoscenze acquisite, una futura proposta normativa a supporto del legislatore.

Bibliografia

- Babic S, Barisi J, Visi H, Klobucar RS, Topic Popovic N, Strunjak-Perovic I, Coz-Rakovac R, Klobucar G. Embryotoxic and genotoxic effects of sewage effluents in zebrafish embryo using multiple endpoint testing. *Water Research* 2017;115:9-21.
- Ceol CJ, Houvras Y, White RM, Zon LI. Melanoma biology and the promise of zebrafish. *Zebrafish* 2008;5(4):247-55.
- ECHA. *Analysis of the relevance and adequateness of using Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test Guidance (OECD 236) to fulfil the information requirements and addressing concerns under REACH*. Helsinki: European Chemicals Agency; 2016. (Report ECHA-UFZ contract ECHA/2014/341).

- Disponibile all'indirizzo: https://echa.europa.eu/documents/10162/13639/fet_report_en.pdf; ultima consultazione 27/05/2019).
- Europa. Direttiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 settembre 2010 sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici (Testo rilevante ai fini del SEE). *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 276/33* del 20.10.2010.
- European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing. *EURL ECVAM Recommendation on the Zebrafish Embryo Acute Toxicity Test Method (ZFET) for Acute Aquatic Toxicity Testing*. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2014. (Report EUR 26710). Disponibile all'indirizzo: http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC91098/eur%2026710_eurl%20ecvam%20zfet%20recommendation__online.pdf; ultima consultazione 27/5/2019.
- Hollert H, Keiter SH. *Danio rerio* as a model in aquatic toxicology and sediment research. *Environ Sci Pollut Res* 2015;22:16243-6.
- Italia. Decreto legislativo n. 152 - 3 aprile 2006. Norme in materia ambientale. *Gazzetta Ufficiale* n. 88, 14 aprile 2006. *Supplemento. Ordinario* n. 96.
- Italia. Decreto legislativo n. 26 – 4 marzo 2014. Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati ai fini scientifici. *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 61, 14 marzo 2014.
- Kaufman CK, Mosimann C, Fan ZP, Yang S, Thomas AJ, Ablain J, Tan JL, Fogley RD, van Rooijen E, Hagedorn E, Ciarlo C, White RM, Matos DA, Puller AC, Santoriello C, Liao EC, Young RA, Zon LI. A zebrafish melanoma model reveals emergence of neural crest identity during melanoma initiation. *Science* 2016;351(6272):aad2197.
- Lammer E, Carr GJ, Wendler K, Rawlings JM, Belanger SE, Braunbeck T. Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test? *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2009;149(2):196-209.
- Mancini L, Marcheggiani S, Puccinelli C, Lacchetti I, Carere M, Bouley T. Global environmental changes and the impact on ecosystems and human health. *Energia, ambiente e innovazione* 2017;3:98-105.
- Newman M, Ebrahimie E, Lardelli M. Using the zebrafish model for Alzheimer's disease research. *Front Genet* 2014;5:189.
- OECD. *Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) test. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 2*. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development Publishing; 2013.
- Pham DH, De Roo B, Nguyen XB, Vervaele M, Kecskés A, Ny A, Copmans D, Vriens H, Locquet JP, Hoet P, de Witte PA. Use of zebrafish larvae as a multi-endpoint platform to characterize the toxicity profile of silica nanoparticles. *Sci Rep* 2016;6:37145.
- Pu YZ, Liang L, Fu AL, Liu Y, Sun L, Li Q, Wu D, Sun MJ, Zhang YG, Zhao BQ. Generation of Alzheimer's disease transgenic zebrafish expressing human APP Mutation under control of zebrafish appb promoter. *Curr Alzheimer Res.* 2017; 14(6): 668-679.
- Strähle U, Scholz S, Geisler R, Greiner P, Hollert H, Rastegar S, Schumacher A, Selderslaghs I, Weiss C, Witters H, Braunbeck T. Zebrafish embryos as an alternative to animal experiments: a commentary on the definition of the onset of protected life stages in animal welfare regulations. *Reproductive Toxicology* 2012; 33: 128-132.
- Velki M, Di Paolo C, Nelles J, Seiler TB, Hollert h. Diuron and diazinon alter behavior of zebrafish embryos and larvae in the absences of acute toxicity. *Chemosphere* 2017; 180: 65-76.
- Weichert FG, Floeter Carolin, Meza Artmann AS, Kamman U. Assessing the ecotoxicotoxicity of potentially neurotoxic substances – Evaluation of behavioural parameter in the embryogenesis of *Danio rerio*. *Chemosphere* 2017; 186: 43-50.

CIANOBATTERI TOSSICI E CAMBIAMENTI CLIMATICI

Maura Manganelli, Susanna Vichi

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

I cianobatteri sono un gruppo morfologicamente molto vario di procarioti fotosintetici antichissimi, diffusi in tutti gli habitat, compresi gli ambienti più estremi, dalle acque dolci alle sorgenti idrotermali alla crosta desertica.

In condizioni di abbondanti concentrazioni di nutrienti, limitato ricambio idrico, elevate temperature e stabilità termica possono svilupparsi rapidamente fino a raggiungere alte densità e consistenti biomasse, dando luogo alla formazione di fioriture distribuite nella zona eufotica o localizzate negli strati superficiali, subsuperficiali e profondi (Paerl & Huisman, 2009), anche se, in alcuni casi, specie tossiche come *Planktothrix rubescens* sono diventate dominanti in seguito alla combinazione di processi di riduzione del carico trofico di laghi altamente eutrofizzati e riscaldamento superficiale delle acque (es. nel Lago di Bourget, in Francia) (Jacquet *et al.*, 2005). Oltre a creare danni estetici e a causare fenomeni di anossia dannosi per gli ecosistemi, rappresentano un rischio per la salute perché possono produrre biotossine costituite da centinaia di peptidi secondari dette cianotossine, che possono essere tossiche per le cellule eucariotiche.

Le cianotossine più conosciute (per un approfondimento recente vedi le due rassegne Testai *et al.*, 2016 e Buratti *et al.*, 2017) sono le microcistine (>100 varianti conosciute), epatotossiche, alcune neurotossiche e promotori tumorali, le nodularine, epatotossiche, le cilindrospermopsine, citotossiche, le anatoxine e le saxitossine, neurotossiche, delle quali si conoscono, almeno in parte, le caratteristiche genetiche e in alcuni casi i meccanismi di tossicità. Oltre a queste, sono state scoperte altre classi di peptidi molto meno conosciute: anabaenopeptine, aeruginosine, cryptoficine, cianopeptoline, ciclamidi, microginine e microviridine (Chlipala *et al.*, 2011). Infine, recentemente è stato dimostrato che molte specie di cianobatteri producono anche sostanze con attività teratogena, simili ai retinoidi (Priebojova *et al.*, 2018).

Gli esseri umani possono essere esposti alle cianotossine tramite ingestione (acqua potabile e balneabile, attraverso la catena alimentare acquatica), aerosol e via parenterale, se l'acqua contaminata in superficie viene utilizzata per l'emodialisi. Attualmente alcuni Paesi hanno stabilito dei limiti sulle concentrazioni di cianotossine (CTX) nell'acqua potabile sulla base di un'indicazione della World Health Organization (WHO, 2004), che ha fissato un limite di microcistine di 1 µg/L (determinato su dati tossicologici disponibili per la sola variante LR), e sulla base delle proprie esperienze locali (Chorus, 2012). Anche per l'uso ricreativo delle acque la WHO ha suggerito dei valori empirici di allerta (WHO, 2003), e ogni Paese ha adottato delle procedure di prevenzione individuali (Chorus, 2012). Riguardo alle concentrazioni limite di CTX negli alimenti, al momento non ci sono dati sufficienti per una corretta valutazione del rischio (Testai *et al.*, 2016a).

L'espansione dei cianobatteri in termini geografici e di abbondanza è un fenomeno in rapido accrescimento, probabilmente per una combinazione di eutrofizzazione e cambiamenti climatici (Paerl & Huisman, 2009), con conseguenti maggiori rischi per le popolazioni esposte. Tuttavia, i dati disponibili non consentono ancora di costruire modelli previsionali generalizzabili, soprattutto in relazione alla tossicità delle fioriture, che dipende dal rapporto fra i genotipi tossici/non tossici, dalla produzione e dal tasso di produzione di cianotossine (Manganelli *et al.*,

2012), dal destino delle cianotossine (libere o legate alle proteine, con un probabile ruolo antiossidante) (Zilliges *et al.*, 2011). La produzione delle cianotossine è influenzata da molti fattori ambientali (tra cui disponibilità di nutrienti, temperatura, luce, CO₂) attraverso modalità e meccanismi non completamente chiari (Testai *et al.*, 2016a). Inoltre, i cambiamenti climatici si riflettono su una serie di parametri ambientali che influenzano in modo a volte apparentemente discordante la fitness evolutiva e la tossicità delle diverse specie. Di seguito vengono esaminati separatamente alcuni di questi fattori che possono controllare direttamente o indirettamente la tossicità dei cianobatteri.

Forti piogge e inondazioni

Studi recenti hanno dimostrato che l'aumento significativo delle precipitazioni che si è registrato negli ultimi anni nelle aree dell'emisfero settentrionale, a latitudini medie, con conseguente aumento della frequenza e intensità delle alluvioni, è strettamente associato al fenomeno dei cambiamenti climatici (IPCC, 2015). Il deflusso delle acque dolci ha un grande impatto sugli estuari, in quanto influenza il tempo di residenza dell'acqua, il rilascio di nutrienti, la stratificazione verticale, la salinità e il controllo dei tassi di crescita del fitoplancton (Moore *et al.*, 1997). L'aumento di immissioni di acque dolci a seguito di forti piogge o inondazioni può diluire l'ambiente estuario riducendo la salinità e promuovendo fioriture estremamente abbondanti di cianobatteri tossici, in seguito al trasporto di inoculi di cianobatteri tolleranti alla salinità. Questo è quanto si è verificato in Australia occidentale e nel delta del fiume Sacramento in California (Robson *et al.*, 2003; Lehman *et al.*, 2010), dove la combinazione di un massiccio afflusso di acqua dolce causato da un giorno di pioggia insolitamente abbondante, in concomitanza di alte temperature e la giusta concentrazione di nutrienti, che hanno favorito un rapido tasso di crescita, ha determinato la formazione di estese e dense fioriture tossiche di *Microcystis aeruginosa*.

Un effetto indiretto associato al verificarsi di forti precipitazioni e inondazioni è l'aumento della quota extracellulare di tossine, attraverso il trasporto di cianobatteri tossici in acque salmastre. Nel 2005 nell'estuario del fiume St. Lucia, uno dei più grandi sistemi idrici salmastri della costa orientale della Florida, un'ondata di forti piogge ha causato il dilavamento di *M. aeruginosa* nell'estuario, che è stato improvvisamente interessato da una fitta fioritura, con un incremento circa dell'80% della concentrazione delle tossine rilasciate in acqua (Ross *et al.*, 2006), a seguito di lisi cellulare correlata al brusco cambiamento in salinità (32 ‰) (Tonk *et al.*, 2007).

Il verificarsi di forti piogge e inondazioni può inoltre aumentare la disponibilità di nutrienti dei laghi, che a loro volta possono indurre la proliferazione dei cianobatteri: una imponente fioritura di *M. aeruginosa* e *Aphanizomenon flos-aquae* è stata riportata in un piccolo lago dove veniva praticata acquacoltura in Bangladesh (Jewel *et al.*, 2003), in concomitanza di alte temperature (31°C) e piogge intense, che hanno generato una maggiore concentrazione di nutrienti (9,5 mg L⁻¹) in seguito alla massiccia immissione di fosforo dalle risaie circostanti verso gli stagni di acquacoltura. Il deflusso e lo scarico dagli impianti di trattamento delle acque reflue, ricchi di fosforo, ferro e carbonio, potrebbero essere responsabili della diffusione della specie di cianobatteri *Lyngbya majuscula* (azoto fissatrice) lungo la costa del Queensland (Elmetri *et al.*, 2004; Albert *et al.*, 2005). In Danimarca si prevede che l'aumento del carico di fosforo nei laghi e nelle aree costiere in seguito a fenomeni di erosione sulla terra esercitata dalle acque meteoriche dovrebbe aumentare nei prossimi 100 anni dal 3 al 16%, a causa delle maggiori precipitazioni invernali; un cambiamento nella composizione delle comunità dei laghi è già stato osservato, con

una tendenza al predominio dei cianobatteri e dei dinoflagellati rispetto a diatomee e crisofite (Jeppesen *et al.*, 2009).

Oltre a quanto appena descritto, un importante problema sanitario riguarda la diffusione di cianobatteri tossici e delle loro tossine negli ambienti costieri, dove sono collocati gli impianti di acquacoltura di organismi eduli, che non vengono routinariamente controllati per questo tipo di tossine, con un conseguente aumento del rischio correlato all'esposizione degli organismi commestibili (Manganelli *et al.*, 2012) e dunque dei loro consumatori.

Siccità e aumento di salinità

Un'altra conseguenza dei cambiamenti climatici, apparentemente in contrasto con quanto descritto precedentemente, è l'aumento della frequenza e della durata dei periodi di siccità, in crescita in alcune regioni alle medie latitudini e nei tropici, in alcune aree già stressate per la carenza d'acqua (IPCC, 2015). Questi eventi possono influenzare la proliferazione dei cianobatteri aumentando la disponibilità di nutrienti (che si concentrano in seguito alla forte evaporazione dell'acqua superficiale in estate) e riducendo l'idrodinamismo dei corpi idrici (aumentando così l'estensione delle zone di acque stagnanti in cui la crescita dei cianobatteri è più facile). La forte riduzione del flusso d'acqua di uno dei maggiori sistemi fluviali australiani, in concomitanza con un'elevata concentrazione di nutrienti e alte temperature, ha dato origine ad una delle più grandi fioriture della specie *Anabaena circinalis*, che si è estesa per una lunghezza > 1000 km (Bowling & Baker, 1996).

La situazione già critica osservata nella baia di San Francisco (vedi paragrafo precedente) è peggiorata negli anni in seguito a periodi prolungati di siccità che hanno interessato il bacino idrografico del fiume. In questo caso, la combinazione di un innalzamento della temperatura in anticipo di un mese rispetto al solito, una elevata concentrazione di nutrienti a causa dell'attività agricola e una forte riduzione della portata del fiume a causa dell'evaporazione e dell'utilizzo dell'acqua per scopi irrigui, ha causato una fioritura tossica molto più intensa ed estesa nello spazio e nel tempo, anche nell'area estuariale, con il conseguente accumulo di cianotossine anche in questa zona (Lehman *et al.*, 2017). Successivamente, la ricerca di tossine di origine marina e di origine cianobatterica (acido domoico dalle diatomee, microcistine dai cianobatteri, *Paralytic Shellfish Poisoning* (PSP) e *Diarrohic Shellfish Poisoning* (DSP) da dinoflagellati) nel sedimento e nei mitili in varie zone del delta ha evidenziato fenomeni di accumulo di tutte e 4 le tossine fin nel 37% degli organismi analizzati, dimostrando la necessità di iniziare a controllare anche in organismi marini la presenza di tossine generalmente di acque dolci.

Infine, nelle comunità fitoplanctoniche costiere esposte a una riduzione del flusso di acqua dolce e a maggiori intrusioni di acqua salata le specie più sensibili possono estinguersi a favore dei cianobatteri più tolleranti (Tonk *et al.*, 2007).

Un'altra importante conseguenza è che le piogge che seguono il periodo di siccità possono trasportare le cianotossine nelle falde acquifere sotterranee attraverso il suolo secco e spaccato, contaminando così preziose fonti di acqua potabile.

Oltre ai cambiamenti ambientali ora descritti e a fenomeni di lisi cellulare, si ritiene che la salinità, spesso correlata a fenomeni di eutrofizzazione, sia un importante fattore diretto nel controllo della tossicità e della variabilità delle comunità cianobatteriche, soprattutto nel caso degli ecosistemi marini. La letteratura disponibile riporta dati contrastanti riguardanti la correlazione tra salinità e produzione di tossine. Una correlazione negativa tra potenzialità di produrre microcistine (espressa come numero di copie *mcyE*-positive) e salinità è stata recentemente osservata nel genere *Microcystis* da Kramer *et al.* (2018) nelle acque del lago Okeechobee (Florida), in cui un aumento della concentrazione salina coincideva con un rapido

declino della frazione di individui tossici all'interno della comunità, e in un altro studio precedente condotto sul ceppo *M. aeruginosa* PCC7806 (Martin-Luna *et al.* 2015). Un aumento significativo nella produzione di microcistine da parte del genere *Microcystis* in corrispondenza di elevata salinità delle acque nel reservoir Qingcaosha (Shanghai) è stato invece riportato da Chen *et al.* (2015), suggerendo che la produzione di microcistine in relazione alle variazioni della salinità sia strettamente ceppo-specifica.

Temperatura

L'aumento della temperatura, uno degli effetti principali del drammatico aumento dei gas serra dall'inizio dell'era industriale (IPCC, 2015), ha effetti diretti e indiretti sui cianobatteri. In sinergia con l'eutrofizzazione di molti bacini può aumentare direttamente la proliferazione di alcuni generi di cianobatteri come *Microcystis*, *Anabaena* e *Oscillatoria*, che a temperature più elevate hanno un tasso di crescita più alto rispetto alle diatomee (Robarts & Zohary, 1987) e per questo risultano competitivamente superiori rispetto ad altre specie di cianobatteri o di fitoplancton.

La temperatura crescente può determinare uno spostamento degli areali di distribuzione dei cianobatteri verso i poli e influenzare la loro tossicità (Paerl & Huisman, 2009). Si prevede che il riscaldamento darà inizio a fioriture primaverili di cianobatteri in zone ad alta latitudine e temperate dove prima avvenivano più tardi nella stagione calda (Peeters *et al.*, 2007) e accelererà la diffusione e l'abbondanza delle specie subtropicali nelle regioni temperate di tutto il mondo. La specie *Cylindrospermopsis raciborskii* è probabilmente l'esempio più noto. È stato originariamente trovato nei tropici, nell'Africa centrale e nei laghi australiani; attualmente, a partire dalla metà degli anni '90 del secolo scorso, è stato segnalato in diverse aree temperate, in Europa e nell'America centrale; il cambiamento climatico è uno dei fattori utilizzati per spiegare la sua diffusione (Haande *et al.*, 2008). Nonostante l'espansione areale, il rischio dovuto all'esposizione a *Cylindrospermopsis raciborskii* non può essere considerato direttamente proporzionale al riscaldamento e non è provato che aumenterà, poiché le tossine prodotte nei diversi continenti sono diverse: i ceppi australiani producono cilindrospermopsina (Saker & Griffiths, 2000), mentre i ceppi brasiliani e europei producono, rispettivamente, saxitossine e una tossina ancora sconosciuta (Lagos *et al.*, 1999; Fastner *et al.*, 2003).

Un altro esempio di aspettativa di una maggiore diffusione delle specie tropicali è quello di *Trichodesmium* spp. negli oceani. Questa specie, diversamente da altre, può fissare l'azoto (processo anaerobico) probabilmente separando temporalmente il processo di fotosintesi (che produce ossigeno, diurno) da quello di fissazione dell'azoto (notturno), oltre a sfruttare un ridotto flusso di O₂ e un elevato tasso di respirazione tipici delle acque calde in cui si trova (Staal *et al.*, 2003). È stato stimato che lo spostamento verso i poli dell'isoterma di 20°C come conseguenza di un aumento di 3°C, entro il 2090, che pone un limite inferiore alla distribuzione di *Trichodesmium*, amplierà il suo range di distribuzione dell'11%, anche se questo sarà contrastato dalla riduzione del 16% della sua nicchia termica ai tropici, dove la temperatura dovrebbe superare i 30°C, corrispondenti a tassi di crescita subottimali (Breitbart *et al.*, 2007). Nonostante le premesse, quindi, è ragionevole aspettarsi una diminuzione di questa specie, rimanendo invariati tutti gli altri parametri.

Le interazioni complesse tra gli effetti diretti e indiretti della temperatura sono più spesso la causa di cambiamenti nella composizione della comunità e nelle specie dominanti. Si ritiene che l'aumento della stabilità termica e della stratificazione in laghi profondi eutrofici possa favorire la proliferazione di cianobatteri galleggianti, come *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, e aumentare le possibilità di sviluppo di fioriture superficiali (Huisman *et al.*, 2004). L'inverno più

mite in laghi eutrofici temperati potrebbe promuovere indirettamente anche la fioritura delle *Oscillatoriales*, inducendo un complesso cambiamento nella composizione della comunità di fitoplancton (Shatwell *et al.*, 2008).

L'aumento significativo della biomassa cianobatterica osservato nel corso degli anni nel Mar Baltico, composto principalmente da *Aphanizomenon flos-aquae*, *Nodularia spumigena* e *Anabaena sp.*, è stato correlato all'aumento della temperatura, alla variazione dell'idrologia e alla disponibilità di fattori nutritivi (Suikkanen *et al.*, 2007). I dati disponibili indicano che la stratificazione termica prolungata, dovuta al clima caldo, favorirebbe anche la crescita di specie come *Planktothrix rubescens* (Jacquet *et al.*, 2005), che di solito sono più adatte all'acqua più fredda.

Sulla base di quanto detto sembra pertanto ragionevole prevedere una maggiore esposizione ai cianobatteri (tossici e non tossici) degli organismi acquatici e dei loro consumatori, inclusi gli esseri umani.

La temperatura è uno dei parametri più studiati per il loro effetto sulla tossicità dei cianobatteri, anche se i dati disponibili sono ancora controversi e dipendono dalla concomitanza di altri parametri, come la luce e i nutrienti (Briand *et al.*, 2008; Davis *et al.*, 2009). Davis *et al.* (2009) hanno dimostrato che in 4 laghi negli Stati Uniti nord-orientali temperature e concentrazione di fosforo più elevate favorivano un aumento della produzione di microcistine in quanto stimolavano il tasso di crescita della frazione tossica della popolazione di *Microcystis* spp. Durante l'ultimo decennio l'aumento della temperatura superficiale minima di molti serbatoi e bacini idrici in Sud Africa sembra essere la causa diretta della proliferazione e fioritura dei cianobatteri tossici, poiché è stata osservata una correlazione con un aumento di mortalità di animali selvatici in diverse aree (Oberholster *et al.*, 2009).

In ceppi di *Oscillatoria agardhii* isolati dai laghi finlandesi la velocità di produzione delle microcistine ha raggiunto il massimo alla temperatura di crescita ottimale in un ceppo a 25°C mentre era costante nell'intervallo tra 15-25°C in un altro ceppo. Tuttavia, per entrambi i ceppi la crescita e la produzione di tossine sono diminuite a 30°C (Sivonene *et al.*, 1990). Per un ceppo sudafricano di *Microcystis aeruginosa* al crescere della temperatura fra 18°C e 28°C aumentava la crescita cellulare ma diminuiva la tossicità dei ceppi coltivati (Van der Westhuizen & Eloff, 1985). Anche in ceppi monoclonali di *Microcystis* isolati da laghi tropicali in Vietnam (range di temperatura fra 33 e 37°C) l'aumento di temperatura in condizioni di laboratorio corrispondeva ad una crescita più veloce e a una riduzione di microcistine (Bui *et al.*, 2018). In prove sperimentali per testare l'effetto delle variazioni di temperatura che normalmente si verificano durante l'evoluzione di una fioritura e delle concentrazioni di nitrato e urea su *Microcystis* in habitat temperato, la maggiore tossicità delle cellule, in termini di microcistine per cellula e espressione genica, coincideva con la temperatura minore (18°C) e diminuiva al crescere della temperatura (max 30°C) (Peng *et al.* 2018). Diversamente da quanto osservato per questi ceppi isolati di laboratorio, un effetto sinergico di temperatura e nutrienti è stato osservato su una comunità naturale di cianobatteri tossici di un lago olandese. Quando la comunità era esposta contemporaneamente a impulsi di nutrienti e aumento di temperatura, cresceva più velocemente del controllo e con una maggiore produzione di microcistine, mentre il solo aumento di temperatura non dava risultati significativi (Lurling *et al.* 2017).

Anche la produzione di cianotossine sembra essere inibita dalla maggiore temperatura nel ceppo tropicale di *Cylindrospermopsis* (Saker & Griffiths, 2000) e nel ceppo temperato di *Aphanizomenon* (Preußel *et al.*, 2009).

Inoltre, la temperatura può influire sulla tossicità influenzando il profilo delle varianti di tossina prodotte, come è stato descritto in un ceppo in coltura di *Aphanizomenon sp.*, che a seguito di un aumento di temperatura da 22 a 28°C, ha mostrato uno shift verso la produzione della variante più tossica tra le 4 tossine rilevate (Dias *et al.*, 2002). In due ceppi di *Anabaena* isolati

da un lago nel sud della Finlandia, a temperature diverse da quella ottimale di crescita (25°C) sono state osservate la diminuzione della quantità totale di tossine e un cambiamento del profilo delle varianti di microcistine prodotte: l'elevata irradiazione solare e l'alta temperatura hanno favorito la produzione della variante meno tossica MC-RR, mentre è stato osservato un aumento nella variante MC-LR a temperatura più bassa (Rapala *et al.*, 1997).

Un cambiamento nel profilo delle varianti strutturali delle MC in condizioni di elevate temperature è stato anche osservato in ceppi di *Microcystis* (Mowe *et al.* 2015; Giannuzzi *et al.* 2016). Questo fenomeno è plausibilmente dovuto alla multispecificità dei singoli domini del complesso per la biosintesi delle microcistine, e in particolare alla versatilità del primo modulo di *mcyB*, che è in grado di incorporare nella posizione variabile X delle microcistine una varietà di aminoacidi diversi (Christiansen *et al.* 2003). In particolare, ad alte temperature potrebbe verificarsi un cambiamento conformazionale nel punto di legame col substrato del primo modulo dell'enzima *mcyB* in grado di modificare la specificità verso il substrato, oppure potrebbe variare nella cellula la composizione degli aminoacidi disponibili, con conseguente shift nella sintesi delle microcistine da un congenere all'altro (Giannuzzi *et al.* 2016).

È possibile che i risultati degli esperimenti sull'effetto della temperatura siano talvolta contraddittori a causa delle diverse condizioni sperimentali applicate; inoltre, solo in una piccola minoranza dei casi sono stati valutati gli effetti dell'esposizione delle cellule a temperature uguali o superiori ai 25°C. In alcuni casi in cui all'aumentare della temperatura, aumenta la produzione di microcistine, questa è causata da un aumento del livello di trascritto (Kim *et al.* 2018), oppure nelle popolazioni naturali è più frequentemente legata all'aumento della quota dei ceppi tossici rispetto a quelli non tossici all'interno delle popolazioni (Dziallas & Grossart 2011; Gehringer & Wannicke 2014).

A tutt'oggi, la funzione biologica delle tossine nei cianobatteri non è completamente chiarita: nel caso delle microcistine, un probabile ruolo antiossidante di tali metaboliti secondari (Giannuzzi *et al.* 2012, 2016) spiegherebbe l'aumentata concentrazione di tali composti che si riscontra nei cianobatteri esposti ad alte temperature. Infatti, poiché gli ambienti caldi sono generalmente associati a una elevata concentrazione di radicali liberi (*Reactive Oxygen Species*, ROS) altamente reattivi e capaci di indurre danni cellulari, è stato proposto per le tossine un ruolo di 'scavenger' nei confronti dei ROS, che conferirebbe agli individui tossici un vantaggio adattativo importante rispetto a quelli non tossici.

Aumento di CO₂ e radiazioni UV-B

Altri due fattori coinvolti nei cambiamenti climatici sono la crescente concentrazione di CO₂ nell'atmosfera e negli ambienti acquatici superficiali e la maggior incidenza delle radiazioni ultraviolette (UV), che hanno importanti ripercussioni sulla sopravvivenza di molti organismi. Gli effetti di entrambi questi fattori sono al momento poco studiati, ma è probabile che acquisiranno un'importanza crescente.

La CO₂ è uno dei fattori limitanti la produzione primaria in ambiente acquatico, oltre a regolare l'acidità dell'ambiente acquatico. I cianobatteri hanno un efficiente meccanismo di concentrazione di carbonio (*Carbon Concentrating Mechanism*, CCM) (Shapiro, 1997) che consente loro di essere competitivamente superiori ad altre specie algali in caso di riduzione di CO₂ nell'acqua. Questo è uno dei motivi per cui spesso le fioriture di cianobatteri si verificano nelle fasi più tardive della stagione calda, in seguito a fioriture algali. Un articolo recente, tuttavia, ha analizzato la sequenza genica del sistema CCM in circa 20 ceppi di *Microcystis* e ha individuato 3 genotipi: uno con un sistema di uptake con grande affinità e scarso flusso di CO₂, che ha una fitness alta durante i periodi di bassa concentrazione di CO₂, uno con un sistema con

scarsa affinità ma elevato flusso, che presenta una fitness maggiore durante i periodi di elevata concentrazione, e uno in cui i due genotipi sono presenti entrambi (Sandrini *et al.*, 2014). In un lavoro successivo, gli autori hanno verificato che le variazioni nella concentrazione di CO₂ durante una fioritura corrispondono alla successione di questi tre genotipi nella stessa popolazione (Sandrini *et al.*, 2016).

Sembrirebbe che in condizioni di elevata CO₂ e elevate temperature siano favorite le fioriture di popolazioni che producono tossine (Kleinteich *et al.*, 2012; O'Neil *et al.*, 2012), anche se sono stati osservati fioriture tossiche anche in condizioni di limitazione di luce e di CO₂ (Van De Waal *et al.*, 2011). La produzione di tossine da parte dei cianobatteri può variare in risposta all'intensità della radiazione solare UV-B, per la quale negli ultimi quarant'anni si è rilevato un crescente aumento attribuito a immissioni nell'atmosfera di composti gassosi clorurati come vari clorofluorocarburi (CFC) e altri inquinanti di origine antropica. Gli studi di Zilliges *et al.* (2011) e Yang *et al.* (2015) su cellule di *Microcystis* esposte a radiazioni UV-B hanno evidenziato che gli individui tossici possiedono un vantaggio adattativo rilevante rispetto ai non tossici, dovuto a una migliore risposta dei primi contro i prodotti dello stress ossidativo. In particolare, l'esposizione a radiazioni UV-B sembra indurre nelle cellule tossiche un decremento dei livelli intracellulari di microcistine, che legandosi ad alcune ficobiline ne impedirebbero la degradazione da parte delle specie reattive con l'ossigeno (ROS) (Meissner *et al.*, 2013, 2014). A supporto di questa ipotesi, alcuni studi hanno dimostrato una maggiore suscettibilità di cellule mutanti non tossiche alle radiazioni UV e allo stress ossidativo ad esse associato (Meissner *et al.*, 2015; Makower *et al.*, 2015).

La tecnica PCR quantitativa (qPCR) ha evidenziato inoltre una diminuzione dei livelli di RNA messaggero (mRNA) dei geni *mcy*, piuttosto che un aumento, suggerendo che la protezione dagli stress ossidativi non sia probabilmente il primario ruolo biologico delle microcistine, la cui espressione genica sarebbe altrimenti incrementata (Yang *et al.*, 2015). La deplezione dei livelli intracellulari di microcistine sembrerebbe piuttosto dovuta al danno indotto all'apparato fotosintetico dalle radiazioni UV-B, che si riflette sulla interruzione della trascrizione genica nell'operone *mcy*, poiché richiede il trasferimento di elettroni fotosintetici, come ipotizzato anche da Sevilla *et al.* (2012).

Bibliografia

- Albert S, O'Neil JM, Udy JW, Ahern KS, O'Sullivan CM, Dennison WC. Blooms of the cyanobacterium *Lyngbya majuscula* in coastal Queensland, Australia: disparate sites, common factors. *Mar Pollut Bull* 2005;1(1-4):428-37.
- Bowling LC, Baker PD. Major cyanobacterial bloom in the Barwon-Darling River, Australia, in 1991, and underlying limnological conditions. *Mar Freshwater Res* 1996;47:643-57.
- Breitbarth E, Oschlies A, LaRoche J. Physiological constraints on the global distribution of *Trichodesmium* – effect of temperature on diazotrophy. *Biogeosciences* 2007;4:53-61.
- Briand E, Yepremian C, Humbert JF, Quiblier C. Competition between microcystin and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environ Microbiol* 2008;10(12):3337-48.
- Bui T, Dao T-S, Vo T-G, Lüring M. Warming affects growth rates and microcystin production in tropical bloom-forming *Microcystis* strains. *Toxins* 2018;10:123.
- Buratti FM, Manganelli M, Vichi S, Stefanelli M, Scardala S, Testai E, *et al.* Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action, and human health toxicological risk evaluation. *Arch Toxicol* 2017;91:1049-130.

- Chen L, Mao F, Kirumba G, Jiang C, Manefield M, He Y. Changes in metabolites, antioxidant system, and gene expression in *Microcystis aeruginosa* under sodium chloride stress. *Ecotox Environ Safe* 2015;122:126-35.
- Chlipala GE, Mo S, Orjala J. Chemodiversity in freshwater and terrestrial cyanobacteria - a source for drug discovery. *Curr Drug Targets* 2011;12(11):1654 e 1673.
- Chorus I (Ed.). *Current approaches to Cyanotoxin risk assessment, risk management and regulations in different countries*. Dessau-Roßlau, Germany: Federal Environment Agency. Umweltbundesamt; 2012:63.
- Christiansen G, Fastner J, Erhard M, Borner T, Dittmann E. Microcystin biosynthesis in *Planktothrix*: genes, evolution, and manipulation. *J Bacteriol* 2003;185:564-572.
- Davis TW, Berry DL, Boyer GL, Gobler CJ. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. *Harmful Algae* 2009; 8(5):715-25.
- Dias E, Pereira P, Franca S. Production of paralytic shellfish toxins by *Aphanizomenon* sp. LMECYA 31 (cyanobacteria). *J Phycol* 2002;38(4):705-12.
- Dziallas C, Grossart H. Increasing oxygen radicals and water temperature select for toxic *Microcystis* sp. *PLoS One* 2011;6(9):25569.
- Elmetri I, Bell PRF. Effects of phosphorus on the growth and nitrogen fixation rates of *Lyngbya majuscula*: implications for management in Moreton Bay, Queensland. *Mar Ecol Prog Ser* 2004;281:27-35.
- Fastner J, Heinze R, Humpage AR, Mischke U, Eaglesham GK, Chorus I. *Cylindrospermopsis* occurrence in two German lakes and preliminary assessment of toxicity and toxin production of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) isolates. *Toxicon* 2003;42(3):313-21.
- Gehring MM, Wannicke N. Climate change and regulation of hepatotoxin production in Cyanobacteria. *FEMS Microbiol Ecol* 2014;88(1):1-25.
- Giannuzzi L, Carvajal G, Corradini MG, Araujo Andrade C, Echenique R, Andrinolo D. Occurrence of toxic cyanobacterial blooms in Rio de la Plata estuary, Argentina: field study and data analysis. *J Toxicol* 2012;2012:373618.
- Giannuzzi L, Krock B, Minaglia MC, Rosso L, Houghton C, Sedan D, Malanga G, Espinosa M, Andrinolo D, Hernando M. Growth, toxin production, active oxygen species and catalase activity of *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae) exposed to temperature stress. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2016;189:22-30.
- Haande S, Rohrlack T, Ballot A, Røberg K, Skulberg R, Beck M, *et al.* Genetic characterisation of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanobacteria) isolates from Africa and Europe. *Harmful Algae* 2008;7(5):692-701.
- Huisman J, Sharples J, Stroom JM, Visser PM, Kardinaal WEA, Verspagen JMH, *et al.* Changes in turbulent mixing shift competition for light between phytoplankton species. *Ecology* 2004;85(11):2960-70.
- IPCC. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Geneva: Intergovernmental Panel on Climate Change; 2015.
- Jacquet S, Briand J-F, Leboulanger C, Avois-Jacquet C, Oberhaus L, Tassin B, *et al.* The proliferation of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens* following restoration of the largest natural French lake (Lac du Bourget). *Harmful Algae* 2005;4(4):651-72.
- Jeppesen E, Kronvang B, Meerhoff M, Søndergaard M, Hansen KM, Andersen HE, *et al.* Climate Change Effects on Runoff, Catchment Phosphorus Loading and Lake Ecological State, and Potential Adaptations. *J Environ Qual* 2009;38(5):1930-41.

- Jewel M, Affan M, Khan S. Fish mortality due to cyanobacterial bloom in an aquaculture pond in Bangladesh. *Pakistan J Biol Sci* 2003;6 (12):1046-50.
- Kim K, Park C, Yoon Y, Hwang SJ. Harmful cyanobacterial material production in the north Han River (South Korea): genetic potential and temperature-dependent properties. *Int J Environ Res Public Health* 2018;3;15(3).
- Kleinteich J, Wood SA, Kupper FC, Camacho A, Quesada A, Frickey T, Dietrich DR. Temperature-related changes in polar cyanobacterial mat diversity and toxin production. *Nat Clim Chang* 2012;2:356-60.
- Kramer BJ, Davis TW, Meyer KA, Rosen BH, Goleski JA, Dick GJ, Oh G, Gobler CJ. Nitrogen limitation, toxin synthesis potential, and toxicity of cyanobacterial populations in Lake Okeechobee and the St. Lucie River Estuary, Florida, during the 2016 state of emergency event. *PLoS One* 2018;23;13(5):e0196278.
- Lagos N, Onodera H, Zagatto P, Andrinolo D, Azevedo S, Oshima Y. The first evidence of paralytic shellfish toxins in the fresh water cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*, isolated from Brazil. *Toxicon* 1999;37:1359-73.
- Lehman PW, Kurobe T, Lesmeister S, Baxa D, Tung A, Teh SJ. Impacts of the 2014 severe drought on the *Microcystis* bloom in San Francisco Estuary. *Harmful Algae* 2017;63:94-108.
- Lehman PW, Teh SJ, Boyer GL, Nobriga ML, Bass E, Hogle C. Initial impacts of *Microcystis aeruginosa* blooms on the aquatic food web in the San Francisco Estuary. *Hydrobiol* 2010;637(1):229-48.
- Makower AK, Schuurmans JM, Groth D, Zilliges Y, Matthijs HCP, Dittmann E. Transcriptomics-aided dissection of the intracellular and extracellular roles of microcystin in *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Appl Environ Microbiol* 2015;81:544-54.
- Manganelli M, Scardala S, Stefanelli M, Palazzo F, Funari E, Vichi S, *et al.* Emerging health issues of cyanobacterial blooms. *Ann Ist Super Sanità* 2012;48(4):415-28.
- Martin-Luna B, Sevilla E, Bes M, Fillat M, Peleato M. Variation in the synthesis of microcystin in response to saline and osmotic stress in *Microcystis aeruginosa* PCC7806. *Limnetica* 2015;34(1):205-14.
- Meissner S, Fastner J, Dittmann E. Microcystin production revisited: conjugate formation makes a major contribution. *Environ Microbiol* 2013;15(6):1810-20.
- Meissner S, Steinhäuser D, Dittmann E. Metabolomic analysis indicates a pivotal role of the hepatotoxin microcystin in high light adaptation of *Microcystis*. *Environ Microbiol* 2014;17(5):1497-509.
- Moore MV, Pace ML, Mather JR, Murdoch PS, Howarth RW, Folt CL, *et al.* Potential effects of climate change on freshwater ecosystems of the New England/Mid-Atlantic region. *Hydr Proc* 1997;11(8):925-47.
- Mowe MAD, Porojan C, Abbas F, Mitrovic SM, Lim RP, Furey A, Yeo DCJ. Rising temperatures may increase growth rates and microcystin production in tropical *Microcystis* species. *Harmful Algae* 2015;50:88-98.
- O'Neil JM, Davis TW, Burford MA, Gobler CJ. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. *Harmful Algae* 2012;14:313-34.
- Oberholster P, Botha A-M, Myburgh J. Linking climate change and progressive eutrophication to incidents of clustered animal mortalities in different geographical regions of South Africa. *African J Biotechnol* 2009;8(21):5825-32.
- Paerl HW, Huisman J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. *Environ Microbiol Rep* 2009;1(1):27-37.
- Peeters F, Straile D, Lorke A, Livingstone DM. Earlier onset of the spring phytoplankton bloom in lakes of the temperate zone in a warmer climate. *Global Change Biology* 2007;13(9):1898-909.

- Peng G, Martin RM, Dearth SP, Sun X, Boyer GL, Campagna SR, *et al.* Seasonally relevant cool temperatures interact with N chemistry to increase Microcystins produced in lab cultures of *Microcystis aeruginosa* NIES-843. *Environ Sci Technol* 2018;52(7):4127-36.
- Preußel K, Wessel G, Fastner J, Chorus I. Response of cylindrospermopsin production and release in *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacteria) to varying light and temperature conditions. *Harmful Algae* 2009;8(5):645-50.
- Priebojová J, Hilscherová K, Procházková T, Sychrová E, Smutná M. Intracellular and extracellular retinoid-like activity of widespread cyanobacterial species. *Ecotoxicol Environ Saf* 2018;150:312-9.
- Rapala J, Sivonen K, Lyra C, Niemela S. Variation of microcystins, cyanobacterial hepatotoxins, in *Anabaena* spp. as a function of growth stimuli. *Appl Environ Microbiol* 1997;63(6):2206-12.
- Roberts RD, Zohary T. Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration, and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *New Zealand J Mar Freshwat Res* 1987;21(3):391-9.
- Robson BJ, Hamilton DP. Summer flow event induces a cyanobacterial bloom in a seasonal Western Australian estuary. *Mar Freshwat Res* 2003;54(2):139-51.
- Ross C, Santiago-Vázquez L, Paul V. Toxin release in response to oxidative stress and programmed cell death in the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat Toxicol* 2006;78(1):66-73.
- Saker ML, Griffiths DJ. The effect of temperature on growth and cylindrospermopsin content of seven isolates of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Nostocales, Cyanophyceae) from water bodies in northern Australia. *Phycologia* 2000;39(4):349-54.
- Sandrini G, Ji X, Verspagen JMH, Tann RP, Slot PC, Luimstra VM, *et al.* Rapid adaptation of harmful cyanobacteria to rising CO₂. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(33):9315-20.
- Sandrini G, Matthijs HCP, Verspagen JMH, Muyzer G, Huisman J. Genetic diversity of inorganic carbon uptake systems causes variation in CO₂ response of the cyanobacterium *Microcystis*. *ISME J* 2014;8(3):589-600.
- Sevilla E, Martin-Luna B, Bes MT, Fillat MF, Peleato ML. An active photosynthetic electron transfer chain required for *mcyD* transcription and microcystin synthesis in *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Ecotoxicol* 21(2012):811-9.
- Shapiro J. The role of carbon dioxide in the initiation and maintenance of bluegreen dominance in lakes. *Freshw Biol* 1997; 37(2):307-23.
- Shatwell T, Köhler J, Nicklisch A. Warming promotes cold-adapted phytoplankton in temperate lakes and opens a loophole for Oscillatoriales in spring. *Global Change Biology* 2008;14(9):2194-200.
- Sivonen K. Effects of Light, Temperature, Nitrate, Orthophosphate, and Bacteria on Growth of and Hepatotoxin Production by *Oscillatoria agardhii* Strains. *Appl Environ Microbiol* 1990; 56(9):2658-66.
- Staal M, Meysman FJ, Stal LJ. Temperature excludes N₂-fixing heterocystous cyanobacteria in the tropical oceans. *Nature* 2003;425:504-7.
- Suikkanen S, Laamanen M, Huttunen M. Long-term changes in summer phytoplankton communities of the open northern Baltic Sea. *Estuar Coast Shelf Sci* 2007;71(3-4):580-92.
- Testai E, Buratti FM, Funari E, Manganelli M, Vichi S, Arnich N, *et al.* *Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food*. Parma: European Food Safety Authority; 2016. (EFSA Supporting publication 2016:EN-998).
- Testai E, Scardala S, Vichi S, Buratti FM, Funari E. Risk to human health associated with the environmental occurrence of cyanobacterial neurotoxic alkaloids anatoxins and saxitoxins. *Crit Rev Toxicol* 2016b:1-35.
- Tonk L, Bosch K, Visser PM, Huisman J. Salt tolerance of the harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Aquat Microb Ecol* 2007;46(2):117-23.

- Van De Waal DB, Verspagen JMH, Finke JF, *et al.* Reversal in competitive dominance of a toxic versus non-toxic cyanobacterium in response to rising CO₂. *ISME J* 2011;5:1438-50.
- Van der Westhuizen AJ, Eloff JN. Effect of temperature and light on the toxicity and growth of the blue-green alga *Microcystis aeruginosa* (UV-006). *Planta* 1985;163(1):55-9.
- WHO. *Guidelines for drinking water quality. Third edition.* Geneva: World Health Organization; 2004.
- WHO. *Guidelines for safe recreational water environment. Coastal and Fresh Waters.* Geneva: World Health Organization; 2003.
- Yang Z, Kong F, Shi X, Yu Y, Zhang M. Effects of UV-B radiation on microcystin production of a toxic strain of *Microcystis aeruginosa* and its competitiveness against a non-toxic strain. *J Hazard Mater* 2015;283:447-53.
- Zilliges I, Kehr JC, Meissner S, Ishida K, Mikkat S. The cyanobacterial hepatotoxin microcystin binds to proteins and increases the fitness under oxidative stress conditions. *PLoS One* 2011;6(3):e17615.

ADATTAMENTO DEGLI ORGANISMI E MICRORGANISMI ACQUATICI AI CAMBIAMENTI AMBIENTALI GLOBALI O EFFETTI SU DI ESSI?

Stefania Marcheggiani, Camilla Puccinelli
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il cambiamento ambientale globale comprende i cambiamenti nell'ambiente biogeofisico, che possono essere dovuti a processi naturali e/o attività antropiche (Ericksen, 2007).

Gli effetti indotti dai cambiamenti climatici sui valori medi di variabili climatiche, quali la temperatura e le precipitazioni, ne determinano una variazione della frequenza e intensità, che può dare origine a eventi estremi quali alluvioni, ondate di caldo o di freddo (WHO, 2007).

Sempre più in modo evidente si osserva come questi cambiamenti, quali ad esempio l'aumento della captazione, scarichi urbani, industriali e agricoli puntuali e diffusi, il disboscamento, abbiano alterato le condizioni degli ecosistemi acquatici (Foley *et al.*, 2005). Questi sono da sempre risorsa fondamentale per la sopravvivenza degli esseri umani consentendo lo scambio e le comunicazioni tra popoli per e l'approvvigionamento di cibo e acqua e un loro deterioramento si riflette direttamente o indirettamente sulla salute umana e/o degli animali.

Le alterazioni dei parametri quali la temperatura possono influire direttamente: sulla velocità delle reazioni chimiche; sui processi batteriologici e quindi sulla comparsa e/o diffusione di agenti eziologici; sui tassi di crescita delle comunità vegetali; sul comportamento animale come ad esempio può determinare uno sfasamento nel periodo di migrazione dei pesci piuttosto ritardi e/o anticipazioni delle fasi del ciclo vitale di popolazioni di insetti (Whitehead *et al.*, 2009).

Eventi estremi quali ad esempio forti piogge possono dare origine a inondazioni che hanno impatti negativi significativi sull'ambiente provocando danni alle infrastrutture, al bestiame e alle colture con il trasporto di detriti di varia natura.

Gli impatti sulla salute dovuti ad eventi alluvionali si possono distinguere in:

- *Effetti acuti sulla salute*
associati alla quantità d'acqua delle inondazioni e i suoi detriti che causano annegamenti (a piedi o in auto), traumi fisici (folgorazioni, incendi danni dovuti a urti violenti con oggetti) o altri effetti come ad esempio attacchi di cuore, ecc.
- *Effetti a lungo termine*
verificatisi di conseguenza all'allagamento come: gli effetti sulla salute mentale (che sono una conseguenza secondaria dei fattori stress), avvelenamento da monossido di carbonio, infezione della pelle e degli intestini dovuti al contatto, ingestione e inalazione di acque microbiologicamente contaminate, malattie respiratorie dovute alla formazione di muffe derivanti dall'umidità, malattie portate da roditori.

La conservazione degli ecosistemi è fondamentale perché le risorse idriche e la loro buona qualità e quantità, la biodiversità vegetale e animale, le attività antropiche (industriali e agricole) e la salute umana, si basano su di essa.

Gli Stati Membri per la salvaguardia e tutela degli ecosistemi acquatici seguono le indicazioni e obblighi della Direttiva 2000/60/CE (Direttiva Quadro sulle Acque, DQA, o *Water Framework Directive*, WFD) (Unione Europea, 2000). La DQA è un esempio di approccio ecosistemico per la protezione degli ecosistemi acquatici e la salute umana. La Direttiva mira a raggiungere e

garantire il “buono stato ecologico e chimico” di tutti i corpi idrici (superficiali e sotterranei) in tutta Europa entro il 2026.

Il suo principale aspetto innovativo è l'importanza riconosciuta all'analisi degli elementi biologici per la valutazione dello stato ambientale degli ecosistemi acquatici e a supporto i parametrici idromorfologici, chimici e fisico-chimici. Infatti, la DQA, per valutare la funzionalità di un ecosistema acquatico, prevede l'indagine di tutti i livelli della catena trofica partendo dai produttori primari, fitobenthos, fitoplancton e macrofite, ai consumatori, macroinvertebrati e pesci; le diatomee sono state scelte come rappresentanti del fitobenthos.

Tuttavia le acque superficiali non vengono analizzate di routine per la presenza di sostanze chimiche e agenti patogeni mentre lo sono le acque destinate al consumo umano e/o alla balneazione (Italia, 2001; Italia, 2008a).

Lo studio degli ecosistemi in termini di salute è un approccio integrato che consente di indagare la dicotomia salute umana e ecosistemi (Myers *et al.*, 2013). L'acqua rappresenta una riserva/veicolo di microrganismi potenzialmente patogeni, e gli esseri umani possono venire in contatto in modo diretto e/o indiretto.

Lo sviluppo di efficienti test diagnostici rapidi per l'identificazione dei microrganismi presenti nell'ecosistema acquatica rappresenta una strategia fondamentale per il controllo e la prevenzione delle malattie causate da agenti patogeni di origine idrica (Marcheggiani *et al.*, 2015a; 2015b).

Diatomee come indicatori dei cambiamenti ambientali globali

Il deterioramento degli habitat dovuti ad attività antropica, e il conseguente impoverimento delle comunità biologiche danneggiano l'ecosistema compromettendone l'equilibrio. Quest'ultimo è un equilibrio dinamico risultante da tutti i processi della catena alimentare (es. produzione, consumo e decomposizione) che si compensano. In assenza di comunità ben diversificate, un ecosistema, non è in grado di tamponare gli effetti dei cambiamenti ambientali, divenendo così elemento di scarso valore e potenziale pericolosità nel tessuto ecologico nonché rappresentare un rischio per la salute umana e animale.

Utili strumenti per la valutazione degli effetti dei cambiamenti ambientali globali sono gli indicatori biologici. Un indicatore biologico, secondo la definizione di Johnson *et al.* (1992) è una specie o insieme di specie che mostra particolari esigenze rispetto a un insieme di variabili fisiche o chimiche. Cambiamenti nella presenza-assenza, abbondanza, morfologia, fisiologia o comportamento della specie stessa indicano condizioni fisico-chimiche alterate rispetto al suo intervallo di tolleranza.

Le diatomee, alghe unicellulari della classe delle Bacillariophyceae, sono in grado di registrare molteplici impatti dovuti ai cambiamenti ambientali globali, a livello di struttura delle comunità, ma anche del singolo individuo con alterazioni morfologiche come forme teratogene, e con la diffusione di specie in grado di produrre tossine algali. Esse rappresentano la componente principale del fitobenthos dei fiumi e sono presenti con molte specie nel fitoplancton lacustre e marino, sono i principali produttori primari (sia ambiente pelagico che bentonico) e si pensa che siano responsabili del 25% della produttività primaria globale (Jeffery & Hallegraeff 1990; Deny, 2004; Kelly *et al.*, 2006, Kelly *et al.*, 1998).

Da tempo utilizzate nel monitoraggio dei fiumi, sono anche uno degli elementi biologici delle DQA. Essendo alla base della catena trofica, le diatomee risentono delle condizioni ambientali e dei loro mutamenti dovuti ad eventi di disturbo, rendendole dei validi indicatori dello stato di qualità di un ecosistema acquatico. Le diatomee presentano un ciclo vitale molto breve, a

differenza degli altri indicatori biologici come macroinvertebrati, macrofite e pesci (Rott, 1991), rispondendo velocemente ai cambiamenti dei parametri ambientali; infatti possiedono un breve tempo di resilienza in 2-4 settimane lasso di tempo in cui una comunità danneggiata o distrutta ha una elevata capacità di ricostituirsi (Dell'Uomo, 2004). Elevate concentrazioni di nutrienti portano ad una modifica della struttura delle comunità espressa in termini di composizione e abbondanza delle specie sensibili o tolleranti ovvero risulta sbilanciata, composta da una dominanza di specie tolleranti a scapito di quelle sensibili.

Differenti alterazioni di tipo idromorfologiche vengono, inoltre, rilevate dalla comunità diatomica:

– *Variazioni nella velocità di corrente*

In caso di elevata velocità di corrente, la ricchezza della comunità diminuisce e si avrà la predominanza di alcune “forme” a scapito di altre. Saranno favorite le specie diatomiche di forma adnata o prostrata, in grado di resistere meglio rispetto a quelle di forma pedunculata e formanti colonie, a tale corrente (Antoine & Benson-Evans, 1982; Rolland *et al.* 1997, Kelly *et al.* 1998, Bona *et al.*, 2008). In condizioni, invece, di scarsa velocità di corrente, si verifica un aumento in termini di composizione e abbondanza di taxa che resistono anche in habitat asciutti e subaerei (Bradley *et al.*, 2012; Kelly *et al.*, 1998).

– *Modifiche dell'habitat fluviale dovute a controlli del regime idrico*

Conducono ad una dominanza nelle comunità diatomiche di specie planctoniche su quelle bentoniche, e non viceversa come accade nei corsi d'acqua naturali (Growth & Growth 2001, Growth 1999).

– *Aumento di solidi sospesi*

È registrato dalla comunità diatomica attraverso l'aumento di taxa motili, ovvero specie bentoniche appartenenti a generi *Nitzschia*, *Navicula*, *Surirella*, (Yamada & Nakamura 2002; Dickman *et al.*, 2005, Battagazzorre *et al.*, 2004, Gallo *et al.*, 2013).

Le diatomee possono inoltre essere un utile strumento per valutare gli effetti tossici su un ecosistema di contaminanti chimici, ad esempio metalli pesanti e idrocarburi, attraverso l'alterazioni nella morfologia della parete cellulare delle diatomee possono essere causate da contaminanti chimici (Falasco *et al.*, 2008, Morin *et al.*, 2008, Xiaoyong *et al.*, 2001).

La parete cellulare diatomica, detta frustulo, è composto principalmente da silice amorfa idrata ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), che viene portata all'interno della cellula mediante trasporto attivo (Round *et al.*, 1990; Brownlee & Taylor, 2002). I metalli pesanti possono ad esempio inibire l'assorbimento dell'acido silicico, competendo con l'assimilazioni di elementi necessari per lo sviluppo della cellula: tutto questo viene espresso dalle alterazioni della forma del frustulo e/o delle ornamentazioni, come ad esempio le strie. In Figura vengono illustrati gli effetti di cadmio, arsenico, piombo e mercurio su alcune specie diatomiche: la deformazione della forma delle valve nelle specie *Cocconeis placentula* e *Amphora pediculus* oppure l'alterazione nella distribuzione delle costae nella specie *Diatoma vulgaris*.

Gli effetti dei cambiamenti ambientali globali, come ad esempio innalzamento della temperatura disponibilità di nutrienti, hanno causato l'aumento di *bloom* algali processi naturali che si verificano nei laghi e negli ambienti marini (Tonolli, 1975). Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento delle fioriture algali nocive, tale fenomeno è in parte legato all'eutrofizzazione, data la stretta relazione tra la qualità dell'acqua e la salute, esse rappresentano una crescente preoccupazione per la salute umana (Anderson *et al.*, 2002; Glibert *et al.*, 2005; GeoHAB, 2006).

Negli ultimi 20 anni, le diatomee sono state oggetto di studio anche per la capacità di specie, la maggior parte appartenente al genere *Pseudonitzschia*, planctoniche marine di produrre una neurotossina, l'acido domoico, aminoacido ciclico idrosolubile in grado di attaccare dunque gli stessi recettori del Sistema Nervoso Centrale (Wright *et al.*, 1989, Lundholm *et al.*, 2004; Lundholm *et al.*, 2005).

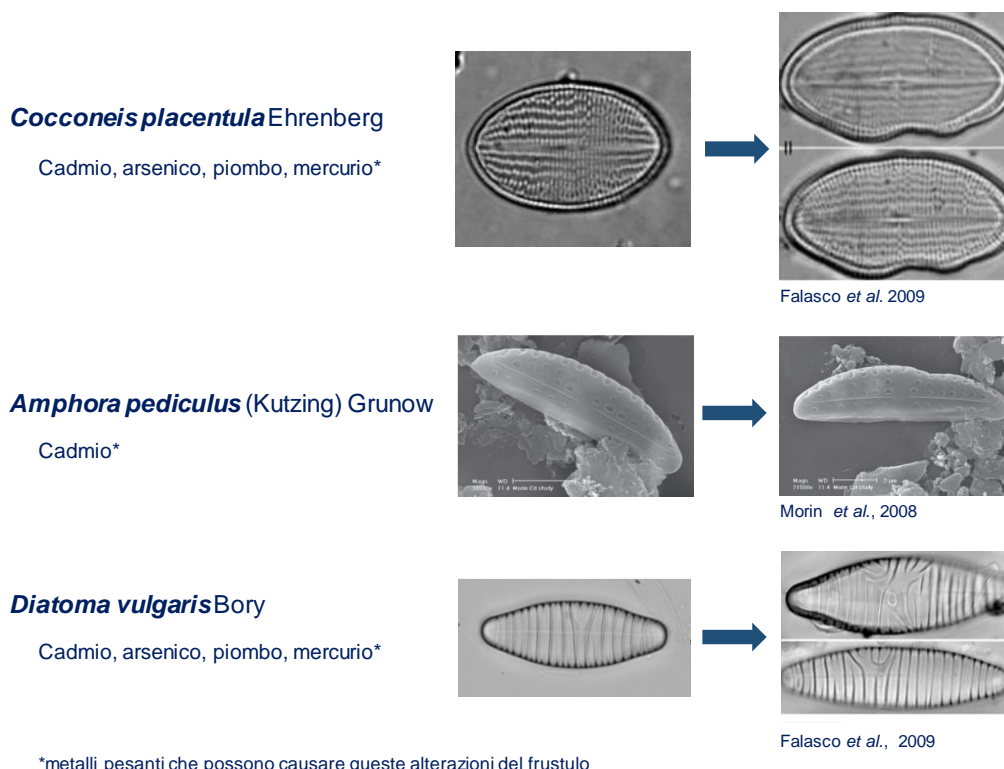


Figura 1. Forme teratogene di alcune specie diatomiche, come *Cocconeis placentula*, *Amphora pediculus* e *Diatoma vulgare* causate dai metalli pesanti (immagini modificate da Falasco et al. 2009, Morin et al. 2008)

In conclusione le diatomee sono valido strumento in grado registrare sia a livello di individui che di comunità molteplici alterazioni degli ecosistemi acquatici dovute ai cambiamenti ambientali globali.

Microrganismi patogeni negli ecosistemi acquatici: limiti, prospettive e sfide

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (*World Health Organization*, WHO) riconosce che l'accesso a forniture idriche adeguate è un diritto umano fondamentale (United Nations, 2010).

L'uso diretto o indiretto di acqua l'acqua contaminata può essere la fonte di grandi epidemie causate da diversi agenti patogeni umani (Brunkard et al., 2011).

I contaminanti siano essi di origine chimica o microbiologica possono arrivare nelle acque di superficie attraverso il dilavamento da aree agricole e zootecniche, scarichi industriali e acque reflue provenienti da aree urbane (Dwight et al., 2004; Semenza et al., 2012). L'aumento di eventi alluvionali in conseguenza di cambiamenti nelle precipitazioni può causare contaminazione delle fonti di approvvigionamento idrico, in particolare di tipo fecale (Marcheggiani et al., 2010a).

A livello globale, si sta assistendo ad un aumento dell'incidenza delle infezioni trasmesse da matrici ambientali quali acqua e sedimento, non solo trasmesse dai classici patogeni enterici ma

anche da nuovi agenti patogeni (WHO 2003, 2011). Le vie di trasmissione attraverso le quali gli esseri umani possono contrarre questi microrganismi sono inalazione, contatto o ingestione di acqua non trattata o trattata inadeguatamente, e ad oggi sono tra le minacce più gravi per la salute pubblica (WHO, 2003 Carraro *et al.*, 2004)

Il rischio di focolai di malattie diarroiche dovute a patogeni enterici è alto sia nei Paesi industrializzati che non, e gli effetti sulla salute umana variano in gravità e possono anche essere fatali da gastroenterite, diarrea, dissenteria, epatite e febbre tifoide (Ahem *et al.*, 2005 Patz *et al.*, 2004; Kovats *et al.*, 2004; Kistemann *et al.*, 2002; Rose *et al.*, 2001).

Le malattie trasmesse dall'acqua sono causate da agenti patogeni che si diffondono per via oro-fecale o che l'acqua rappresenta un mezzo intermedio, sono principalmente batteri, virus, protozoi, elminti e alghe. In particolare, i batteri che si possono ritrovare nelle acque contaminate sono in genere *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Escherichia coli*, Enterococchi, *Vibrio cholerae*, *Leptospira*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., *Clostridium perfringens*. La diarrea è una dei sintomi più comuni delle malattie trasmesse dall'acqua e l'inquinamento fecale è uno dei suoi fattori principali (ECDC, 2014; Copeland *et al.*, 2009).

La maggior parte degli agenti patogeni presenti nell'acqua sono introdotti da feci di animali domestici e/o selvatici, da persone infette, e possono causare infezioni nel tratto gastrointestinale in seguito all'ingestione (Semenza, 2014; Marcheggiani *et al.*, 2010b; Funari *et al.*, 2007; Birkbecka *et al.*, 2005).

Negli ultimi decenni sempre più si è parlato di malattie emergenti causate da agenti patogeni "emergenti" o "ri-emergenti" (WHO, 1997; Woolhouse, 2002; Morse, 1995, Sherchand, 2012).

Le malattie infettive emergenti sono il risultato delle interazioni dinamiche tra la rapida evoluzione degli agenti infettivi e i cambiamenti nell'ambiente e nelle abitudini dell'ospite che consentono agli agenti di colonizzare nuove nicchie ecologiche favorevoli.

L'emergenza di una malattia infettiva è un processo complesso che coinvolge fattori biologici, sociali ed ecologici.

L'Institute of Medicine (2003) ha identificato 13 fattori chiave che possono essere associati alla comparsa di infezione idrodifuse causate da patogeni emergenti e/o riemergenti e possono essere raggruppati in fattori:

- tipici dell'agente stesso quali ad esempio evoluzione microbica, lo sviluppo di nuove resistenze agli antibiotici o resistenza di vettori ai pesticidi.
- tipici dell'ospite ovvero cambiamenti demografici, delle abitudini alimentari e/o igieniche, suscettibilità /vulnerabilità, immunodepressione.
- ambientali come i cambiamenti climatici, uso del suolo, nuove tecnologie, progressi scientifici.
- socio-economici come viaggi, deterioramento dei sistemi di sorveglianza o dell'assistenza sanitaria, ecc.

Di conseguenza il consumo diretto o indiretto di acqua, se contaminata, può rappresentare un rischio per la salute umana.

Valutare l'impatto che gli ecosistemi acquatici hanno sulla salute pubblica è complicato poiché lo sviluppo antropico e la crescita della popolazione esercitano diverse pressioni sulla qualità, quantità e sul suo accesso (Carraro *et al.*, 2004).

In particolare, lo sviluppo urbano ha un forte impatto sulla qualità dell'acqua, principalmente a causa del pesante carico di escrementi umani e animali come principale fonte di inquinamento delle acque. Una volta che il carico di escreti arriva negli ecosistemi acquatici il processo di trasmissione attraverso il quale i microrganismi entrano in contatto con esseri umani è piuttosto complesso.

I fattori che influenzano la sua capacità di infettare un ospite sono intrinseci del microrganismo stesso e sono: la latenza, la persistenza, la capacità di moltiplicazione e non ultimo la dose infettante, ovvero il grado di esposizione dell'acqua necessaria per trasmettere l'infezione.

Alla luce delle precedenti considerazioni, anche se l'acqua appare incontaminata, deve essere testata per assicurarsi che non contenga microrganismi nocivi.

Le norme di riferimento in materia di acqua destinate al consumo umano e ad uso ricreativo (Unione Europea, 2006, 1998) definiscono i parametri i metodi e limiti per la classificazione della qualità delle acque e per nella valutazione del rischio per la salute umana. I parametri microbiologici indicati in entrambe le norme sono *E. coli* e Enterococchi intestinali, questi indicatori possono anche indicare la presenza di altri agenti patogeni non batterici, come virus enterici e protozoi parassiti (Marcheggiani & Mancini, 2011).

La minaccia di malattie trasmesse dall'acqua in Europa è destinata ad aumentare in futuro a causa della globalizzazione, dei flussi migratori e dei cambiamenti climatici.

L'importanza dell'acqua nella trasmissione di agenti patogeni riconosciuti, viene costantemente riesaminata perché i progressi scientifici, tecnologici ed epidemiologici forniscono nuovi strumenti per la valutazione e l'analisi dello stato ecologico dei corpi idrici (Tanchou, 2014).

La maggior parte dei batteri patogeni, i virus, le alghe tossiche e le tossine tendono a verificarsi a basse concentrazioni, rendendoli molto difficili da misurare direttamente. Inoltre non ci sono metodi standard per isolare tutti i patogeni: non tutti i microrganismi patogeni sono coltivabili.

La loro sopravvivenza è spesso limitata ed è in funzione dei parametri ambientali, i metodi disponibili sono spesso complessi, dispendiosi in termini di tempo e sono a bassa riproducibilità.

Le circa 2500 specie batteriche comprese nelle *Approved Lists of Bacterial Names* (Skerman *et al.*, 1980) non riflettono la reale varietà di batteri nell'ambiente. Sino a pochi anni fa le conoscenze sulla diversità microbica erano limitate ai germi coltivabili nei comuni terreni batteriologici. Classicamente, la distinzione di generi e specie è stata effettuata in base a criteri fenotipici e schemi di identificazione basati su di essi. Non tutti i batteri, come quelli non coltivabili, possono essere studiati fenotipicamente.

Negli ultimi anni l'identificare e caratterizzare specie microbiche da matrici ambientali è stata indirizzata verso la messa a punto e /o applicazione di tecniche tipizzazione genetica poiché non solo consentono la caratterizzazione di specie non coltivabili ma anche la via di trasmissione dell'agente.

I progressi fatti nel campo della biologia molecolare hanno messo a disposizione un certo numero di tecniche quali *Polymerase Chain Reaction* (PCR), Real-Time PCR (RT-PCR), Quantitative PCR (Q-PCR), *Fluorescence In Situ Hybridization* (FISH), ecc. che prescindono dalla coltivabilità del microorganismo e che si sono rivelate capaci di dare una visione più unitaria sull'origine tassonomica e di diffusione delle diverse specie batteriche mediante l'utilizzo di programmi di bioinformatica per lo studio della reazione genetica dei microorganismi (filogenesi).

Per creare una firma genetica per ogni microorganismo che vogliamo rilevare in un ambiente è necessario un set unico di sonde che definirà un particolare organismo.

Il gene candidato più comunemente usato è il gene ribosomiale rRNA, poiché possiede i seguenti criteri: è presente in tutti gli organismi; il trasferimento orizzontale molto basso, è molto abbondante; è possibile disegnare sonde gerarchiche per i calcoli di biodiversità dovuti a regioni variabili e conservate, e i database altamente implementati.

Le tecnologie avanzate hanno aperto la porta alla valutazione e la caratterizzazione dei patogeni trasportati dall'acqua attraverso la rilevazione simultanea di molti agenti patogeni, quali ad esempio i microarray basata sull'ibridazione di cDNA o RNA marcati con fluorescenza a oligonucleotidi di specie specifici (Marcheggiani *et al.*, 2015a; Meyer *et al.*, 2015; Kegel *et al.*,

2013; Berzano *et al.*, 2012) o tecnologie di sequenziamento del DNA di nuova generazione (*Next Generation Sequencing*, NGS) per la caratterizzazione dei DNA barcoding ambientali (Hebert *et al.*, 2003a, 2003b; Remigio & Hebert, 2003).

Come ogni metodologia anche quelle molecolari hanno dei limiti e dei vantaggi; di seguito si riporta l'esempio del RNA microarray:

- *Limiti tecnologici*
 - Puoi trovare solo quello che stai cercando perché si devono progettare sonde specifiche.
 - Ci sono alcuni limiti quantitativi come ogni tecnologia basata su sonde o primer, sono specifici per una sequenza complementare se c'è una mancata corrispondenza che non è riconosciuta con la stessa efficienza.
 - Ci sono limiti genetici quali mutazioni che possono influenzare l'efficienza dell'ibridazione.
 - Il design si basa sulle informazioni disponibili nei database internazionali.
- *Vantaggi*
 - Si tratta di una tecnica molto veloce rispetto ad altre tecniche tradizionali (es. microscopio LM o SEM) che richiedono tempi più lunghi ed esperti in tassonomia per l'interpretazione dei risultati.
 - Il più grande vantaggio di questa tecnica è il numero illimitato di target che è possibile analizzare su un vetrino contemporaneamente
 - Il costo è piuttosto basso se si considera il numero di target (illimitato) su un vetrino.

Conclusioni

Concludendo i progressi nelle tecniche di analisi sono una componente fondamentale nella conoscenza di patogeni ambientali. Solo migliorando la capacità di concentrazione e di individuazione di microrganismi in campioni di acqua, si è in grado di riconoscere i nuovi agenti patogeni e i microrganismi noti a loro associati, con malattie ad eziologia sconosciuta.

È stato ed è oggetto di molti progetti di ricerca lo sviluppo e/o la messa a punto di metodi campionamento atti a determinare la presenza di patogeni un esempio è il prelievo di grandi volumi di acqua che vengono successivamente concentrati e filtrati (Marcheggiani *et al.*, 2015b).

Lo sviluppo di moderne tecniche di genomica sensibili, robuste, rapide, per lo studio del microbioma direttamente nei loro ambienti naturali, non solo aggirando il bisogno dell'isolamento e coltivazione delle singole specie microbiche, per monitorare i vari aspetti della qualità microbiologica degli ecosistemi acquatici, sono essenziali per attuare strategie di controllo e prevenzione delle malattie causate da patogeni trasmessi dall'acqua.

Bibliografia

- Ahem M, Kovats RS, Wilkinson P, Few R, Matthies F. Global health impacts of floods: epidemiologic evidence. *Epidemiologic Reviews* 2005;27:36-46.
- Anderson DM, Glibert PM, Burkholder JM. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition and consequences. *Estuaries* 2002;25:562-84.
- Antoine SE, Benson -Evans K. The effect of current velocity on the rate of growth of benthic algal communities. *Internationale Revue gesamtten Hydrobiologie* 1982;67:575-83.

- Battegazzore M, Morisi A, Gallino B, Fenoglio S. Environmental quality evaluation of alpine springs in NW Italy using benthic diatoms. *Diatom Research* 2004;19:149-165.
- Berzano M, Marcheggiani S, Rombini S, Spurio R. The application of oligonucleotide probes and microarrays for the identification of freshwater diatoms. *Hydrobiologia* 2012;695:57-72.
- Birkbecka TH, Ringø E. Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. In: Holzapfel WH, Naughton PJ (Ed.). *Microbial ecology of growing animals*. London: Elsevier; 2005. p. 208-34.
- Bona F, Falasco E, Fenoglio S, Iorio L, Badino G. Response of macroinvertebrate and diatom communities to human-induced physical alteration in mountain streams. *River Research and Applications* 2008;24(8):1068-81.
- Bradley D, Cadman D, Milner N. *Ecological indicators of the effects of abstraction and flow regulation and optimisation of flow releases from water storage reservoirs*. (WFD21d Final Report July 2012). Edinburgh: Sniffer Edition; 2012.
- Brownlee C, Taylor AR. Algal calcification and silification. In: Encyclopedia of life sciences. London: Macmillan Publishers Ltd, Nature Publishing Group; 2002.
- Brunkard JM, Ailes E, Roberts VA, Hill V, Hilborn ED, Craun GF, Rajasingham A, Kahler A, Garrison L, Hicks L, *et al.* Surveillance for waterborne disease outbreaks associated with drinking water - United States, 2007-2008. *MMWR Surveill Summ* 2011;60:38-68.
- Carraro E, Bonetta S, Palumbo F, Gilli G. *Rischio microbiologico associato al consumo di acqua potabile nei paesi industrializzati*. Annali dell'Istituto Superiore di Sanità; 2004; 40(1): p. 117-140.
- Copeland C, Beers B, Thompson M, Pinkerton R, Barrett L, Sevilleja JE, Alencar S, Lima A, Guerrant R. Faecal contamination of drinking water in a Brazilian shanty town: Importance of household storage and new human faecal marker testing. *J Water Health* 2009;7:324-31.
- Dam H, Vizinet J. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *Journal of Applied Phycology* 1998;10:215-24.
- Deny L. Relation of abundance-weighted averages of diatom indicator values to measured environmental conditions in standing freshwaters. *Ecological Indicators* 2004;4:225-75.
- Dickman MD, Peart MR, Yim WW-S. Benthic diatoms as indicators of stream sediment concentration in Hong Kong. *International Review of Hydrobiology* 2005;90:412-21.
- Dwight RH, Baker DB, Semenza JC, Olson BH. Health effects associated with recreational coastal water use: Urban versus rural California. *Am J Public Health* 2004;94:565-7.
- ECDC. *Annual epidemiological report 2014. Food and waterborne diseases and zoonoses*. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control Publication; 2014.
- Ericksen PJ. Conceptualizing food systems for global environmental change research. *Global Environmental Change* 2007;18 (1):234-45.
- Europa. Direttiva 2000/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2000, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria in materia di acque. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee* L 327/1 del 22/12/2000.
- Europa. Direttiva 2006/7/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 15 febbraio 2006 relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione e che abroga la direttiva 76/160/CEE. *Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee* L 64/37 del 4/3/2006.
- Europa. Direttiva 98/83/CE del Consiglio del 3 novembre 1998 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta ufficiale delle Comunità europee* L 330/32, 5/12/1998.
- Falasco E, Bona F, Badino G, Hoffmann L, Ector L. Diatom teratological forms and environmental alterations: a review. *Hydrobiologia* 2009;623:1-35.

- Foley JA, DeFries R, Asner GP, Barford C, Bonan G, Carpenter SR, Chapin FS, Coe MT, Daily GC, Gibbs HK, Helkowski JH, Holloway T, Howard E A, Kucharik C J, Monfreda C, Patz JA, Prentice I C, Ramankutty N, Snyder PK. Global consequences of land use. *Science* 2005;309:570-4.
- Funari E, Blasi MF, Carere M, Della Bella V, Mancini L, Marcheggiani S, Mattera F, Stefanelli M. Flooding and health. In: Wolf T, Menne B (Ed.). *Environment and health risks from climate change and variability in Italy*. Roma: Istituto Grafico Editoriale Romano; 2007. p. 44-5.
- Gallo L, Gazzore MG, Corapi A, Defilippis A, Mezzotero A, Lucadamo L. Environmental analysis of a regulated Mediterranean stream based on epilithic diatom communities – the Crati River case (Southern Italy). *Diatom Research* 2013;28(2):143-56.
- GEOHAB. Global Ecology and Oceanography of Harmful Algal Blooms *Harmful Algal Blooms in Eutrophic Systems*. Paris and Baltimore: Intergovernmental Oceanographic Commission Publication; 2006.
- Glibert PM, Anderson DA, Gentien P, Graneli E, Sellner KG. The global, complex phenomena of harmful algal blooms. *Oceanography* 2005;18(2):136-47.
- Growns I. Is genus or species identification of periphytic diatoms required to determine the impacts of river regulation? *Journal of Applied Phycology* 1999; 11: 273-283.
- Growns IO, Growns JE Ecological effects of flow regulation on macroinvertebrate and periphytic diatom assemblages in the Hawkesbury-Nepean River, Australia. *Regulated Rivers: Research and Management* 2001;17:275-93.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identification through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond. B*. 2003a;270:313-32.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR. Barcoding animal life: Cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc Biol Sci* 2003b;270:S96-S99.
- Institute of Medicine. *Microbial threats to health: emergence, detection, and response*. Washington, DC: The National Academy Press; 2003.
- Italia. Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31 (1). Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale S.O.* n. 52 del 3/3/2001.
- Italia. Decreto Legislativo 30 maggio 2008, n. 116. Attuazione della Direttiva 2006/7/CE relativa alla gestione della qualità delle acque di balneazione e abrogazione della direttiva 76/160/CEE. *Gazzetta Ufficiale - Serie Generale* n. 155 del 4/7/2008.
- Jeffrey SW, Hallegraeff GM. Phytoplankton ecology of Australasian waters. In: Clayton MN, King RJ (Ed.). *Biology of marine plants*. Melbourne: Longman; 1990. p. 310-48.
- Johnson RK, Wiederholm T, Rosenberg DM. Freshwater biomonitoring using individual organisms, populations and species assemblages of benthic macroinvertebrates. In: Rosenberg D.M. e Resh V.H. (Ed.). *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. 1992. p. 41-104.
- Kegel JU, John U, Valentin K, Frickenhaus S. Genome variations associated with viral susceptibility and calcification in *Emiliana huxleyi*. *PLoS Ome* 2013;8(11):e80684.
- Kelly M, Bennett C, Coste M, Delmas F, Denys L, Ector L, Fauville C, Ferreol M, Golub M, Kahlert M, Lucey J, Ni Chathain B, Pardo I, Pfister P, Picinska-Faltynowicz J, Schranz C, Schaumburg J, Tison J, van Dam H, Vilbaste S. *Central/Baltic GIG Phytobenthos Intercalibration Exercise - final report*. Durham: Bowburn Consultancy; 2006.
- Kelly MG, Cazaubon A, Coring E, Dell'Uomo A, Ector L, Goldsmith B, Guasch H, Hurlimann J, Jarlman A, Kawecka B, Kwadrans J, Laugaste R, Lindstrom EA, Leitao M, Marvan P, Padisak J, Pipp E, Prygiel J, Rott E, Sabater S, van Dam H, Vizinet J. Recommendations for the routine sampling of diatoms for water quality assessments in Europe. *J Appl Phycol* 1998;10:215-24.

- Kistemann T, Claben T, Koch C, Dangendorf F, Fischeider R, Gebel J, Vacata V, Exner M. Microbial load of drinking water reservoir tributaries during extreme rainfall and runoff. *Appl Environ Microbiol* 2002;68:2188-97.
- Kovats RS, Hajat S, Wilkinson P. Contrasting patterns of mortality and hospital admissions during hot weather and heat waves in Greater London, UK. *Occupational and Environmental Medicine* 2004;61(11):893-8.
- Lundholm N, Hansen PJ, Kotaki Y. Effect of pH on growth and domoic acid production by potentially toxic diatoms of the genera *Pseudo-nitzschia* and *Nitzschia*. *Marine Ecology Progress Series* 2004;273:1-15.
- Lundholm N, Hansen PJ, Kotaki Y. Lack of allelopathic effects of the domoic acid-producing marine diatom *Pseudo-nitzschia multiseries*. *Marine Ecology Progress Series* 2005;288:21-33.
- Marcheggiani S, Puccinelli C, Ciadamidaro S, Della Bella V, Carere M, Blasi MF, Pacini N, Funari E, Mancini L. Risks of water-disease outbreaks after extreme events. *Toxicol Environ Chem* 2010a;92(3):593-9.
- Marcheggiani S, Carere M, Della Bella V, Grifoni R, Funari E, Mancini L. Epidemie veicolate dall'acqua. In: Sinisi L (Ed.). *Cambiamenti climatici e salute: criticità e proposte progettuali per una strategia d'adattamento ambientale*. Roma: ISPRA Pubblicazioni; 2010b. p. 25–35.
- Marcheggiani S, Mancini L. *Microbiological quality of river sediments and primary prevention*. In Grillo O (Ed.) *Ecosystems Biodiversity*; Rijeka, Intech Open 2011: p. 117-138.
- Marcheggiani S, D'Ugo E, Puccinelli C, Giuseppetti R, D'Angelo AM, Gualerzi C O, Spurio R, Medlin LK, Guillebault D, Weigel W, Helmi K, Mancini L. Detection of emerging and re-emerging pathogens in surface waters close to an urban area. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2015a;12(5):5505-27.
- Marcheggiani S, Spurio R, Cimarelli L, Duarte T, Mancini L. Editorial Scientific Symposium “Small solution for big water- related problems: innovative microarrays and small sensors to cope with water quality and food security”. *Int J Environ Res Public Health* 2015b;12(12):15400-8.
- Meyer VK, Kober C, Niessner R, Seidel M. Regeneration of recombinant antigen microarrays for the automated monitoring of antibodies against zoonotic pathogens in Swine Sera. *Sensors* 2015;15:2614-28.
- Morin S, Coste M, Hamilton PB. Scanning electron microscopy observations of deformities in small pennate diatoms exposed to high cadmium concentrations. *Journal of Phycology* 2008;44: 1512-8.
- Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1995;1(1):7-15.
- Myers SS, Gaffikin L, CD Golden, RS Ostfeld, KH Redford Ricketts T H, Turner WR, and Osofsky SA. Human health impacts of ecosystem alteration. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2013;110(47):18753-60.
- Patz J A, Daszak P, Tabor GM, Alonso Aguirre A, Pearl M, Epstein J, Wolfe ND, Marm Kilpatrick A, Foufopoulos J, Molyneux D, Bradley DJ; Members of the Working Group on Land Use Change Disease Emergence. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ Health Perspect* 2004;112(10):1092-8.
- Remigio EA, Hebert PDN. Testing the utility of partial COI sequences for phylogenetic estimates of gastropod relationships. *Mol Phylogenet Evol* 2003;29:641-7.
- Rolland T, Fayolle S, Cazaubon A, Pagnetti S. Methodical approach to distribution of epilithic and drifting algae communities in a French subalpine river: inferences on water quality assessment. *Aquatic Sciences* 1997;59:57-73.
- Rose JB, Huq A, Lipp EK. *Health climate and infectious diseases: a global perspective*. Report from the American Association of Microbiologists. Washington DC, USA. 2001. p. 24.

- Round FE, Crawford RM, Mann DG. The diatoms: biology and morphology of the genera. Cambridge: Cambridge University Press; 1990.
- Semenza JC. Climate change and human health. *Int J Environ Res Public Health* 2014;11:7347-53.
- Sherchand J. Future emerging issues in waterborne diseases and microbial agents. *J Inst Med* 2012;34:1-3.
- Skerman, VBD, McGowan V, Sneath PHA. (Ed) Approved lists of bacterial names. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 1980;30:225-420.
- Tanchou V. *Review of methods for the rapid identification of pathogens in water samples. ERNCIP Thematic Area Chemical & Biological Risks in the Water Sector Task 7, deliverable 1* Brussels: Publications Office of the European Union; 2014.
- Tonolli V. *Introduzione allo studio della limnologia: ecologia e biologia delle acque dolci*. Verbania Pallanza: Edizioni dell'Istituto Italiano di Idrobiologia;1975.
- United Nation General Assembly. The human right to water and sanitation: resolution / adopted by the General Assembly, 3 August 2010, A/RES/64/292, Disponibile at: <https://www.refworld.org/docid/4cc926b02.html>; ultimo consultazione 13/06/2019.
- Whitehead PG, Wilby RL, Battarbee RW, Kernan M, Wade A J. A review of the potential impacts of climate change on surface water quality. *Hydrological Sciences Journal* 2009;54(1)101-23.
- WHO. *Division of Emerging and other Communicable Diseases Surveillance Control. Emerging and Communicable disease annual report 1996*. Geneva: Publications World Health Organization; 1997.
- WHO. *Emerging issues in water and infectious disease*; Geneva: World Health Organization; 2003.
- WHO. *Environment and health risks from climate change and variability in Italy*. In: Menne B, Wolf T (Ed). World Health Organization Europe and Italian Agency for Environmental Protection and Technical Services (APAT). Copenhagen, Publications WHO Regional Office for Europe; 2007. p.107.
- Woolhouse MEJ. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in Microbiol* 2002;10 (Suppl.):S3-S7.
- WHO. Microbial Fact Sheet. In: *Guidelines for drinking-water quality*. Geneva: World Health Organization; 2011. p. 231-306.
- Wright JLC, Boyd RK, De Freitas ASW, Falk M, Foxall RA, Jamieson WD, Loycock MV, McCulloch AW, McInnes AG, Odense P, Pathak VP, Quilliam MA, Ragan MA, Sim PG, Hibault P, Walter JA, Gilgan M, Richard DGA, Dewar D. Identification of domoic acid, a neuroexcitatory amino acid, toxic mussels from eastern Prince Edward Island. *Canadian Journal of Chemistry* 1989;67(3):481-90.
- Yamada H, Nakamura F. Effect of fine sediment deposition and channel works on periphyton biomass in the Makomanai River, northern Japan. *River Research and Applications* 2002;18:481-93.

BIOMONITORAGGIO SU SPECIE ACQUATICHE SENTINELLA IN AMBIENTI MARINO-COSTIERI E DI TRANSIZIONE AI FINI DELLA VALUTAZIONE DEI RISCHI AMBIENTALE E SANITARIO

Pierluigi Piras (a), Tiziana Serraino (b)

(a) *Assessorato dell'Igiene e Sanità e dell'assistenza sociale, Regione Autonoma della Sardegna, Cagliari*

(b) *Direzione Generale per l'igiene e la Sicurezza degli Alimenti e la Nutrizione, Ministero della Salute, Roma*

Introduzione

Nello studio sulle interazioni tra organismi e ambiente, quello marino-costiero e di transizione rappresenta un ambiente particolarmente interessante e variegato per la complessità delle problematiche biologiche e biochimiche che lo sottendono, unitamente alla varietà di habitat e di biocenosi presenti. Si tratta inoltre di ambienti estremamente produttivi, storicamente importanti per l'esercizio della pesca e dell'acquacoltura, ma anche per le attività portuali e industriali (con un correlato rischio di immissione di contaminanti di varia natura), che sono pertanto sottoposti a pressioni antropiche tali da minacciarne i delicati equilibri ecologici (Tagliapietra *et al.*, 2014). Gli effetti critici del generale modello di sviluppo delle aree marino-costiere cui assistiamo si riflettono quindi in una varietà di alterazioni delle caratteristiche naturali di tali ambienti, con un progressivo inquinamento delle acque di transizione e costiere, oltre ad una serie di altri impatti che si sviluppano e interessano territori e scale geografiche sempre più ampie. Ci troviamo quindi di fronte ad ambienti molto complessi, anche da analizzare, per la presenza di numerosi fattori che concorrono a renderli molto variabili. La morfologia di ogni area marino-costiera viene infatti influenzata da variazioni stagionali e circadiane, di tipo climatico (piogge e venti, temperatura) o fisico-chimico (salinità e ioni disciolti, ossigeno). Per le loro caratteristiche di suscettibilità a variazioni dei parametri ambientali e quindi anche ad alterazioni delle concentrazioni di nutrienti e contaminanti, gli organismi acquatici degli ambienti marino-costieri sono estremamente interessanti e ampiamente utilizzati in programmi di biomonitoraggio come “animali sentinella” (Van der Schalie *et al.*, 1999).

Le specie selvatiche e sinantropiche, sia d'allevamento che da compagnia (Backer *et al.*, 2001), possono essere prese in considerazione non solo per le patologie che possono manifestare e assumere quindi un notevole interesse in campo ecologico, biologico, epidemiologico in senso ampio e in campo specifico veterinario per la possibilità che si instaurino fenomeni di tipo zoonosico, ma anche per ciò che possono rivelare sulla qualità dell'ambiente nel quale esse vivono (De Nardo, 2003). In particolare, grazie alla loro variabile capacità di bioaccumulo di quantità misurabili di xenobiotici (e in alcuni casi, tali sostanze possono essere amplificate e biomagnificate attraverso la catena alimentare), le specie acquatiche sessili, sedentarie e/o poco mobili degli ambienti costieri rappresentano dei naturali segnalatori ambientali o “organismi sentinella”. Il posizionamento di tali organismi all'interno della catena alimentare, se appare utile, perché semplicistico, da un punto di vista scolastico, non lo è certamente sotto il profilo ecologico, trovandoci invece di fronte a modelli generalmente più complessi che prendono in considerazione

tutte le possibili interconnessioni trofiche tra le varie specie, in modo tale che più che una catena dovremmo piuttosto riferirci ad una complessa “rete trofica”.

Com'è noto, i metodi scientifici basati sull'impiego di specie animali (Rabinowitz *et al.*, 2005) per misurare l'impatto degli agenti inquinanti su specifiche matrici ambientali forniscono una valutazione tendenzialmente “globale” degli effetti dannosi esercitati su detti organismi, permettendo di considerare gli effetti sinergici che possono instaurarsi per la compresenza di più sostanze, o effetti a lungo termine per basse concentrazioni di esposizione. Occorre tuttavia considerare che negli organismi acquatici esistono dei fattori di possibile “disturbo”, quali l'età, il sesso e lo stato riproduttivo, che possono portare a travisamenti nella interpretazione e valutazione dei dati. È quindi indispensabile il possesso di un'adeguata competenza sui cicli biologici delle specie considerate e dei rispettivi fattori regolatori, comprese le caratteristiche biochimico-fisiologiche degli organismi sentinella utilizzati. Le specie selezionabili per le aree marino-costiere e di transizione sono infatti capaci di sopportare gli stress osmotici, avendo sviluppato adattamenti particolari alle condizioni di tali ambienti. Agli organismi “sentinella” viene quindi riconosciuta una particolare utilità in tutte quelle situazioni e contesti nei quali ci si pongano scopi come, ad esempio, quelli di: evidenziare contaminanti ambientali emergenti o riemergenti, monitorare la contaminazione nelle diverse fasi della catena alimentare, investigare la biodisponibilità dei contaminanti nei diversi comparti ambientali, facilitare la valutazione del rischio derivante da un'esposizione e, quindi, stimolare e promuovere quelle correlazioni e collaborazioni tra professionisti di ecologia, tossicologia, epidemiologia ambientale, medicina e veterinaria che possano trarre vantaggio da un approccio comune e olistico ai rischi emergenti sotto il profilo ambientale e della sanità pubblica (Reif 2011; Rombolà *et al.*, 2012).

Il fronte animale per la valutazione ambientale e sanitaria

I cambiamenti ambientali globali, unitamente all'aumento esponenziale dello sfruttamento delle risorse e al crescente consumo di territorio naturale da parte dell'uomo determinano uno scenario che interessa in modo ancora crescente le società industrializzate e che da più tempo hanno un alto tasso di sviluppo. Tra questi, anche i Paesi come il nostro, che si affacciano sulla costa settentrionale del Mediterraneo sono tra quelli nei quali le ripercussioni ambientali si sono maggiormente manifestate lungo la fascia costiera. La valutazione della qualità degli ambienti marino-costieri e di transizione è quindi diventata di importanza prioritaria negli ultimi anni e, nel contesto comunitario, anche la protezione delle acque costiere e degli ecosistemi di transizione si trova attualmente regolamentata dalla *Water Framework Directive*, recentemente riveduta e aggiornata (Direttiva 2013/39/UE) e come tale recepita nella normativa italiana (DL.vo 172/2015). Relativamente a tali acque, esiste quindi una strategia condivisa riguardo al fatto che determinati obiettivi specifici debbano essere raggiunti da tutti i Paesi dell'Unione Europea (UE) come: ridurre la concentrazione di composti chimici prioritari, non eccedere la concentrazione soglia per una serie di contaminanti chimici, ridurre gli impatti dell'inquinamento chimico su individui e popolazioni. Il raggiungimento di tali obiettivi passa necessariamente attraverso il controllo della qualità delle acque, anche attraverso il biomonitoraggio. La Commissione Europea, servendosi del Joint Research Centre, ha redatto un elenco di riferimento unico di “sostanze prioritarie” regolamentate e di contaminanti emergenti (con più di 2700 sostanze o gruppi di sostanze) per supportare la valutazione dei contaminanti nell'ambiente marino. Tra gli inquinanti emergenti elencati figurano prodotti farmaceutici, pesticidi di nuova registrazione, additivi plastici industriali e nuovi ritardanti di fiamma. Sebbene non tutti questi contaminanti

elencati siano preoccupanti per l'ambiente marino, tale panoramica generale dovrebbe aiutare a comprendere le diverse opzioni e sostenere ulteriori sviluppi e nuovi approcci per il monitoraggio e la valutazione dell'inquinamento chimico nelle acque marine prospicienti in continente europeo (Tornero *et al.*, 2016).

È possibile ricorrere a varie metodologie d'indagine per la valutazione del rischio ambientale e sanitario legato ai contaminanti presenti negli organismi acquatici, in particolare se si tratta di specie edibili oggetto di raccolta o pesca. Tuttavia, sotto il profilo generale, sono riconducibili fondamentalmente a due gli approcci praticabili:

- lo sviluppo di studi di popolazioni animali acquatiche attraverso campionamenti ad hoc, finalizzati e rappresentativi di aree marino-costiere ed ecosistemi di transizione esposti al rischio di contaminazione;
- l'analisi, ai fini epidemiologico-informativi (ovviamente, sotto il profilo della esposizione al rischio), delle banche-dati di lungo periodo (Sioen *et al.*, 2007) relative a determinazioni analitiche svolte per varie altre finalità (es. di monitoraggio/sorveglianza, ma in genere legate ai controlli ufficiali per la verifica puntuale della conformità di tali prodotti ai limiti di legge) su prodotti della pesca immessi in commercio.

Relativamente al primo approccio, si parte dal presupposto che gli animali siano ovviamente esposti al pari dell'uomo agli stessi contaminanti presenti nell'aria, nel suolo, nell'acqua e in tutto ciò che ciascuna specie animale assume come alimento nel dipanarsi della catena alimentare. Il monitoraggio del biota con procedure e metodologie standardizzate (WFD, 2014; Polesello *et al.*, 2016), cui si è attenuta anche l'Italia con l'emanazione di apposite linee guida (14) per la ricerca delle sostanze prioritarie di cui si è prima detto, unitamente allo studio degli effetti biologici e sanitari (anche limitati al rilievo di condizioni pre-patologiche com'è il caso del bioaccumulo) rappresenta già un modello per la stima del rischio, non solo ambientale, ma anche sanitario. Le popolazioni animali naturalmente esposte a contaminanti nei loro ambienti e i cui dati possono essere raccolti (meglio se con sistematicità) e analizzati regolarmente, sono com'è noto definiti "sistemi sentinella animali" ed essere utilizzati per l'identificazione (e poi per il monitoraggio, la sorveglianza e la gestione del rischio) di un'ampia varietà di contaminanti ambientali, pericolosi per le diverse specie animali, per gli ecosistemi e, sia per esposizione diretta che per quella indiretta, per la salute umana. Tali informazioni, su dati disponibili ad hoc, possono quindi offrire una prima lettura e aprire alle potenzialità d'indagine su dati correnti dei sistemi informativi di lungo periodo, anche per effettuare indagini epidemiologiche retrospettive.

E a questo punto si innesta il secondo approccio metodologico. Una moderna visione della "sorveglianza sanitaria", che nasce allo scopo di raccogliere, analizzare e diffondere dati utili per le l'adozione di misure di Sanità Pubblica, nel caso di rischi associati a fattori ambientali non può quindi fare a meno del monitoraggio ambientale, anche attraverso "organismi sentinella", con un'associazione inscindibile che rappresenta la necessaria evoluzione del classico concetto di sorveglianza come mera osservazione di individui in relazione ad una specifica patologia. Ne consegue che, anche attraverso una corretta elaborazione della, spesso notevolissima, mole di informazioni sulle concentrazioni di contaminanti ambientali nei prodotti della pesca, sia su specifici ambiti regionali che su quello più vasto nazionale, è possibile affinare e rendere sempre più robusti anche gli strumenti metodologici della "analisi del rischio", concepiti come asse portante della sicurezza alimentare da applicarsi specificamente anche nelle filiere dei prodotti della pesca. A tale proposito ne costituisce già un efficace esempio il "Descrittore 9" dell'Allegato alla recente Decisione UE 2017/848 che fa esplicito riferimento ai "contaminanti presenti nei pesci e in altri prodotti della pesca in mare destinati al consumo umano" che eccedano i livelli stabiliti dalla legislazione europea (Regolamento (CE) 1881/2006), applicando metodi di campionamento ufficiali (Regolamento (CE) 333/2007 e Regolamento (UE) 2017/644).

Conclusioni

Nel contesto della valutazione dei rischi (attraverso l'identificazione e la caratterizzazione dei pericoli, la valutazione dell'esposizione e la conseguente caratterizzazione dello specifico rischio) non può essere ovviamente lasciato alla ricerca tossicologica *in vivo* e *in vitro* il contributo principale, se non esaustivo, per la stima dei rischi, come compito precipuo della ricerca scientifica, ma occorre promuovere, anche mobilitando le risorse "di campo" della sanità pubblica veterinaria, un orientamento pienamente dischiuso anche al contributo dell'epidemiologia comparata, assegnandole il ruolo di co-protagonista nella rilevazione dei rischi, in particolare se questi possono essere intercettati precocemente, e non confinarne il ruolo solo a quello della gestione dei rischi, benché questo sia compito precipuo degli operatori sanitari sul campo. Va quindi consolidato l'approccio che sottende l'utilizzo degli animali sentinella, sviluppando sempre più le connessioni tra le funzioni di tutela ambientale con quelle di tutela della salute e sostenendo nella pianificazione dei rispettivi controlli ufficiali la necessità di inserire, non in modo episodico, ma in modo sistematico, l'importante punto di osservazione sul fronte animale che può essere dato dalla competenza veterinaria, sollecitando le diverse strutture sanitarie territoriali, le agenzie per la protezione dell'ambiente e la comunità scientifica ad approfondire le conoscenze dei rispettivi comparti, ambientale e sanitario, facendo però confluire i diversi approcci verso una prospettiva di valutazione organica e condivisa.

Bibliografia

- Backer LC, Grindem CB, Corbett WT, Cullins L, Hunter JL. Pet dogs as sentinels for environmental contamination. *Sci Tot Environ* 2001;274:161-9.
- De Nardo P. Animali come sentinelle di inquinamento ambientale. *Epidemiol Prev* 2003;27:26-31.
- Europa. Decisione (UE) 2017/848 che definisce i criteri e le norme metodologiche relativi al buono stato ecologico delle acque marine nonché le specifiche e i metodi standardizzati di monitoraggio e valutazione e che abroga la decisione 2010/477/UE (Testo rilevante ai fini del SEE.) *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L 125/43 del 18/05/2017.
- Europa. Direttiva 2013/39/UE che modifica le direttive 2000/60/CE e 2008/105/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L 226/1 del 24/08/2013.
- Europa. Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L 364/5 del 20/12/2006.
- Europa. Regolamento (CE) n. 333/2007 della Commissione del 28 marzo 2007 relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di piombo, cadmio, mercurio, stagno inorganico, 3-MCPD e benzo(a)pirene nei prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L 88/29, del 29/03/2007.
- Europa. Regolamento (UE) 2017/644 della Commissione del 5 aprile 2017 che stabilisce i metodi di campionamento e analisi per il controllo dei livelli di diossine, PCB diossina-simili e PCB non diossina-simili in alcuni prodotti alimentari. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L-92/9, 06/04/2017:9-34.
- European Commission. *Common Implementation Strategy for the water framework directive (2000/60/EC). Guidance document n. 33 on analytical methods for biota monitoring under the Water Framework Directive*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2014. (Technical Report – 2014-084).

- European Commission. *Common Implementation Strategy for the water framework directive (2000/60/EC). Guidance document n. 32 on biota monitoring (the implementation of EQS-biota) under the Water Framework Directive*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2014. (Technical Report – 2014-083).
- Italia. Decreto Legislativo 13 ottobre 2015, n. 172. Attuazione della direttiva 2013/39/UE, che modifica le direttive 2000/60/CE per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. *Gazzetta Ufficiale – Serie Generale* n. 25 del 7/10/2015.
- Polesello S, Valsecchi S, Balzamo S, Carere M. Criteri per il monitoraggio delle sostanze prioritarie nel biota. In: *Linee guida per il monitoraggio delle sostanze prioritarie (secondo D.Lgs. 172/2015). Parte I*. Roma: ISPRA; 2016. (Manuali e Linee Guida 143/2016). p. 7-19. Disponibile all'indirizzo: http://www.isprambiente.gov.it/files/pubblicazioni/manuali-lineeguida/MLG_143_16.pdf; ultima consultazione 27/05/2019.
- Rabinowitz PM, Gordon Z, Holmes R, Taylor B, Wilcox M, Chudnov D, Nadkarni P, Dein J. Animals as sentinels of human environmental health hazards: an evidence-based analysis - review. *EcoHealth* 2005;2:26-37.
- Reif JS. Animal sentinels for environmental and public health. Supplement 1 *Public Health Rep* 2011;126:50-7.
- Rombolà P, Battisti S, Scaramozzino P. Biomonitoraggio animale e microinquinanti in sanità pubblica – Review. *Epidemiol Prev* 2012;36(5)Suppl.4.:5-14. Disponibile all'indirizzo: <http://www.epiprev.it/materiali/2012/EP5-2012/EPv36i5suppl4.pdf>; ultima consultazione 27/05/2019.
- Sioen I, Van Camp J, Verdonck FA, Van Thuyne N, Willems JL, De Henauw SW. How to use Secondary Data on seafood contamination for probabilistic exposure assessment purposes? Main problems and potential solutions. *Hum Ecol Risk Assess* 2007;13:632-57.
- Tagliapietra D, Magni P, Basset A, Viaroli P. Ecosistemi costieri di transizione: trasformazioni recenti, pressioni antropiche dirette e possibili impatti del cambiamento climatico. *Biol Ambient* 2014;28(2):101-11.
- Tornero V, Hanke G. Chemical contaminants entering the marine environment from sea-based sources: a review with a focus on European seas – Review. *Mar Poll Bull* 2016;112:17-38.
- Van der Schalie WH, Gardner HS, Bantle JA, De Rosa CT, Finch RA, Reif JS, Reute RH, Backer LC, Burger J, Folmar LC, Stokes WS. Animals as sentinels of human health hazards of environmental chemicals. *Environ Health Persp* 1999;107(4):309-315.

CAMBIAMENTI CLIMATICI E SALUTE: EVENTI ESTREMI

Mario Figliomeni

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I recenti cambiamenti del clima sono stati analizzati più in dettaglio solo a partire dagli ultimi 50 anni, in seguito ad una crescita esponenziale delle attività umane ma anche dell'esposizione e della vulnerabilità sociale che, influenzate anche da diversi altri fattori, compresi i cambiamenti climatici, alterano i servizi degli ecosistemi.

I rapporti sui cambiamenti climatici dell'*Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) confermano quanto evidenziato dai rapporti precedenti. L'innalzamento globale delle temperature, la cui causa dominante è costituita da attività antropogeniche, probabilmente associate anche all'incremento del riscaldamento globale e eventi estremi come precipitazioni di concentrazioni di gas serra, sono tra le principali cause del surriscaldamento globale che contribuiscono alla degradazione dell'ambiente naturale e riducono la resilienza delle comunità. Nel rapporto si sottolinea come nella prevenzione e gestione dei rischi naturali, in particolare le misure non strutturali, sia fondamentale affrontare gli aspetti dell'adattamento al cambiamento climatico e come i due ambiti possano e debbano condividere metodologie per sviluppare la capacità di resilienza anche dei sistemi sociali (IPCC, 2013).

Vi sono numerose aree del pianeta che hanno visto un incremento in frequenza e intensità delle precipitazioni: aumenti in frequenza di ondate di calore e gelo in molte aree, una maggiore intensità delle tempeste e alterazioni nella presentazione dei cicloni tropicali. I fenomeni di siccità si sono sviluppati in frequenza in diverse aree e sono tendenzialmente molto più intensi e più duraturi rispetto anni precedenti.

Vi sono evidenze che suggeriscono come il riscaldamento globale abbia alterato in frequenza e intensità le precipitazioni in diverse aree del pianeta, aumentandole in alcune e riducendole in altre. Le modifiche più evidenti si sono avute a partire dal 1950 e in ciascun paese si producono disuguaglianze altrettanto vistose. La "vulnerabilità" al cambiamento climatico avviene ovunque e per motivi diversi colpisce le fasce più povere della popolazione.

Si deve considerare, inoltre, la vulnerabilità ambientale, intendendo per "Ambiente" il luogo circoscritto dove si svolge la vita umana, animale e biologica, intesa sia, considerando le trasformazioni operate dall'uomo e i nuovi conseguenti equilibri, sia come patrimonio da conservare e preservare da distruzione, degradazione e inquinamento. La vulnerabilità è un concetto che si sviluppa in relazione a quello di resilienza e adattamento che rimandano anche a eventi estremi come le alluvioni e catastrofi naturali.

Conseguenze sulla salute

Le conseguenze sulla salute derivanti dai cambiamenti climatici sono tra i problemi più urgenti e dovranno essere affrontati nei prossimi decenni. A tal riguardo, le popolazioni più a rischio sono quelle concentrate nei centri urbani, più esposte all'inquinamento ma anche quelle che vivono nelle aree montuose o costiere, dove esiste maggiore rischio idro-geologico. Infatti le inondazioni e tutte le catastrofi naturali incidono a livello globale sulle malattie, la morbilità e la mortalità e sono spesso causa di sintomi e disturbi di diverse patologie (Louria *et al.*, 2000). I rischi per la salute sono molteplici: annegamenti, traumi e lesioni di varia natura, avvelenamenti da eventuali

sostanze tossiche liberate in seguito a possibili danni ad impianti di depurazione o malattie gastrointestinali dovute ad accidentale ingestione di acqua contaminata (Direttiva Quadro delle Acque, 2000; Direttiva alluvioni, 2007; Piano Gestione Rischio Alluvioni, 2010). Le conseguenze di eventi estremi del genere possono essere particolarmente gravi se colpiscono inoltre i gruppi di persone cosiddette vulnerabili, bambini, anziani, persone con patologie croniche o persone con basso livello socio-economico che risiedono in zone con maggiore rischio alluvioni. (Kovats *et al.*, 2004). Quest'ultime hanno sicuramente maggiore difficoltà a fronteggiare eventuali emergenze del genere.

Le inondazioni sono il risultato di specifiche combinazioni climatologiche regionali, questi eventi sono le manifestazioni tipiche del dissesto idrogeologico e si verificano spesso in conseguenza a esondazioni di acque di fiumi non contenute da sponde che si riversano nelle zone circostanti arrecando danni a edifici, insediamenti industriali, vie di comunicazioni e ovviamente con conseguente impatto sulla salute pubblica (O'Connor *et al.*, 2013).

I drammatici effetti delle alluvioni, l'aumento delle probabilità di future alluvioni insieme ai recenti eventi avvenuti in Europa, solleva con urgenza la questione del loro impatto sulla salute. Oltre agli effetti tangibili, quali eventuali danni a proprietà e insediamenti umani, c'è una crescente consapevolezza dell'importanza degli effetti intangibili ovvero quelli sia fisici che psicologici, tradizionalmente sottovalutati specialmente nella stima delle conseguenze del fenomeno (Du *et al.*, 2010). In termini di ricorrenza degli effetti sulla salute, questi, si suddividono in quelli che si verificano immediatamente dopo, quelli che hanno conseguenze giorni o settimane appena successive e quelli più a lungo termine che durano più a lungo. Queste categorie si dividono in effetti sulla salute di tipo diretto o indiretto.

Gli effetti diretti sono quelli che colpiscono le persone e si manifestano durante l'inondazione stessa come possibili traumi da possibili incidenti o infezioni da contatto con acque contaminate. La bassa o alta mortalità legata a eventi è strettamente legata alla natura catastrofica delle stesse come il rapido innalzamento delle acque, abbondanti piene o materiali trasportati dall'impeto dei flussi. Gli effetti indiretti si riferiscono soprattutto alle conseguenze dei danni a infrastrutture o proprietà, quindi danni materiali (Wolf *et al.*, 2007).

Direttiva 2007/60/CE e DL.vo 49/2010

La Direttiva 2007/60/CE (Europa, 2007) definisce il rischio di alluvioni come la combinazione della probabilità di un evento alluvionale e delle potenziali conseguenze negative per la salute umana, l'ambiente, il patrimonio culturale e l'attività economica derivanti da tale evento. Dove per alluvione si intende l'allagamento temporaneo di aree che abitualmente non sono coperte d'acqua. Negli ultimi decenni in Europa si sono verificati numerosi eventi alluvionali che hanno provocato danni ingenti in termini di persone traumatizzate, disastri ambientali e perdite economiche. Questi fenomeni hanno suscitato un aumento di consapevolezza riguardo la severità delle potenziali conseguenze delle inondazioni ed hanno messo in evidenza la necessità di intraprendere azioni concrete a livello comunitario al fine di gestire eventuali emergenze di inondazioni. Tale esigenza si concretizzò nel 2007 con l'emanazione della Direttiva 2007/60/CE (cosiddetta Direttiva Alluvioni) che fornisce un riferimento a livello europeo per l'individuazione delle aree inondabili, delle aree di rischio e la valutazione e la gestione del rischio alluvionale. In particolare la direttiva europea ha lo scopo di istituire un quadro comune per la valutazione e la gestione dei rischi alluvione volto a ridurre le conseguenze negative in termini di salute pubblica.

Per tale obiettivo la norma individua tre strumenti in particolare che gli Stati Membri devono adottare:

- Valutazione preliminare del rischio alluvioni
- Mappe di pericolosità e di rischio
- Piani di gestione del rischio alluvionale.

La valutazione preliminare, concepita come punto di partenza per l'attività di mappatura, ha lo scopo di stimare il livello di rischio in ogni distretto idrografico e mette in evidenza le aree sottoposte ad un potenziale rischio significativo. Tale analisi si sviluppa poi ulteriormente tramite l'elaborazione di mappe di pericolosità e di rischio, redatte per tre scenari con diversa probabilità di evento, che riportano ad una serie di elementi specifici dell'evento calamitoso e le potenziali conseguenze. La redazione di queste mappe è finalizzata alla produzione del Piano di Gestione del Rischio Alluvione (PGRA) che è lo strumento ultimo per il coordinamento delle attività di protezione, prevenzione e gestione del rischio alluvionale in ogni distretto idrografico. La direttiva richiede, inoltre, che nello svolgimento delle suddette attività si utilizzino le migliori procedure e tecnologie disponibili tenendo conto inoltre delle eventuali complicazioni derivanti dal cambiamento climatico e dal pericolo di inquinamento delle acque.

In Italia la Direttiva 2007/60/CE viene recepita per mezzo del DL.vo 49/2010 che individua le modalità di attuazione della norma europea nel nostro paese. In particolare, il DL.vo specifica i contenuti e i requisiti minimi dei documenti previsti dalla direttiva e conferisce alle Autorità di Bacino Distrettuali il compito di redigere tali documenti per il distretto idrografico di propria competenza. Tali fenomeni sono tra i pericoli naturali più devastanti del mondo, con la maggiore percentuale di morti e danni alle proprietà. Le alluvioni sono frutto di un deflusso in eccesso, che aumenta o diminuisce a seconda di diversi fattori, come l'intensità delle precipitazioni, lo scioglimento delle nevi, il tipo di sottosuolo, le condizioni di umidità dello stesso e l'uso del territorio. Infatti, quando eventi meteorologici estremi si verificano in zone con alto grado di urbanizzazione, i danni e le conseguenze che ne conseguono risultano essere più gravi (Yuyu *et al.*, 2010). I fattori climatici, legati alla stagionalità e ai naturali ritmi annuali, influiscono in modo determinante sulla vita dell'uomo, sulla sua salute e sul suo benessere psico-fisico che ne consegue. La Tabella 1 riporta la normativa europea di riferimento recepita in Italia. La Tabella 2 riporta il Piano Gestione Rischio Alluvioni del DL.vo 49/2010.

Tabella 1. Normativa europea di riferimento recepite in Italia

Norma	Ambito generale	Aspetti specifici
Direttiva Quadro delle Acque (Dir. 2000/60/CE) recepita in Italia DL.vo 152/2006	Tutela e gestione delle acque	Fissa un insieme di principi per una politica sostenibile in materia di acque. <i>Obiettivi:</i> protezione delle risorse idriche; miglioramento della qualità delle acque; mitigazione degli effetti delle inondazioni e della siccità. <i>Strumento applicativo:</i> Piano di Gestione del Bacino Idrografico.
Direttiva Alluvioni (Dir. 2007/60/CE) recepita in Italia DL.vo 49/2010	Valutazione e gestione dei rischi di alluvioni (centrale rilevanza gli effetti derivanti dai cambiamenti climatici in atto, sia sotto l'aspetto della carenza idrica e della siccità, sia sotto quello riconducibile al rischio di alluvioni e alle modalità nelle quali esse si sostanziano).	<i>Obiettivo:</i> riduzione delle conseguenze negative (riduzione del rischio) delle inondazioni per la salute umana, l'ambiente, il patrimonio culturale e le attività economiche. Tre fasi di attuazione: 1.valutazione preliminare del rischio alluvioni (2011); 2.mappatura della pericolosità e del rischio alluvioni (2013); 3.predisposizione e attuazione dei piani di gestione del rischio alluvioni (PGRA, 2015); la componente di vulnerabilità relativa al cambiamento climatico sarà valutata in aggiornamenti successivi (2017). <i>Strumento applicativo:</i> Piano di Gestione del Rischio Alluvioni.

Tabella 2. Normativa di riferimento nazionale

Piano nazionale	Caratteristiche
PGRA Piano Gestione Rischio Alluvioni (DL.vo 49/2010)	È l'insieme di misure e strumenti che riguardano tutti gli aspetti della gestione del rischio alluvioni: prevenzione, protezione, preparazione, previsione di alluvioni e sistema di allertamento, con l'obiettivo di ridurre le conseguenze negative delle inondazioni attraverso interventi non strutturali e azioni per la riduzione della pericolosità; contempla: <ul style="list-style-type: none"> - analisi dei processi fisici, individuazione criticità, indicazione rimedi, governo e gestione del suolo e delle acque, previsioni di sviluppo e uso del territorio (P.A.I. – Parte A) - misure per la gestione delle emergenze (Piani Protezione Civile – Parte B).

Bibliografia

- Italia. Decreto legislativo 23 febbraio 2010 n. 49. Attuazione della direttiva 2007/60/CE relativa alla valutazione e alla gestione dei rischi di alluvione. *Gazzetta Ufficiale* n. 77, 2 aprile 2010.
- Du W, FitzGerald G, Clark M, Hou X. Health impacts of floods. *Prehosp Disaster Med* 2010;25:265-72.
- Europa. Direttiva 2007/60/CE del Parlamento europeo e del Consiglio del 23 ottobre 2007 relativa alla valutazione e alla gestione dei rischi di alluvioni *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea* L 288/27 del 6.11.2007.
- Europe. *Joint Research Centre Annual Report 2005*. European Commission; 2006. (EUR 22254).
- IPCC. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK, New York, NY: Cambridge University Press; 2013.
- Italia. Decreto legislativo del 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Gazzetta Ufficiale* n. 88, 14 aprile 2006.
- Kovats RS, Hajat S, Wilkinson P. Contrasting patterns of mortality and hospital admissions during hot weather and heat waves in Greater London, UK. *Occupational and Environmental Medicine* 2004;61(11):893-8.
- Louria DB. Emerging and re-emerging infections: the social determinants. *Futures* 2000;32:581-94.
- O'Connor JE, Costa JE. *Large floods in the United States: Where they happen and why*. Reston, VA: U.S. Geological Survey; 2003. (Geological Survey Circular 1245). Disponibile all'indirizzo: <https://pubs.usgs.gov/circ/2003/circ1245/>; ultima consultazione 30/11/18.
- UNEP (United Nations Environment Programme). *Global environment outlook, 1st ed*. New York and Oxford: Oxford University Press; 1977.
- UNEP (United Nations Environment Programme). *Human development report*. New York: Oxford University Press; 1998.
- WHO. *Division of emerging and communicable diseases surveillance and control annual report – 1996*. Geneva: World Health Organization; 1997.
- Wolf T, Menne B & World Health Organization. Regional Office for Europe. *Environment and health risks from climate change and variability in Italy, edited by Tanja Wolf and Bettina Menne*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2007.
- Yuyu Z, Wang Y, Gold AJ, August PV. Effects of Increasing urban impervious surface surfacenon hydrology of coastal Rhode Island Watersheds. In: Yequiao Wang (Ed.). *Remote sensing of coastal environments*, Boca Raton, FL: CRC Press; 2010. p. 355-67.

INTERAZIONE GENOMA AMBIENTE

Simona Gaudi

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nuova concezione del genoma

Il genoma è l'insieme delle informazioni ereditarie di un organismo; nel genoma risiedono sia le sequenze che codificano per le proteine, i “mattoni” per la costruzione di un organismo, che sequenze apparentemente non codificanti per proteine, erroneamente ritenute senza una funzione (Lander *et al.*, 2001; Venter *et al.*, 2001). In realtà queste sequenze, che costituiscono più del 98% dell'intero genoma umano, sono alla base della regolazione dell'espressione delle proteine. Le tecnologie disponibili, prima dello sviluppo del Progetto Genoma Umano, consentivano l'identificazione e l'analisi solo di alcuni geni ipoteticamente coinvolti nell'eziopatogenesi delle malattie. È necessario, oggi rivedere il concetto di DNA spazzatura o egoista, e riassegnare una funzione a tali sequenze che costituiscono la base della nostra unicità e che potrebbero essere coinvolte nella predisposizione alle malattie multigeniche e multifattoriali. Uno dei risultati più sorprendenti e inattesi ottenuti dal progetto di sequenziamento del genoma umano è stato proprio quello di constatare che il numero totale dei geni è decisamente inferiore a quello atteso e sorprendentemente simile a quello di organismi molto diversi: un semplice nematode come il *C. elegans* ha un numero di geni codificanti (~19,300) quasi uguale a quello umano (~20,000) (Di Leonardo *et al.*, 2009). Questo ha suggerito che il grado di complessità biologica di un organismo non possa essere semplicemente il risultato del numero dei geni presenti nel suo DNA, ma piuttosto, dipenda dal grado di complessità dei meccanismi che ne regolano l'espressione (Copley, 2008; Stumpf *et al.*, 2008). Non dobbiamo dimenticare che tutte le componenti del genoma sono fondamentali e solo un corretto funzionamento e regolazione può garantirci lo stato di salute. La conoscenza dell'esatta sequenza dei nostri geni non è sufficiente a spiegare il confine che esiste tra stato di salute e malattia. Quindi, il nostro genoma nella sua complessità complessa, è dotato di una plasticità che gli consente di interagire con l'ambiente e di modificarsi nel tempo.

Il sequenziamento completo del genoma umano e le tecnologie di analisi funzionale del genoma stesso, hanno consentito lo studio delle variazioni del DNA grazie all'esistenza di polimorfismi genetici (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNP), dell'intero “trascrittoma” (tutto ciò che l'intero genoma trascrive, RNA) e del proteoma (tutte le proteine tradotte) al fine di individuare tutte le componenti molecolari che dipendono dal genoma.

Patologie non trasmissibili

Tali progressi della ricerca scientifica e le conoscenze di genomica funzionale hanno permesso di studiare e parzialmente decodificare la natura complessa di molte malattie non trasmissibili. Le patologie non trasmissibili ovvero multigeniche, multifattoriali e croniche, sono il risultato dell'interazione tra fattori biologici, psicologici, sociali e ambientali. Sebbene tutte le malattie non trasmissibili, definite anche come croniche e multifattoriali, hanno una componente genetica, l'identificazione di tutti i geni responsabili rappresenta ancora oggi una delle sfide più grandi della medicina di precisione. Come mai siamo ancora molto lontani dal potere individuare i geni

responsabili? Forse questo può dipendere dal fatto che la ricerca genetica degli ultimi vent'anni si è concentrata essenzialmente, se non esclusivamente, su quella porzione del genoma (2%) che codifica per le proteine. Lo studio dell'interazione non solo dei geni, ma dell'intero genoma con i diversi fattori ambientali rappresenta invece oggi una delle aree più promettenti per la medicina di precisione. Studi di genomica funzionale e di sequenziamento completo del genoma, tecnologie impensabili fino a qualche anno fa, offrono e offriranno nuove prospettive per comprendere le basi molecolari dell'interazione genoma/ambiente nelle patologie complesse.

Epigenetica

La letteratura scientifica degli ultimi 20-30 anni ha dimostrato come fattori ambientali siano in grado di alterare la struttura e la funzionalità del nostro genoma. Gli effetti dell'ambiente sul genoma possono influenzare la struttura del DNA compromettendo lo stato di salute dell'individuo. Le modificazioni epigenetiche producono un rimodellamento della struttura della cromatina e modulano l'espressione dei geni adiacenti. Tali meccanismi vengono definiti epigenetici in quanto, pur non producendo alterazioni stabili nel codice del DNA, sono ugualmente in grado di indurre modificazioni trasmissibili del fenotipo (Weinhold, 2006). Le modificazioni e le variazioni epigenetiche sono un meccanismo naturale che consente allo stesso genoma di essere letto in modo differente dando origine ai diversi tessuti e di conseguenza ai differenti organi. Se non intervenisse la regolazione epigenetica, la formazione e lo sviluppo di un embrione in un organismo completo non potrebbe avvenire. Ad oggi si conoscono tre meccanismi in grado di regolare la lettura delle informazioni del filamento di DNA, metilazione delle basi, acetilazione degli istoni e la presenza di piccole molecole di RNA che stabilizzano la struttura del DNA. Lo studio dei marcatori epigenetici (modificazioni molecolari e chimiche che non comportano cambiamenti nel nostro codice genetico), potrebbe aiutarci a capire quali sono le cause delle malattie complesse e, quindi, pensare a una loro possibile modificazione per attenuare o rimuovere le conseguenze biologiche in seguito all'interazione con fattori ambientali negativi.

Il meccanismo più studiato è la metilazione, ovvero l'aggiunta di un gruppo metile CH₃, a livello delle regioni ricche in citosina che sono definite come isole di CpG (*CpG-islands*). La metilazione reprime la trascrizione sia direttamente, inibendo il legame dei fattori di trascrizione, sia indirettamente, reclutando proteine che legano le sequenze CpG-metilate. Altri meccanismi di controllo epigenetico comportano modificazioni covalenti della coda degli istoni, come l'acetilazione, la fosforilazione, l'ubiquitinazione. Queste modificazioni alterano la struttura degli istoni, influenzando l'organizzazione dei complessi cromatinici e quindi l'accessibilità all'informazione genetica (Gopalakrishnan *et al.* 2008, Hadnagy *et al.*, 2008). In generale, si può dire che quanto più la cromatina è condensata tanto più la trascrizione risulta repressa. Un altro meccanismo epigenetico è costituito da alcune forme di RNA, come i miRNA (micro RNA) e i siRNA (*small interfering RNA*). Si tratta di piccole molecole di 21-25 nucleotidi che agiscono come "reostati cellulari" (modulatori) nella regolazione fine dell'espressione genica durante lo sviluppo e la differenziazione che hanno come bersaglio il 3' UTR (UnTranslated Region) degli mRNA, regioni coinvolte nell'espressione, stabilizzazione, localizzazione ed efficienza traduzionale degli RNA messaggeri (Wang *et al.*, 2008; Kim & Rossi, 2008). I meccanismi epigenetici regolano dunque i "pattern" di espressione che sono alla base dello sviluppo embrionale, del differenziamento cellulare, della risposta delle cellule a segnali ambientali come ormoni, nutrienti, stress, invecchiamento e danno cellulare. L'innovazione tecnologica di questi ultimi anni ha trasformato e ampliato le conoscenze nel campo dell'epigenetica. Tecniche quali i *microarray*, *ultra-high-throughput sequencing*, e altre ancora, sono state utilizzate per mappare nel genoma le modificazioni della cromatina, la metilazione delle cisteine e gli RNA non

codificanti, con una risoluzione al livello di proteosoma, dell'ordine di poche centinaia di basi. Questa alta capacità di risoluzione sta già permettendo di identificare differenze tra l'epigenoma di tessuti primari normali e campioni patologici, così come fra le diverse popolazioni cellulari che compongono un organismo. L'epigenoma integra le informazioni contenute nel genoma con tutti i segnali molecolari e chimici di origine cellulare, extracellulare e ambientale. Insieme al genoma, l'epigenoma impartisce il programma di espressione genico specifico e unico di ciascun tipo di cellula per definire la sua identità funzionale durante lo sviluppo o la malattia (Rivera *et al.*, 2013). L'epigenoma rappresenta anche la capacità di un organismo di adattarsi ed evolvere attraverso l'espressione di un set di caratteristiche o fenotipi che si sono sviluppati in risposta ad uno stimolo ambientale. In contrasto con la minore plasticità delle sequenze del genoma, l'epigenoma è caratterizzato da una risposta dinamica e flessibile a stimoli intracellulari ed extracellulari attraverso contatto tra cellule vicine, a cambiamenti fisiologici o a cambiamenti ambientali a cui l'organismo è esposto.

Tutti i geni in tutti i tipi di cellule sono attivati o silenziati attraverso l'interazione di questi meccanismi epigenetici. Durante la vita di un individuo sono presenti moltissimi cambiamenti epigenetici che si integrano cronologicamente con i diversi fattori ambientali che interagiscono con l'epigenoma. Nelle cellule differenziate sono presenti segnali che regolano in modo fine le funzioni cellulari durante la vita. Un epigenoma flessibile permette all'individuo di modificarsi per far fronte ai cambiamenti dell'ambiente circostante e imparare dalle nostre esperienze. L'espressione epigenetica può essere considerata come "il software" (Kanherkar *et al.*, 2014) del genoma che dirige l'embriogenesi e lo sviluppo prenatale e dirige anche lo sviluppo del corpo e del cervello di un individuo dopo la nascita. Specifici gruppi di geni vengono attivati o silenziati epigeneticamente durante diversi periodi della vita e questi sono responsabili dello sviluppo e della maturazione dell'individuo attraverso eventi predisposti in combinazione con stimoli ambientali. Ogni tipo di fattore epigenetico che influenza i geni o il network di espressione dei geni durante gli stadi della vita può provocare uno squilibrio nel processo di regolazione e può avere anche effetti a lungo termine (Figura 1) (Taherian & Ragan, 2019)

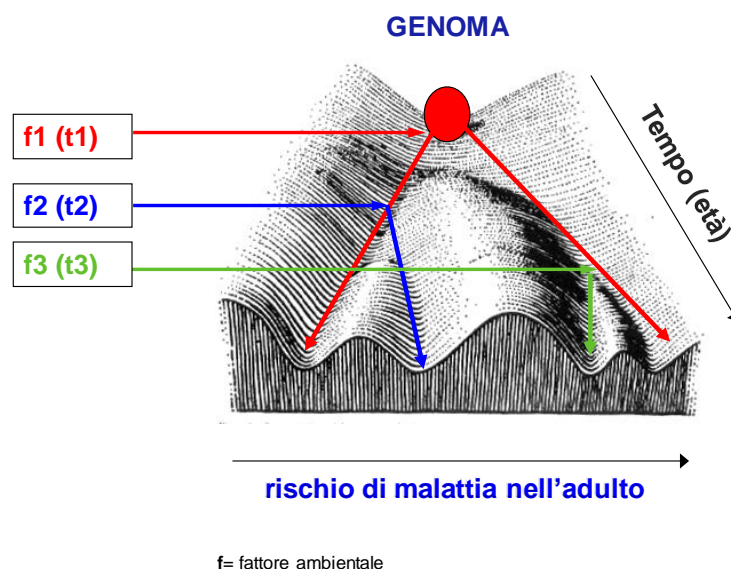


Figura 1. Rappresentazione di come da un'unico genoma, grazie anche all'interazione con fattori ambientali, si ottengono epigenomi diversi

Conclusioni

I più recenti risultati dimostrano come tutto il genoma concorra nel determinare le tante e diverse malattie complesse indicando un nuovo percorso per la ricerca delle basi molecolari delle malattie non trasmissibili. Lo studio della genomica funzionale e del sequenziamento completo del genoma ci consente di interpretare la malattia come la risultante di una variazione nella regolazione di più fattori: geni, genoma, epigenoma e ambiente.

La vulnerabilità genetica e genomica porta, infatti, allo stato di malattia quando si scontra con aspetti incongruenti dell'ambiente, ovvero delle abitudini e degli stili di vita dell'individuo. Allora è chiaro che, attraverso la conoscenza del genoma umano si identificheranno le basi della vulnerabilità verso le malattie, e di conseguenza l'intervento sull'ambiente e sugli stili di vita potrà diventare sempre più determinante per la cura e la prevenzione delle malattie non trasmissibili. Approcci innovativi per lo studio di tali meccanismi potranno aiutarci nell'individuare marker molecolari precoci, anche a livello del sangue periferico, che siano informativi e predittivi dell'insorgenza di una patologia.

L'elaborazione delle conoscenze scientifiche, che interpretano con sempre maggiore accuratezza, la reale complessità biologica delle malattie non trasmissibili, dovrà tradursi in pratiche cliniche in grado rispondere tempestivamente all'esordio delle patologie.

In questo contesto, la ricerca deve assumere una dimensione più integrata, fondata sul continuo interscambio di esperienze, tecniche e dati da ottenere con il potenziamento delle relazioni che verranno acquisite. Solo lo studio dell'architettura e della variazione del genoma umano, in relazione al cambiamento dei fattori ambientali, consentirà di comprendere non solo la storia genetica delle popolazioni, ma soprattutto le radici di molte patologie.

Bibliografia

- Copley R. The animal in the genome: comparative genomics and evolution. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2008;363(1496):1453-61.
- Di Leonardo A, Fagnani C, Pulciani S (Ed.). Applicazione dei microarray (2). *Caleidoscopio italiano* 2009;223.
- Gopalakrishnan S, Van Emburgh BO, Robertson KD. DNA methylation in development and human disease. *Mutat Res* 2008;647(1-2):30-8.
- Hadnagy A, Beaulieu R, Balicki D. Histone tail modifications and non canonical functions of histones: perspectives in cancer epigenetics. *Mol Cancer Ther* 2008;7(4):40-8.
- Kanherkar RR, Bhatia-Dey N, Csoka AB. Epigenetics across the human lifespan. *Front Cell Dev Biol* 2014;2:49.
- Kim D, Rossi J. RNAi mechanisms and applications. *Biotechniques* 2008;44(5): 613-6.
- Lander E, *et al.* International human genome sequencing consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human Genome. *Nature* 2004;431:931-45.
- Rivera CM, Ren B. Mapping human epigenomes. *Cell* 2013; 155(1): 39-55.
- Stumpf MP., Thorne T, de Silva, Stewart R, An HJ, Lappe M, Wiuf C. Estimating the size of the human interactome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(19): 6959-64.
- Taherian Fard A, Ragan MA. Quantitative modelling of Waddington epigenetic landscape. *Methods Mol Biol* 2019;1975:157-171.
- Venter JC, Adams MD, Meyers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG *et al.* The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291(5507): 1304-51.

Wang Y, Liang Y, Lu Q. MicroRNA epigenetic alterations: predicting biomarkers and therapeutic targets in human diseases. *Clin Genet* 2008;74(4):307-15.

Weinhold B. Epigenetics: the science of change. *Environ Health Perspect* 2006;114(3):A 160-7.

CAMBIAMENTO CLIMATICO E FATTORI DI RISCHIO OCCUPAZIONALI: ESPOSIZIONE, SUSCETTIBILITÀ INDIVIDUALE E MISURE DI TUTELA

Maria Concetta D'Ovidio, Linda Boccacci, Carlo Grandi
Istituto Nazionale per l'Assicurazione contro gli Infortuni sul Lavoro, Monte Porzio Catone (RM)

Introduzione

Il cambiamento climatico in corso sta avendo e avrà numerosi e sempre più profondi impatti sull'ambiente naturale, le attività economiche, le organizzazioni sociali, i trend demografici e migratori, le infrastrutture e la salute umana. Questi aspetti, unitamente alle possibili strategie a livello nazionale e internazionale di mitigazione del fenomeno e di adattamento alle conseguenze inevitabili (allo scopo di aumentare la resilienza degli individui e delle collettività), sono esaminati e periodicamente aggiornati dall'*Intergovernmental Panel of Climate Change (IPCC)*, il cui ultimo report risale al 2014 (IPCC, 2015). Gli scenari tracciati dipendono dalle ipotesi alternative considerate circa i trend di aumento della temperatura media globale dal presente fino alla fine del 21° secolo.

Le potenziali conseguenze del cambiamento climatico sulla salute umana sono oggetto di una mole crescente di pubblicazioni, in particolare per quanto riguarda la sanità pubblica, mentre l'ambito riguardante la salute e la sicurezza per i lavoratori risulta ad oggi meno studiato. Tuttavia, un numero sempre maggiore di ricerche condotte in molti Paesi, soprattutto quelli a clima caldo, hanno per oggetto l'impatto del cambiamento climatico su aspetti quali la produttività del lavoro, gli infortuni lavoro-correlati e le conseguenze dello stress termico per i lavoratori in relazione a ondate di calore, a eventi meteorologici estremi e, in generale, a condizioni di alte temperature e umidità più frequenti e prolungate (Lucas *et al.*, 2014; Otte im Kamp *et al.*, 2016). Inoltre, le criticità che il cambiamento climatico può comportare per quanto riguarda la valutazione e la gestione della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro hanno iniziato ad essere oggetto di iniziative portate avanti a livello locale o internazionale (Schulte & Chun, 2009; Schulte *et al.*, 2016). Nel nostro Paese alcuni lavori pubblicati di recente in forma semi-monografica costituiscono un primo tentativo di trattare la tematica in modo organico (D'Ovidio *et al.*, 2016). Devono peraltro essere segnalate iniziative su aspetti specifici che intersecano pienamente la tematica dei cambiamenti climatici, quali la guida breve per i lavoratori in relazione a caldo e lavoro disponibile al link del Ministero della Salute (Bonafede *et al.*).

Lavoratori esposti

Le categorie di lavoratori potenziale bersaglio delle conseguenze del cambiamento climatico sono molto numerose. Tuttavia, i lavoratori all'aperto (lavoratori outdoor) sono per loro natura maggiormente esposti alle oscillazioni del clima e ai fattori di rischio lavorativi modificabili dal clima. Non esiste una definizione univoca di lavoratore outdoor, in considerazione delle eterogenee tipologie di attività e della grande variabilità del tempo di lavoro trascorso all'aperto (intera giornata, turno lavorativo, parte del turno, solo occasionale, ecc.). Ciononostante, i

lavoratori che svolgono la propria attività con permanenze più o meno prolungate all'aperto rappresentano nell'insieme una quota significativa dell'intera forza lavoro (in Italia ammontano certamente ad alcuni milioni). Un elenco non esaustivo delle categorie di lavoratori interessate. Da un punto di vista del numero di addetti sono particolarmente rilevanti i settori agricoltura, edilizia, marittimo e manutenzione di infrastrutture all'aperto.

Fattori di rischio potenzialmente modulabili dal cambiamento climatico

Il cambiamento climatico può alterare i pattern di esposizione ambientale a numerosi agenti di rischio di natura fisica, chimica e biologica (D'Ovidio *et al.*, 2016; Bais *et al.*, 2015; Kuehn *et al.*, 2017). Questa azione può combinarsi a quella esercitata dalle oscillazioni temporali a livello locale o globale di altri fattori ambientali, quali l'ozono stratosferico.

L'aspetto di più immediata intuizione riguarda l'ambiente termico outdoor, dove il cambiamento in corso può ad esempio tradursi in un aumento della frequenza, della durata e dell'intensità delle ondate di calore nella stagione estiva. Parallelamente, una maggior frequenza e intensità degli eventi meteorologici estremi e, in generale, una maggior variabilità meteorologica nelle regioni temperate può esporre i lavoratori outdoor alle conseguenze per la salute dovute a piogge intense, tempeste o alluvioni e, in ogni caso, a variazioni rapide e meno prevedibili dei parametri del microclima all'aperto.

Anche l'esposizione alla radiazione solare può essere modificata dal cambiamento climatico, in modo sia diretto che indiretto. Tuttavia l'effetto netto (ossia in termini di esposizione complessivamente aumentata o diminuita) è difficilmente prevedibile, essendo riconducibile non solo a variabili geografiche e meteorologiche, ma anche a fattori culturali e comportamentali (che influenzano ad esempio le tipologie di abbigliamento, l'utilizzo di protettori solari e il tempo trascorso all'aperto durante la giornata). Inoltre, esiste un legame tra cambiamento climatico e dinamiche dell'ozono stratosferico, il cui livello influenza l'ammontare complessivo della radiazione UVB (Ultravioletto B: 280 – 315 nanometri) che raggiunge il suolo.

L'esposizione ad inquinanti atmosferici quali ozono, composti organici volatili e particolato è molto sensibile alle condizioni microclimatiche dell'ambiente e può inoltre essere modulata dalla radiazione solare, soprattutto per quanto riguarda gli inquinanti cosiddetti fotochimici (ozono, aldeidi, derivati degli IPA, ecc.). Anche in questo caso l'effetto complessivo del cambiamento climatico può essere caratterizzato da ampia variabilità locale, traducendosi nell'aumento o nella diminuzione netta dell'esposizione a singole classi di inquinanti troposferici o a singole sostanze. Tra le tipologie di esposizione ad agenti chimici che possono essere alterate dall'azione del clima sono comprese anche quelle a pesticidi utilizzati in ambiente outdoor, di diretto interesse per i lavoratori dell'agricoltura.

L'esposizione ad agenti infettivi, a parassiti e ad allergeni trasmessi per via aerea può modificarsi a seguito del cambiamento climatico. Ad esempio condizioni di clima più caldo e umido si possono tradurre in una crescita più rapida e intensa di agenti patogeni e possono alterare la crescita e la distribuzione geografica dei vettori di malattia. Tuttavia, è anche possibile a seconda dei contesti una più marcata attività battericida e virucida legata ad una quota più elevata di radiazione solare al suolo. I pattern stagionali e geografici di numerosi aeroallergeni (soprattutto se di origine vegetale) possono modificarsi in relazione al clima che cambia, fenomeno che può rendere più frequenti le manifestazioni allergiche nelle popolazioni interessate o esacerbarne i sintomi, coinvolgendo in particolare coloro che svolgono attività lavorative all'aperto.

Lavoratori particolarmente sensibili al rischio

La valutazione e la gestione dei rischi per la salute e la sicurezza deve considerare non solo la generalità dei lavoratori esposti a uno o più fattori di rischio in un determinato contesto lavorativo, ma anche procedere a identificare i sottogruppi di individui potenzialmente più sensibili agli agenti di rischio presenti, che potrebbero necessitare di misure di tutela particolari. Il Decreto Legislativo 81/2008 che, recependo una serie di direttive europee, disciplina in modo globale la salute e la sicurezza dei lavoratori nei luoghi di lavoro, fa infatti continuamente riferimento ai “Lavoratori particolarmente sensibili al rischio” o “Esposti a rischi particolari” sia nelle disposizioni generali sia nelle parti che riguardano i rischi specifici. Questo aspetto assume rilevanza ancora maggiore in relazione all’esposizione occupazionale a fattori di rischio che possono essere modulati dal cambiamento climatico, in particolare se l’effetto netto consiste in un incremento delle esposizioni a rischio in termini di intensità, frequenza e/o durata, soprattutto per i lavoratori outdoor.

In relazione al cambiamento climatico le esigenze di identificare gli individui più sensibili e di definire per loro misure di tutela più stringenti sono state da tempo riconosciute per quanto riguarda la popolazione generale e le raccomandazioni prodotte in ambito di sanità pubblica sono soprattutto rivolte a sottogruppi di popolazione quali anziani, bambini o individui affetti da particolari patologie. Questo approccio “categoriale” agli individui più sensibili al rischio è stato e continua ad essere di grande utilità ai fini preventivi, ma è anche il riflesso di limitazioni di natura conoscitiva. Rispetto alla generalità del gruppo o della popolazione di appartenenza un individuo può risultare più suscettibile all’azione di un determinato fattore di rischio (es. un inquinante presente nell’ambiente di vita o di lavoro) per caratteristiche biologiche, presenza di condizioni patologiche, aspetti legati allo stile di vita (fumo, consumo di alcol, esercizio fisico, alimentazione, ecc.), co-esposizione ad altri fattori di rischio ambientali o lavorativi in grado di ridurre la soglia di effetto del fattore di rischio considerato. In tale ottica, il profilo della sensibilità ad un fattore di rischio nell’ambito di un gruppo o di una popolazione è di natura continua e tende ad assumere un andamento gaussiano, con due code che rappresentano rispettivamente la frazione di individui rispettivamente più “sensibile” e più “resistente” al rischio in questione. Per quanto riguarda i lavoratori, l’individuazione di categorie e individui maggiormente a rischio è, anche per le ragioni esposte, molto complessa. Tuttavia, un profilo generale delle condizioni di maggior sensibilità ai fattori di rischio modulabili dal cambiamento climatico, rilevanti per la generalità dei lavoratori outdoor, è riportato in Allegato al capitolo.

Misure di tutela

La valutazione del rischio, la messa in atto di adeguate misure di tutela, la formazione e l’informazione, la sorveglianza sanitaria sono le principali disposizioni indicate dalla normativa vigente per la riduzione dei rischi per la salute e la sicurezza dei lavoratori sul luogo di lavoro. Come accennato in precedenza, l’individuazione dei lavoratori particolarmente sensibili al rischio è prevista dalla norma. Nel caso dei lavoratori outdoor e in relazione ai fattori di rischio modulabili dal cambiamento climatico le condizioni di maggior sensibilità ai rischi indicati sono, come evincibile dalla Tabella in Allegato al Ccapitolo, in buona parte sovrapponibili a quelle riscontrabili nella popolazione generale. Una differenza importante è dovuta al fatto che sovente i lavoratori presentano pattern di co-esposizione a rischi multipli non presenti o presenti in modo molto più ridotto a livello della popolazione generale. Per molte condizioni è arduo evincere, sulla base dei dati della ricerca epidemiologica o della sperimentazione animale disponibili, di quanto aumenta effettivamente il rischio a parità di esposizione rispetto ad un soggetto di riferimento,

così come è a volte è difficile stabilire la “frequenza” di una certa condizione a livello di una determinata popolazione o di un gruppo di lavoratori. Tuttavia, ai lavoratori individuati come particolarmente sensibili al rischio possono essere applicate misure di prevenzione e protezione aggiuntive, ad esempio una maggior protezione individuale. Particolarmente scrupolosa deve essere l’attività di informazione e formazione. Anche la sorveglianza sanitaria deve essere modulata sulla base della valutazione del rischio individuale, potendo prevedere una maggior frequenza dei controlli (visita medica con periodicità più frequente) o il monitoraggio di un maggior numero di parametri biologici.

Conclusioni

Sulla base di quanto riportato in precedenza è desumibile che il cambiamento climatico rappresenti una nuova sfida per le attività di gestione della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro, soprattutto per alcune categorie di lavoratori. Certamente costituisce una ragione aggiuntiva per ricalibrare la valutazione dei rischi e migliorare le misure di prevenzione e protezione per i lavoratori outdoor, sottolineando l’esigenza di una scrupolosa individuazione di quelli potenzialmente più sensibili al rischio. Costituisce anche l’occasione per rimodulare l’attività di informazione e formazione ai lavoratori, collegandola in misura crescente all’educazione a stili di vita più sani, anche in sintonia con le strategie proposte per migliorare le capacità di adattamento di popolazioni, gruppi e singoli individui agli effetti del cambiamento climatico. L’integrazione di tutti questi aspetti è schematizzata in Figura 1.

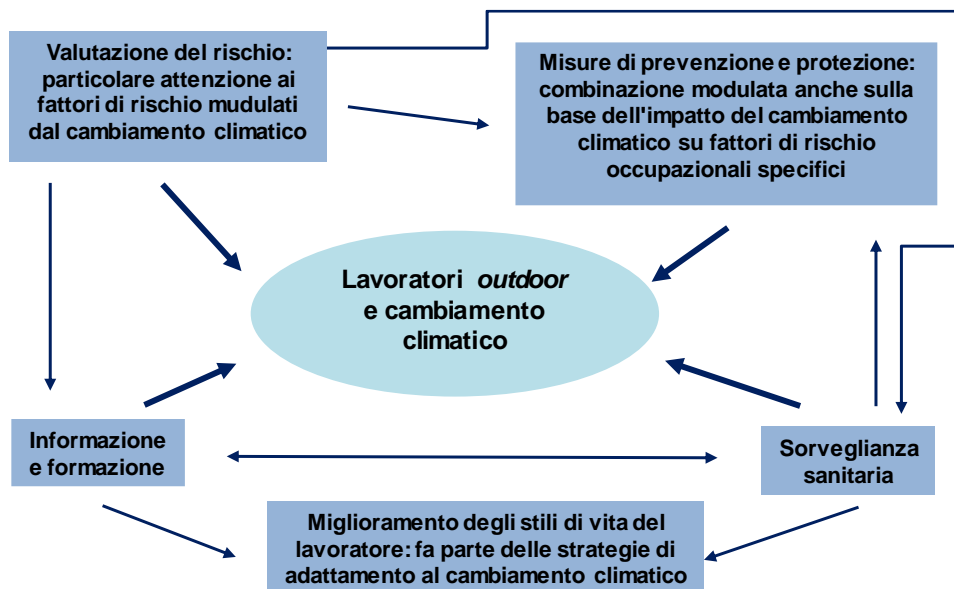


Figura 1. Quadro sinottico dei principali adempimenti per la tutela dei lavoratori, con riferimento ai lavoratori outdoor e anche in relazione al cambiamento climatico e all’educazione a corretti stili di vita

Bibliografia

- Applebaum KM, Graham J, Gray GM, LaPuma P, McCormick SA, Northcross A, Perry MJ. An overview of occupational risks from climate change. *Curr Envir Health Rpt* 2016;3(1):13-22.
- Bais AF, McKenzie RL, Bernhard G, Aucamp PJ, Ilyas M, Madronich S, Tourpali K. Ozone depletion and climate change: impacts on UV radiation. *Photochem Photobiol Sci* 2015;14 (1):19-52.
- Bonafede M, Branchi C, D'Ovidio MC, Marinaccio A, De' Donato F, De Sario M, Michelozzi P, De Martino A. *Estate sicura - caldo e lavoro: guida breve per i lavoratori*. Roma: MIONistero della Salute; 2017. Disponibile al link: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_opuscoliPoster_344_allegato.pdf; ultima consultazione 30/11/18.
- D'Ovidio MC, Grandi C, Marchetti E, Polichetti A, Iavicoli S (Ed.). Climate change and occupational health - Monographic section. *Ann Ist Super Sanità* 2016;52(3):323-423.
- IPCC. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Geneva: Intergovernmental Panel on Climate Change; 2015
- Italia. Decreto Legislativo 9 aprile 2008, n. 81. Attuazione dell'articolo 1 della legge 3 agosto 2007, n. 123, in materia di tutela della salute e della sicurezza nei luoghi di lavoro. *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 101, 30 aprile 2008 - *Suppl. Ordinario* n. 108.
- Kjellstrom T, Briggs D, Freyberg C, Lemke B, Otto M, Hyatt O. Heat, human performance, and occupational health: a key issue for the assessment of global climate change impacts. *Annu Rev Public Health* 2016;37:97-112.
- Kuehn L, McCormick S. Heat exposure and maternal health in the face of climate change. *Environ Res Public Health* 2017;14(853):1-13.
- Lucas RAI, Epstein Y, Kjellstrom T. Excessive occupational heat exposure: a significant ergonomic challenge and health risk for current and future workers. *Extreme Physiol Med* 2014;3(14):1-8.
- Lucas RM, Norval M, Neale RE, Young AR, de Gruijl FR, Takizawa Y, van Der Leun JC. The consequences for human health of stratospheric ozone depletion in association with other environmental factors. *Photochem Photobiol Sci* 2015;14(1):53-87.
- Madronich S, Shao M, Wilson SR, Solomon KR, Longstreth JD, Tang XY. Changes in air quality and tropospheric composition due to depletion of stratospheric ozone and interactions with changing climate: implications for human and environmental health. *Photochem Photobiol Sci* 2015;14 (1):149-69.
- Otte im Kampe E, Kovats S, Hajat S. Impact of high ambient temperature on unintentional injuries in high-income countries: a narrative systematic literature review. *BMJ Open* 2016; 6(2):e010399. doi: 10.1136/bmjopen-2015-010399.
- Schulte PA, Bhattacharya A, Butler CR, Chun HK, Jacklitsch B, Jacobs T, Kiefer M, Lincoln J, Pendergrass S, Shire J, Watson J, Wagner GR. Advancing the framework for considering the effects of climate change on worker safety and health. *J Occup Environ Hyg* 2016;13(11):847-65.
- Schulte PA, Chun HK. Climate change and occupational safety and health: establishing a preliminary framework. *J Occup Environ Hyg* 2009;6(9):542-54.

Allegato al capitolo

Esiti avversi e condizioni di aumentata suscettibilità individuale per fattori di rischio potenzialmente influenzati dal cambiamento climatico (sono anche riportate le co-esposizioni che possono modulare l'azione del singolo fattore/agente di rischio e modificare di conseguenza la suscettibilità individuale)

Esiti avversi per la salute o altri esiti avversi	Principali condizioni di suscettibilità individuale aumentata o potenzialmente aumentata	Alcune co-esposizioni di interesse
Ambienti termici severi		
Colpo di calore, ipotermia locale o generalizzata, esacerbazione di patologie cardio- e cerebrovascolari, respiratorie e dell'apparato osteoarticolare (aumentano mortalità, ospedalizzazione, congedo per malattia, uso di farmaci), danno renale, disturbi pressori, incremento di infortuni al lavoro, aumentato assenteismo, diminuita produttività al lavoro, esacerbazione di conflitti interpersonali, peggioramento di altre condizioni stressanti, esacerbazione di patologie/condizioni psichiatriche	Età (lavoratori anziani), pre-esistenti patologie cardiovascolari e polmonari di gravità medio-elevata, disidratazione, patologie renali, patologie osteoarticolari, condizioni di immunodepressione, disturbi psichiatrici, stato di gravidanza	Utilizzo di farmaci che agiscono a livello dei meccanismi termoregolatori della funzione renale o dello stato mentale (come farmaci antipsicotici, diuretici, FANS in trattamenti prolungati, antistaminici, ecc.), fumo, consumo di alcol
Radiazione solare		
Eritema, soppressione immunitaria, cheratosi attinica, tumore della pelle (melanoma o non melanoma), fotoinvecchiamento, cataratta, <i>pterygium</i> , retinopatia, reazioni fotosintetiche e fotoallergiche	Fenotipo chiaro (I e II), fotodermatosi, lesioni cutanee preneoplastiche (es. cheratosi attinica, nevi displastici, ecc.), depressione immunitaria, precedenti tumori cutanei, grandi cicatrici e ustioni, cheloidi, pre-esistenti <i>drusen</i> nel tessuto retinico/carotideo	Agenti chimici fototossici e fotoallergici (inclusi farmaci), agenti cancerogeni per la salute, (es. IPA e arsenico), alte temperature (potenzialmente amplificanti l'azione cancerogena e catarattogena della radiazione solare), irritanti chimici e sensibilizzanti per la cute e l'occhio, agenti che danneggiano la funzione di barriera della cute (es. detergenti), frequente esposizione ad UV da sorgenti artificiali (es. lettini solari), fumo
Inquinanti chimici		
Irritazione/sensibilizzazione di cute, occhi e tratto respiratorio, patologie polmonari e cardiovascolari, epatopatie, nefropatie, cancro, effetti immunitari, effetti endocrini, neurotossicità, esiti riproduttivi	Età (lavoratori anziani), patologie che alterano la funzione epatica e renale, patologie polmonari ostruttive/restrittive, asma, patologie alteranti la funzione di barriera della cute (che implicano un potenziale maggior assorbimento di agenti chimici capaci di attraversare la cute), pre-esistenti patologie d'organo, polimorfismi, metabolici, alterazione del riparo del DNA, sensibilizzazione a uno o più agenti chimici, stato di gravidanza	Esposizione ad agenti multipli (speciamente quelli che condividono lo stesso organo/i e/o sistema/i bersaglio), radiazione solare e radiazioni UV artificiale da sorgenti artificiali (in relazione a carcinogeni chimici cutanei), agenti immunomodulatori (potenzialmente amplificanti le azioni dei carcinogeni), alte temperature/umidità (o di converso basse temperature/alta umidità), farmaci (in particolare quelli che condividono gli stessi percorsi metabolici e gli stessi percorsi di escrezione degli inquinanti ambientali di interesse), fumo, consumo di alcol

Esiti avversi per la salute o altri esiti avversi	Principali condizioni di suscettibilità individuale aumentata o potenzialmente aumentata	Alcune co-esposizioni di interesse
Agenti infettivi		
Patologie infettive aero-trasmesse e vettore-trasmesse	Età (lavoratori anziani), immunodepressione causata da patologie, farmaci, esposizione ad agenti immunotossici ecc., patologie che colpiscono il tratto respiratorio e cutaneo, stato di gravidanza	Alte o basse temperature, radiazione solare, agenti immunotossici (es. IPA, solventi, alcuni metalli, pesticidi, ecc.), irritanti chimici per la cute, e il tratto respiratorio, agenti che danneggiano la funzione di barriera della cute (es. detergenti), fumo
Allergeni biologici e agenti sensibilizzanti in generale		
Dermatite allergica da contatto, rinite, congiuntivite, asma, reazioni anafilattiche	Stato atopico, sensibilizzazione a uno o più allergeni/sensibilizzanti	Irritanti chimici per cute, occhio e tratto respiratorio, , agenti che danneggiano la funzione di barriera della cute (es. detergenti), fumo

RUOLO DELLA CIRCULAR ECONOMY IN UN'EPOCA DI CAMBIAMENTI AMBIENTALI GLOBALI NELLA SFIDA DELLA GLOBAL HEALTH

Federica Tommasi

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Introduzione

Introdurre un tema così ampio, come quello proposto, implica necessariamente partire con delle mirate definizioni per comprenderne gli elementi salienti.

Ovvero cercheremo di declinare cosa si intenda per *Circular Economy* e per *Global Health* nel contesto dei cambiamenti ambientali e le sfide che questi due elementi, che non possono collidere, ma debbono trovare costantemente uno sforzo sinergico, impongono ad un mondo che cambia velocemente sotto l'effetto di molteplici fattori e pressioni ambientali, climatiche e di sfruttamento insostenibile dei servizi eco sistemici.

La sfida ultima di salvaguardare la salute globale passa per il raggiungimento dell'equilibrio invisibile tra sviluppo sostenibile, ecologia, economia della natura, ovvero l'approccio eco-sistemico funzionale alla salvaguardia dell'ultimo anello, ovvero l'uomo e la sua salute che ormai globalmente viene percepita come non più disgiunta dall'ecosistema in cui esso vive e trova il suo ambiente sociale ed economico.

Sebbene questi siano temi ormai di quotidiana discussione e implementazione sia normativa che di gestione dei cicli economici e di riflesso sulle modalità di fruizione dell'ambiente naturale il tema della Sostenibilità viene da lontano: ovvero dalle prime riunioni di *Think Tank* come il "Club di Roma" (Club of Rome) tenutesi nella seconda metà degli anni Sessanta del secolo scorso. Fondato nel 1968 da intellettuali, economisti, premi Nobel di ogni continente, deve il suo nome al fatto che il primo incontro si realizzò a Roma nella sede dell'Accademia dei Lincei a Villa Farnesina. Nella successiva famosa pubblicazione del 1972, *The limits of growth* (Meadows *et al.*, 1972) gettarono le basi di argomenti sullo sviluppo economico e sostenibile tuttora forieri di frutti e accesa discussione. Vogliamo solo ricordare quanto sostenevano già allora, e che rappresenta il perno di molte scelte e impostazioni regolatorie di cui daremo conto, cioè che se gli attuali trend di crescita della popolazione mondiale, dell'industrializzazione, dell'inquinamento, della produzione di cibo, e dell'esaurimento delle risorse continuerà senza cambiamento alcuno, i limiti della crescita in questo pianeta saranno raggiunti presumibilmente entro i prossimi cento anni.

La sostenibilità dello sviluppo economico e sociale comporta dunque la necessità di coniugare molteplici aspetti, quali: la sfera ambientale/ecosistemica, la sfera economica, la sfera sociale del benessere e della salute umana nella sua più ampia concezione. In questa accezione lo sviluppo sostenibile coincide con una equità globale da svilupparsi nello spazio e nel tempo. Ovvero la sostenibilità dello sviluppo comporta la ricerca di una equità verso le generazioni future (inter-generazionale) oltre che un riequilibrio delle risorse e delle realtà sociali politiche economiche geografiche (intra-generazionale).

Calato nelle politiche nazionali in Italia lo Sviluppo sostenibile è stato di volta in volta implementato con *L'Agenda 21*, nelle Piattaforme Tecnologiche Nazionali ed Europee con l'agenda per la ricerca nella chimica sostenibile o verde, con la sostenibilità nell'Industria ovvero

con la reingegnerizzazione di processi e prodotti con una valutazione sistemica in primo luogo con il *Life Cycle Assessment* (LCA ovvero la valutazione del ciclo di vita dei prodotti) anche commisurato all'impronta ecologica necessaria alla produzione di ciascun bene, ecc.

Secondo la definizione proposta nel rapporto "Our Common Future" (noto come Rapporto Brundtland) pubblicato nel 1987 dalla Commissione mondiale per l'ambiente e lo sviluppo (United Nations, 1987) del Programma delle Nazioni Unite per l'Ambiente, per sviluppo sostenibile si intende uno sviluppo in grado di assicurare il soddisfacimento dei bisogni della generazione presente senza compromettere la possibilità delle generazioni future di realizzare i propri. Il concetto di sostenibilità, in questa accezione, viene collegato alla compatibilità tra sviluppo delle attività economiche e salvaguardia dell'ambiente e per soddisfare la quale il nuovo modello di economia circolare è stato via via raffinato sino ad una formalizzazione concettuale ben definita dalla Unione Europea (UE).

Economia circolare nella Unione Europea

È ormai chiara, già dall'ultimo quarto del ventesimo secolo, la necessità di gestire il consumo delle risorse in modo compatibile con la necessità di fornire beni e servizi in modo armonico e sempre più connesso e globalizzato. Vogliamo rappresentare graficamente il passaggio dalla cosiddetta economia lineare a quella circolare riportando il logo concettuale diffuso già da qualche anno, dal suo battesimo dalla UE (Figura 1).

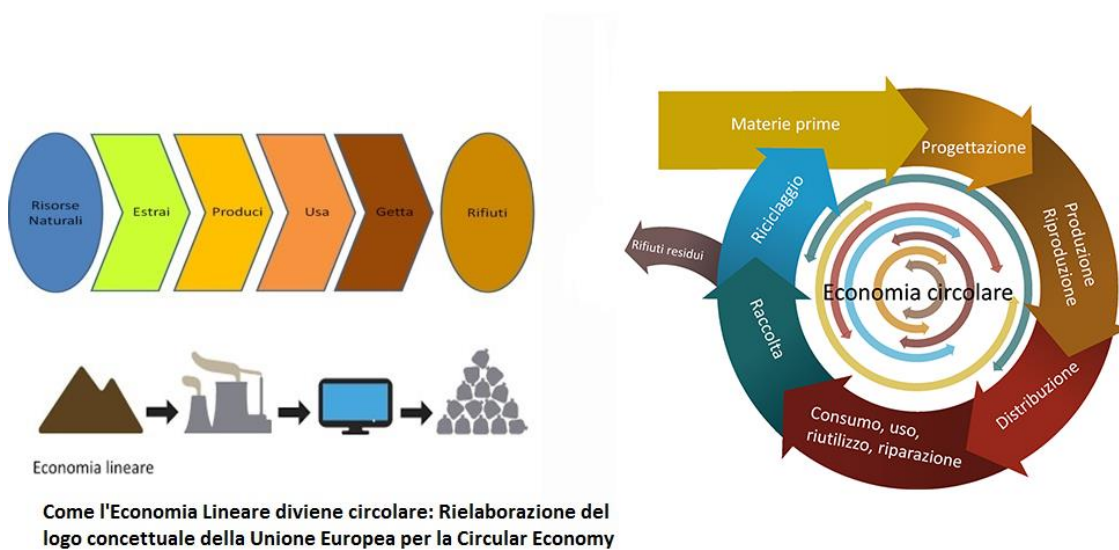


Figura 1. Dall'economia lineare all'economia circolare: rielaborazione del logo concettuale della *Circular Economy* della Unione Europea

Un'altra fondazione, la Ellen MacArthur Foundation, nell'ultimo decennio ha posto le basi con i suoi contributi concettuali al nuovo modello di cui tanto si discute e di cui abbiamo sotto riportato lo schema base che oramai tutti conoscono (infografica disponibile all'indirizzo: <https://www.ellenmacarthurfoundation.org/circular-economy/interactive-diagram>).

L'economia circolare, secondo la definizione originaria che ne ha dato Ellen MacArthur Foundation, iniziale promotore principale della transizione globale verso l'economia circolare, è un'economia pensata per potersi rigenerare da sola. In un'economia circolare i flussi di materiali sono di due tipi: quelli biologici, in grado di essere rigenerati nella biosfera, e quelli tecnici, destinati ad essere rivalorizzati senza entrare nella biosfera (Ellen MacArthur Foundation, 2019).

L'economia circolare è dunque un sistema in cui tutte le attività, a partire dall'estrazione e dalla produzione, sono organizzati in modo che i rifiuti di questi processi diventino risorse per questi stessi processi o per altri snodi di processi produttivi. Si devono infatti superare le difficoltà intrinseche e le limitazioni di una economia lineare che comportano di fatto: perdita di valore di materiali e prodotti; il problema della scarsità delle risorse; problemi di degrado ambientale, ancora più gravi nel complesso panorama dei cambiamenti climatici; volatilità dei prezzi delle risorse anche dovuti alle emergenze ambientali e climatiche; generazione massiccia di rifiuti; instabilità della catena di approvvigionamento delle materie prime.

Nello spirito di gestire questo cambiamento ormai pervasivo dell'economia l'UE, attraverso la Commissione Europea, il 2 dicembre 2015, ha adottato un pacchetto sull'economia circolare, che comprende:

1. Piano di Azione (Comunicazione COM (2015) 614 "Closing the loop - An EU action plan for the Circular Economy"), comprensivo di allegati con una lista di Follow-up e relative iniziative attuative;
2. revisione con le relative proposte legislative per la gestione dei rifiuti, impattando sulle seguenti direttive:
 - Direttiva 2008/98/CE (Direttiva Quadro Rifiuti);
 - Direttiva 94/62/CE (sugli imballaggi e i rifiuti di imballaggio);
 - Direttiva 1999/31/CE (discariche di rifiuti);
 - gruppo di direttive (Direttiva 2003/53/CE sui veicoli fuori uso, Direttiva 2006/66/CE, relativa a pile e accumulatori e ai rifiuti di pile e accumulatori, Direttiva 2012/19/CE sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche).

L'obiettivo è di stimolare la transizione dell'Europa verso un'economia circolare che incrementi la competitività globale, promuova una crescita economica sostenibile e crei nuovi posti di lavoro. Si sono scelte misure relative all'intero *ciclo di vita* di prodotti e dei loro servizi svolti (dalla produzione e il consumo alla gestione dei rifiuti e il mercato delle materie prime secondarie), non più limitate *solo al fine vita*, e che rappresentano misure settoriali con regolamentazione anche della qualità per le *materie prime secondarie*. Tali misure hanno altresì impatti su tutti i nodi della catena di valore del bene, quindi su tutti gli stakeholder interessati: Fornitori delle materie prime, Industria, Consumatori, Riciclatori dei rifiuti e delle materie prime seconde.

Al fine di controllare il processo di attuazione e sviluppo del Piano di Azione sono stati posti degli *Obiettivi delle misure* questo al fine di favorire la transizione verso l'economia circolare, caratterizzata da un utilizzo sempre più sostenibile delle risorse, il rafforzamento della competitività dell'Europa a livello globale, lo stimolo alla crescita economica sostenibile per l'Europa, nonché come detto per favorire la creazione di nuovi posti di lavoro.

Il pacchetto sull'economia circolare pone nuovi ambiziosi traguardi per i Paesi Membri:

- a) aumentare la percentuale di riciclo/riutilizzo dei Rifiuti Solidi Urbani (RSU) al 65% nel 2020;
- b) aumentare il riciclaggio/riutilizzo dei rifiuti da imballaggio al 75% nel 2030, con obiettivi specifici per ogni materiale impostati per crescere gradualmente tra il 2020 e il 2030 (per

raggiungere il 90% per la carta entro il 2025 e del 60% per la plastica, dell'80% per il legno, del 90% per i metalli ferrosi, alluminio e vetro alla fine del 2030);

- c) ridurre al 10% il volume totale dei rifiuti urbani che vengono conferiti in discarica entro il 2030 (ed a zero per i rifiuti raccolti in modo differenziato);

Il Parlamento europeo ha proposto l'innalzamento/variazione di questi obiettivi europei rispettivamente al 70%, 80%, 5%.

Tra i flussi di rifiuti impattati dalle normative in revisione la Commissione ha inoltre individuato questi Settori Prioritari del Piano di Azione che vogliamo ricordare:

- le plastiche,
- i rifiuti alimentari (*food waste*),
- le materie prime essenziali (*critical raw materials*),
- i rifiuti da costruzione e demolizione, l
- e biomasse e i prodotti *bio-based*.

Proveremo a dare, in merito a questi settori, il quadro degli sviluppi attuali e delle loro più rilevanti implicazioni sulla salute, dal momento che, a causa della specificità dei loro prodotti, della catena del valore ad essi correlata nonché vista l'impronta ambientale che li caratterizza, o per il fatto che l'UE è strettamente legata all'approvvigionamento estero per usufruirne, rappresentano elementi cruciali per attuale e spingere verso l'economia circolare senza dimenticare di contemplare in modo armonico la salute globale.

Lo studiare nello specifico gli elementi salienti della catena del valore – o *value chain* – e gestirne gli aspetti di ottimizzazione dei processi di recupero, rivalorizzazione e re-immissione nel mercato – anche con l'ausilio tecnico di documenti di riferimento sulle migliori tecniche disponibili (*Best Available Techniques Reference Documents*, BREF) piuttosto che con quello regolatorio e di supporto con azioni di incentivazione, controllo e verifiche anche sanitarie (ex-ante ed ex-post) – creerà di fatto casi scuola di natura tecnologico/scientifica-normativa-economica (anche sanitaria) al fine gestire i futuri sviluppi dell'economia circolare.

Plastiche

Ogni anno la popolazione europea produce 25 milioni di tonnellate di rifiuti in plastica, ma meno del 30% è raccolta per essere riciclata. Più della metà finisce ancora in discarica, solo una parte residuale viene indirizzata alla termovalorizzazione, mentre il resto (per centinaia di milioni di tonnellate l'anno a livello globale) finisce in mare e nell'ambiente. Nel mondo, le materie plastiche rappresentano l'85% dei rifiuti sulle spiagge. Le materie plastiche raggiungono anche i polmoni e le tavole dei cittadini europei, con la presenza di microplastiche nell'aria, nell'acqua e nel cibo i cui effetti sulla salute umana restano sconosciuti e necessitano di un doveroso approfondimento conoscitivo di caratterizzazione quali-quantitativa, quantificazione dei flussi di provenienza, e ricerca, nel dettaglio, dei singoli contributi negativi alla salute degli ecosistemi e dell'uomo da ultimo. Il grande sforzo della Commissione Europea negli ultimi mesi vede al centro la "questione plastica" con la nuova strategia europea come un modo sistemico, insieme alle altre direttive di affrontare il problema in modo coordinato e con un approccio prospettico. Il 16/01/2018 la Commissione Europea ha adottato: "A European Strategy for Plastics in a Circular Economy". Tale strategia è stata pensata come un impianto programmatico generale al fine di rendere circolare l'economia nello specifico settore delle materie plastiche salvaguardando l'ambiente e gli ecosistemi, e pensando alla sinergica riduzione dell'inquinamento negli habitat impattati.

Rifiuti alimentari

Ogni anno nel mondo circa un terzo delle quantità di massa destinata al consumo umano viene dispersa nella filiera alimentare, e in termini calorici sino ad un quarto del totale (dati della Food and Agriculture Organization-FAO del 2011 su dati elaborati del 2007) (ISPRA, 2017).

Secondo il World Resources Institute a livello geografico, lo spreco nel consumo finale dei paesi sviluppati rappresenta, in termini di energia alimentare, la componente maggiore, essendo il 28% degli sprechi globali. In un sistema alimentare lo spreco è la parte di produzione che eccede i fabbisogni nutrizionali e le capacità ecologiche. Ai fini degli obiettivi dell'Organizzazione delle Nazioni Unite (ONU) per lo Sviluppo sostenibile 2030 sarebbe auspicabile sostenere un approccio di tutela dei sistemi socioecologici congiunti e dunque non solo un uso più efficiente delle risorse (sprechi/perdite dalla produzione al consumo) coniugato con la sicurezza alimentare. Risulta necessario in un'ottica eco sistemica individuare ed efficientare le “non rese” nonché le perdite edibili pre-raccolto, gli usi di prodotti edibili per alimentazione animale e per fini non alimentari, la sovralimentazione umana (che diviene un preminente valore sanitario e di salute globale con un fortissimo impatto sui Servizi Sanitari degli Stati Membri), la perdita qualitativa nutrizionale, gli sprechi di acqua potabile o potabilizzabile.

In questa ottica la Commissione intende da un lato dare corpo ad una metodologia comune per quantificare i rifiuti alimentari dall'altra definirne gli indicatori; essa creerà una piattaforma che funga da punto di incontro degli Stati Membri e degli stakeholder, per sostenere il raggiungimento degli obiettivi di sviluppo sostenibile in materia di rifiuti alimentari attraverso la condivisione delle migliori prassi e tecniche e valutandone i progressi compiuti nel tempo. Vi è inoltre l'obiettivo di adottare misure volte ad uniformare il regolatorio dell'UE inerente i rifiuti, gli alimenti e i mangimi oltretutto facilitare il dono di alimenti e l'uso sicuro di alimenti e sottoprodotti provenienti dalla filiera alimentare nella produzione dei mangimi: tutti aspetti in cui la valutazione sanitaria ed eco sistemica sono focali per la salute dell'uomo ultimo fruitore di questi ambiziosi obiettivi.

Materie prime essenziali

Le materie prime essenziali (*Critical Raw Materials* secondo l'UE) sono rappresentate in principal modo da tutti quei metalli, estratti in Paesi esteri che alimentano soprattutto il mondo dell'energia dello *storage* di potenza e di tutti i dispositivi elettronici da essi dipendenti. La loro estrazione, approvvigionamento, e trasporto è causa di notevolissimi impatti ambientali e fonte di diseguità sociali nei paesi di produzione, nonché soggetta a rischi di interruzioni dovuti ai più svariati motivi socio-politici. Il loro recupero, che attualmente nella UE è bassissimo è una perdita altissima in termini sia ambientali che economici. Anche la gestione e sviluppo di questa filiera sarà oggetto di un dedicato piano di azione.

Costruzione e demolizione

è questo uno dei settori il quale genera tra i maggiori quantitativi in peso di rifiuti nella UE. La Commissione vuole intraprendere una serie di azioni volte al recupero delle risorse ancora costituenti un valore, affiancandole a delle *best practices* nelle modalità di gestire la pre-demolizione in modo da riuscire ad incrementare il recupero dei flussi di materia e dunque il riciclaggio.

Biomasse e prodotti “bio-based”

Rispetto a tutti i prodotti, miscele e sostanze che si originano dalla filiera fossile (a partire dalla petrolchimica di base) i biomateriali, le biomasse e i prodotti “bio-based” (secondo l’UE) rappresentano un’alternativa che è sia rinnovabile (nell’ottica di una sempre maggiore sostenibilità dei flussi materiali), che biodegradabile e compostabile (ai fini della sostenibilità globale in tanti settori: agricolo, alimentare, energia, ecc.). Per tali fini la Commissione intende promuovere un uso efficiente di tali flussi materiali mediante una serie di misure come:

- a) la pubblicazione di orientamenti e la diffusione delle Best Practices sull’uso a cascata della biomassa, nonché sostenere l’innovazione nel campo della bio-economia;
- b) facilitare il riutilizzo dell’acqua, tra cui una proposta legislativa sui requisiti minimi relativi alle acque riutilizzate, ad esempio per l’irrigazione e il ravvenamento delle acque sotterranee;
- c) presentare una revisione del Regolamento UE sui concimi, in modo da agevolare il riconoscimento dei concimi organici ricavati dai rifiuti nel mercato unico e sostenere così il ruolo dei bio-nutrienti nell’economia circolare.

Nell’ottica dell’economia circolare tutta questa serie di iniziative troverà in pratica una promozione dell’innovazione con l’utilizzo di investimenti pubblici e privati atti a finanziare la relativa ricerca; in tal senso infatti deve essere letta la dotazione di fondi pari a 650 milioni di euro dentro Horizon 2020 per sostenere la ricerca ad essa dedicata, nonché i 5,5 miliardi di euro per aiutare le Piccole e Medie Imprese (PMI) a trarre vantaggio da questa opportunità con i Fondi Strutturali.

Dalla fine del 2015 in poi le varie azioni in agenda nell’*Action Plan* (Commissione Europea, 2015) e intraprese dalla UE hanno trovato nel panorama normativo italiano i seguenti dispositivi regolatori che implementano l’economia circolare e che, tra i più importanti, vogliamo qui ricordare:

- “Collegato Ambientale” alla Legge di Stabilità del 2015 “Disposizioni in materia ambientale per promuovere misure di green economy e per il contenimento dell’uso eccessivo di risorse naturali” (Legge 221/2015);
- nuovo “Codice dei Contratti Pubblici” (DL.vo 50/2016);
- attribuzione all’Autorità per l’Energia Elettrica il Gas e il sistema Idrico (AEEG) di funzioni di regolazione e di controllo anche in relazione al settore del ciclo dei rifiuti urbani e assimilati nel corso del 2016; questa Autorità è infatti divenuta dal dicembre 2017 l’Autorità di Regolazione per l’Energia, le Reti e l’Ambiente (ARERA);
- Legge 166/2016 “Disposizioni concernenti la donazione e la distribuzione di prodotti alimentari e farmaceutici a fini di solidarietà sociale e per la limitazione degli sprechi”.

Questi interventi normativi hanno, ad esempio, innescato vari meccanismi a cascata nelle varie declinazioni dell’implementazione dell’economia circolare:

- a) Il Nuovo Codice degli Appalti, recependo le misure contenute nel Collegato Ambientale in materia di *Green Public Procurement* (GPP) interviene sul settore anche degli appalti pubblici e della Pubblica Amministrazione, rendendo obbligatori l’inserimento dei Criteri Ambientali Minimi (CAM) nel documento di Capitolato Speciale d’Appalto (CSA) della gara in appalto, favorendo così il rafforzamento del mercato interno di prodotti riciclati secondo criteri regolamentati e condivisi prodotti dal Ministero dell’Ambiente.
- b) La Legge 166/2016 sugli sprechi alimentari regolamentando un punto di attività che coinvolge molte associazioni No-Profit – che agiscono nel volontariato e avevano innestato virtuosi sistemi di raccolta che andavano regolamentati – innesta meccanismi virtuosi sia di gestione che di controllo/rendicontazione sullo spreco di cibo nonché la sua prevenzione con il relativo e desiderato abbattimento in termini quantitativi.

Conclusioni

Al termine di questa carrellata di impegni che coinvolgono attivamente il ruolo di regolazione e controllo degli Stati membri, in termini economici, sociali, ambientali e sulla salute, si evince l'importanza di seguire da vicino, da parte degli Enti di Ricerca e controllo, e di avere ruolo attivo e sinergico nelle strategie che si stanno dispiegando dal momento che non c'è Sviluppo Sostenibile senza il rispetto dell'obiettivo più importante di tutti i possibili goal intermedi e/finali: la *salute dell'uomo* che proprio per l'Istituto Superiore di Sanità rappresenta la *mission* primaria.

La salute dell'uomo è infatti imprescindibile dalla tutela dell'ambiente, degli ecosistemi, declinata in tutti i termini della sostenibilità: salvaguardando i costi della spesa sanitaria, le criticità nel rapporto tra processi economici e salute globale, sino alle ricadute sulla salute dei lavoratori nei nuovi processi industriali. Lo snodo principale di quanto illustrato, il contenuto invisibile da salvaguardare – la chiave di volta per ogni declinazione della sostenibilità ambientale ed economica – passa per la *global health* ovvero la salute globale: nodo cruciale e prospettiva unica e basilare per l'uomo, pensato attore rispettoso della sua dimensione ecosistemica.

Bibliografia

- Europa. Commissione Europea. Comunicazione della Commissione al Parlamento europeo, al Consiglio, al Comitato economico e sociale europeo e al Comitato delle regioni “*L’anello mancante – Piano d’azione dell’Unione europea per l’economia circolare*”. Brussels: Commissione Europea; 2015. COM(2015) 614 final.
- Europa. Parlamento e Consiglio Europeo. Comunicazione della Commissione al Parlamento europeo, al Consiglio, al Comitato economico e sociale europeo e al Comitato delle regioni “*Strategia europea per la plastica nell’economia circolare*”. Strasburgo: Commissione Europea; 2018. (COM(2018) 28 final).
- ISPRA. *Il Life Cycle Assessment*. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale. Disponibile all’indirizzo: <http://www.isprambiente.gov.it/it/certificazioni/ipp/lca>; ultima consultazione 21/06/2019.
- ISPRA. *Spreco alimentare: un approccio sistemico per la prevenzione e la riduzione strutturali*. Roma: Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale; 2017. (Rapporto 267/2017).
- Italia. Legge 19 agosto 2016, n. 166. Disposizioni concernenti la donazione e la distribuzione di prodotti alimentari e farmaceutici a fini di solidarietà sociale e per la limitazione degli sprechi. *Gazzetta Ufficiale Serie Generale* n. 202, 30 agosto 2016.
- Meadows DH, Meadows DL, Randers J, Behrens III WW. *The limits to growth. A Report for the CLUB OF ROMES’S Project on the Predicament of Mankind*. New York; Universe Books; 1972. Disponibile all’indirizzo: <http://www.donellameadows.org/wp-content/userfiles/Limits-to-Growth-digital-scan-version.pdf>; ultima consultazione 21/06/2019.
- United Nations. *Our Common Future. Report of the World Commission on Environment and Development*. New York: United Nations; 1987.

SOTTOPRODOTTI DI ORIGINE ANIMALE: DA SCARTO DELLA FILIERA ALIMENTARE A MODELLO DI ECONOMIA CIRCOLARE

Tiziana Serraino (a), Pierluigi Piras (b)

(a) *Igiene e sicurezza dei sottoprodotti di origine animale, Ministero della Salute, Roma*

(b) *Assessorato dell'Igiene e Sanità e dell'assistenza sociale, Regione Autonoma della Sardegna, Cagliari*

Introduzione

La filiera produttiva degli alimenti di origine animale genera un ingente quantitativo di “scarti non utilizzabili (o non utilizzati) per l'alimentazione umana”, giuridicamente definiti con il termine di “sottoprodotti” (Regolamento (CE) 1069/2009) che, nella sola Italia, ammonta ad un quantitativo di circa otto milioni di tonnellate annue (dati Piano Nazionale Integrato 2015-2019), senza considerare, nel conto, le tonnellate di deiezioni generate dagli animali d'allevamento, che si annoverano tra i principali prodotti secondari dell'attività zootecnica. Anche nella fase successiva alla produzione primaria, ad esempio nella filiera della carne, durante l'attività di macellazione, si ottiene un grande quantitativo di scarti, rappresentati da ossa, tendini, pelle, zampe e organi interni, che insieme rappresentano più del 50% del peso vivo dell'animale. Se pensiamo che le attuali disposizioni in materia sanitaria stabiliscono che un alimento può essere tolto dal circuito del consumo umano e diventare quindi un “sottoprodotto”, non solo per ragioni sanitarie (prodotti scaduti, contaminati, ecc.) ma anche per motivi commerciali (assenza di domanda da parte dell'utenza, difetti di confezionamento, ecc.) è facile intuire come l'ammontare degli scarti organici possa raggiungere valori tali da rappresentare un rischio per la salute e per l'ambiente per via della loro caratteristiche di putrescibilità e irrancidimento, di cattivo odore, attrattiva per insetti e roditori e per l'emissione di gas ad effetto serra.

In base al livello di pericolosità per la comunità umana e animale i sottoprodotti sono classificati in tre diverse categorie di rischio, che ne condizionano le successive possibilità di smaltimento come rifiuto, ai sensi del DL.vo 152/2006, o di riutilizzo come sottoprodotto:

- *Categoria 1*
 - Corpi o parti di animali affetti da encefalopatia spongiforme trasmissibile (*Transmissible Spongiform Encephalopathy*, TSE) o abbattuti per eradicare le TSE
 - Corpi o parti di animali da compagnia, da zoo, da circo
 - Corpi o parti di Animali usati in sperimentazione
 - Miscele di materiali di categoria 1 con categoria 2 e/o 3
 - Corpi o parti di Animali selvatici affetti da malattie infettive
 - Materiale specifico a rischio o corpi di animali contenenti MSR
 - Sottoprodotti ottenuti nell'ambito del trattamento delle acque reflue di stabilimenti di trasformazione di categoria 1 e macelli dove si rimuove MSR
 - animali sottoposti a trattamenti illeciti con sostanze anabolizzanti o non autorizzate o contaminati con organoclorurati, organofosforati, micotossine, piombo e altri elementi chimici che superano i livelli consentiti dalla normativa
 - Rifiuti alimentari provenienti da mezzi di trasporto che effettuano tragitti internazionali

- *Categoria 2*
 - Letame e contenuto del tubo digerente
 - Corpi o parti di animali morti per motivi diversi dalla macellazione
 - Prodotti che contengono livelli di farmaci o inquinanti ambientali superiori a quelli consentiti
 - Prodotti alimentari che contengono corpi estranei
 - Feti, pollame morto in uovo, ovociti, embrioni, sperma
 - Prodotti importati che non rispettano la legislazione veterinaria dell'UE e prodotti inviati verso altro Stato UE che non rispettano le condizioni stabilite dalla normativa UE
 - Sottoprodotti ottenuti nell'ambito del trattamento delle acque reflue di stabilimenti di trasformazione di categoria 2 e macelli dove non si rimuove MSR
 - Miscele di categoria 2 e 3
 - Sottoprodotti che non sono di categoria 1 e 3

- *Categoria 3*
 - Corpi o parti di animali macellati non destinati al consumo umano per motivi commerciali
 - Carcasse di animali che non hanno superato l'esame PM al macello per motivi non legati alla presenza di malattie infettive
 - Pelli, setole, piume, teste di pollame ottenute al macello; pesci e loro parti non affetti da malattie infettive e sottoprodotti di animali acquatici provenienti dagli stabilimenti che producono alimenti
 - Sangue ottenuto al macello; uova, sottoprodotti delle uova (gusci, albume, tuorlo), sottoprodotti dei centri di incubazione e pulcini di 1 gg abbattuti per motivi commerciali
 - Pelli, zoccoli, lana, piume, corna, peli, pellicce di animali morti per motivi diversi dalla macellazione; sangue, placenta, lana, piume, peli, corna, frammenti di zoccoli di animali vivi che non presentano sintomi di malattie infettive
 - Prodotti di origine animale (es. latte) o prodotti alimentari contenenti prodotti di origine animale (es. paste ripiene) non destinate al consumo umano per motivi commerciali
 - Sottoprodotti ottenuti come residuo della fabbricazione di alimenti per uso umano (ciccioli, ossa sgrassate, fanghi di centrifuga o separazione del latte)
 - Alimenti per animali da reddito o da compagnia non più destinati a tale utilizzo per motivi commerciali
 - Rifiuti di cucina e ristorazione, inclusi gli oli di cucina usati

Le condizioni di utilizzo o di smaltimento dei Sottoprodotti di Origine Animale (SOA) è spesso soggetto all'opinione scientifica dell'EFSA (*European Food Safety Authority*) in quanto trattasi di materiale suscettibile a diverse variabili legate al contenuto d'acqua, di grasso o alla presenza di patogeni o di contaminanti.

Fino alla metà del secolo scorso i sistemi di smaltimento naturali erano in grado di far fronte alla degradazione dei SOA, attraverso diversi meccanismi di pulizia biologici, senza provocare danni, soprattutto per l'ambiente. Tuttavia, dal dopoguerra, con l'aumento della produzione zootecnica, è andato incrementandosi il quantitativo dei prodotti organici di scarto, che hanno portato a sovraccaricare quei meccanismi biologici naturali conducendo agli attuali problemi di inquinamento, dovuti, in particolare, alla produzione di anidride carbonica e di metano, due gas responsabili dell'effetto serra.

Rispetto a queste problematiche, il recente sviluppo di nuove tecnologie e i rispettivi adeguamenti normativi consentono, oggi, di utilizzare la gran parte di questi sottoprodotti, sottraendoli al ruolo di rifiuto nell'impattante circuito dello smaltimento (discarica e inceneritore)

con la possibilità d'impiegarli in molti settori produttivi al posto dei carburanti fossili, in particolare quello energetico, come il biodiesel, il biogas o la combustione in motore endotermico, per i trasporti e per la produzione di energia elettrica e termica, o ancora nell'applicazione della dechlorurazione riduttiva, un particolare intervento di bonifica delle acque sotterranee contaminate da alogenuri organici. Tutti utilizzi a vantaggio dell'ambiente e degli organismi che lo popolano.

SOA quale materia prima per il settore delle bioenergie

Il nuovo piano strategico nazionale (DM 10 novembre 2017) si pone l'obiettivo, per i prossimi dieci anni, di incrementare l'utilizzo delle fonti energetiche rinnovabili, con una quota di rinnovabili sul consumo di energia elettrica del 55%, sugli usi termici del 30% e sui trasporti del 21%. In tal senso il settore zootecnico e agroindustriale, producendo ingenti quantità di biomasse, utilizzabili come fonti energetiche, può contribuire al raggiungimento di questo traguardo che mira alla riduzione delle emissioni maggiormente responsabili dell'effetto serra in ottemperanza con il Protocollo di Kyoto.

Il letame, in particolare, è il principale SOA che si ottiene dagli insediamenti zootecnici ed è anche uno dei principali responsabili delle problematiche ambientali, dato che le aziende agricole non sempre dispongono di terreni in quantità idonea a garantire una corretta utilizzazione agronomica delle deiezioni zootecniche (secondo il DM 25 febbraio 2016), provocando ripercussioni negative sulla qualità delle acque sotterranee e superficiali. In merito a questa problematica, la realizzazione di complessi impiantistici di digestione anaerobica (biogas) o di cogenerazione, di natura aziendale e interaziendale, ove confluiscono gli effluenti zootecnici provenienti da allevamenti di bovini, suini e avicoli, consente di ridurre lo spandimento sul suolo e la conseguente contaminazione delle acque superficiali e profonde con nitrati di origine agricola.

L'impianto di biogas, in particolare, è un sistema atto a ridurre di volume e a stabilizzare la sostanza organica di origine animale, producendo una miscela di gas composti principalmente da metano (50-70%) e da anidride carbonica e da altri gas in minore percentuale (idrogeno, azoto, monossido di carbonio), e dove le reazioni chimiche avvengono in un ambiente chiuso in modo che i gas non vengono rilasciati in atmosfera, ma sono recuperati per produrre energia. Oltre alla produzione di energia, l'impianto di biogas produce un sottoprodotto chiamato digestato (prodotto dalla digestione anaerobica dei fanghi), il quale possiede proprietà simili ad un fertilizzante organico. In Unione Europea il biogas viene utilizzato per la produzione di energia elettrica (67%), energia termica (27%) e biometano (11%). L'Italia, insieme alla Germania e al Regno Unito, produce più del 77% del biogas generato dai 27 Paesi dell'Unione Europea.

Dai dati 2010 del Centro Ricerche Produzioni Animali (CRPA) sappiamo che in Italia un terzo degli impianti di biogas lavora esclusivamente con le deiezioni zootecniche (letame), mentre la maggioranza utilizza, invece, le deiezioni in miscela con altri sottoprodotti animali (soprattutto siero di latte) e vegetali provenienti dall'industria agroalimentare, con l'aggiunta di colture vegetali energetiche per aumentarne l'efficienza. L'utilizzo del letame in impianti aziendali (annessi all'allevamento) o da parte di imprese agricole associate e/o consorziate, ovvero oggetto di apposito contratto di distretto/filiera di durata minima decennale, rappresenta un vantaggio per l'utilizzo di materia prima a km zero o quasi (cosiddetta filiera corta). A titolo di esempio la digestione di circa quattro quintali e mezzo di letame bovino producono mediamente 26,9 mc di biogas con una media del 61% di metano e un'energia equivalente di 164,5 kWh. A parte le deiezioni zootecniche e il siero, il resto dei sottoprodotti viene poco o nulla utilizzato negli impianti di biogas ma viene piuttosto destinato ad altri riusi industriali, come quello dell'alimentazione degli animali da compagnia, il farmaceutico o dei fertilizzanti organici. I

sottoprodotti aventi un livello di rischio elevato quali quelli provenienti da ruminanti morti o abbattuti per encefalopatia spongiforme, animali sottoposti a trattamenti illeciti con sostanze anabolizzanti o non autorizzate o contaminati con organoclorurati, organofosforati, micotossine, piombo e altri elementi chimici, rifiuti provenienti da mezzi di trasporto internazionali non possono essere utilizzati direttamente come biomassa per gli impianti di biogas. Essi devono prima essere convertiti in farine e grassi in un impianto di trasformazione. Dall'attività di raffinazione e purificazione del metano, prodotto nell'impianto di biogas, si ottiene il biometano, anche se tale pratica industriale non si è ancora consolidata nell'Unione Europea. Il biogas dopo purificazione a biometano può essere immesso direttamente nella rete del gas naturale o essere usato come biocarburante per il trasporto. L'uso del biometano come biocarburante è in grado di ridurre le emissioni (antropogeniche) di gas ad effetto serra.

A seguito dello sviluppo e alla validazione di una nuova tecnologia in grado di utilizzare il letame avicolo (pollina) come combustibile, senza effetti negativi per l'ambiente e per la salute, la Commissione europea ha emesso il Regolamento (UE) 592/2014, che ha aperto la possibilità di utilizzare questo sottoprodotto per la produzione di energia elettrica in assetto cogenerativo, in impianti di combustione aziendali con potenza termica totale non superiore a 5 MW. In Italia, nelle Regioni del nord-est, a più alta vocazione avicola sono già attive alcune strutture di combustione annesse ad impianti di macellazione o ad allevamenti avicoli. Ciò permette di valorizzare i materiali costituiti dai sottoprodotti ottenuti dal ciclo produttivo aziendale cogliendo l'opportunità di ottimizzare i bilanci energetici dell'attività produttiva, utilizzando biomassa proveniente dai reparti di produzione, quindi a km zero. Con il Regolamento (UE) 2017/1261 tale possibilità di utilizzo è stata estesa anche al letame delle altre specie zootecniche in impianti aventi potenza termica nominale non superiore a 50 MW. Dalla combustione della pollina si produce come residuo alcune centinaia di tonnellate di ceneri, a cui vanno sommati gli additivi utilizzati per l'abbattimento dei fumi (qualche decina di tonnellate). Questi residui della combustione sono una fonte importante di minerali che possono essere raccolti per la produzione di fertilizzanti minerali per l'utilizzo in cementifici o come integrazioni nella produzione di laterizi. Il calore prodotto in eccesso può essere utilizzato per produrre energia rinnovabile da utilizzare in azienda o da esportare in rete.

La parte grassa dei sottoprodotti di origine animale può essere invece utilizzata come materia prima nel processo di produzione del biodiesel, un combustibile biodegradabile, non tossico e con un favorevole profilo per quanto riguarda le emissioni, nonché come biocombustibile nei motori fissi a combustione interna. Trattandosi di "fonti rinnovabili", garantiscono un bilancio di emissione di gas serra pari a zero. Il Regolamento (UE) 142/2011 stabilisce le condizioni sanitarie di utilizzo dei grassi animali nell'ambito di questi processi tecnologici; per questi fini si utilizza la parte grassa (grassi fusi), separata dalle proteine (farine), derivata dai SOA di qualsiasi categoria di rischio, inclusi l'olio di pesce o il grasso fuso proveniente dalle industrie alimentari. I sottoprodotti costituiti prevalentemente da grassi di origine animale sono stati solo recentemente inseriti nella parte quinta del DL.vo 152/2006 (allegato X, parte II, sezione 4, paragrafo, 1) dalla Sentenza del Consiglio di Stato n. 67/2016. L'impianto di cogenerazione può essere avviato direttamente con la biomassa grassa, nebulizzata nella camera di scoppio del motore, in assenza di gasolio o di altro tipo di combustibile. La combustione della camera di scoppio alimenta l'alternatore che produce energia elettrica mentre il sistema di raffreddamento del motore e dei fumi permette il recupero di energia termica.

SOA quale materia prima per decontaminare ambienti inquinati

Dall'attività dell'industria casearia si ottiene quale prodotto secondario il siero. Esso, oltre ad essere già valorizzato, come sottoprodotto, per l'alimentazione zootecnica e, come già visto, per il biogas, rappresenta anche un ottimo substrato organico per l'attività di "declorurazione", ovvero per la bonifica delle acque di falde contaminate da solventi clorurati. L'impiego della tecnologia della declorurazione riduttiva, utilizzata già a partire dalla metà degli anni '90 del secolo scorso, prevede la creazione di condizioni fortemente riducenti nelle acque di falda, mediante la iniezione di un substrato organico quale il siero di latte, altamente biodegradabile e solubile, che stimola il consumo di ossigeno e di tutti gli altri accettori di elettroni, da parte delle comunità batteriche anaerobie naturalmente presenti nel sottosuolo (*Dehalococcoides*) fino a creare condizioni metanogeniche. Questi batteri sono infatti capaci di innescare una catena di reazioni riduttive di declorurazione che porta alla degradazione di composti tossici, quali il tetracloroetilene, fino alla formazione di composti non nocivi (etilene).

Conclusioni

Senza la tecnologia, i sottoprodotti di origine animale resterebbero un scarto organico della filiera alimentare in gran parte inutilizzato e il loro potenziale andrebbe disperso nell'ambiente. Il metano che si produce dalla degradazione dei materiali organici accumulati nelle discariche verrebbe rilasciato in atmosfera andando ad incrementare il fenomeno del riscaldamento globale visto che questo gas ha un effetto serra 25 volte superiore a quello dell'anidride carbonica. L'impianto di biogas alimentato con sottoprodotti animali, in particolare quelli di categoria 2, come il letame, che non sono utilizzati in altri cicli industriali, fatto salvo il settore dei fertilizzanti organici, permette di catturare il metano evitando il rilascio in atmosfera. Inoltre consente alle aziende zootecniche di gestire il surplus di azoto soprattutto in quelle zone il cui carico di azoto è sensibilmente più alto rispetto alle normative in materia di gestione degli effluenti (Zone vulnerabili da Nitrati di origine zootecnica). Attraverso la combustione è possibile utilizzare il valore energetico dei sottoprodotti di origine animale. Ed è soprattutto in questo settore che tecnologia e normativa sanitaria e ambientale stanno andando di pari passo.

Bibliografia

- Europa. Regolamento (CE) n. 1069/2009 recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano e che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui sottoprodotti di origine animale). *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L-300, 14 novembre 2009.
- Europa. Regolamento (UE) n. 142/2011 recante disposizioni di applicazione del regolamento (CE) n. 1069/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano, e della direttiva 97/78/CE del Consiglio per quanto riguarda taluni campioni e articoli non sottoposti a controlli veterinari alla frontiera. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* n. L-5, 26 febbraio 2011.
- European Commission. *Optimal use of biogas from waste streams. An assessment of the potential of biogas from digestion in the EU beyond 2020. December 2016*. Brussels: European Commission;

2017. Disponibile all'indirizzo: https://ec.europa.eu/energy/sites/ener/files/documents/ce_delft_3g84_biogas_beyond_2020_final_report.pdf; ultima consultazione 27/05/2019.
- Fabbri C, Piccinini S. *Bovini da latte e biogas. Linee guida per la costruzione e la gestione di impianti*. Reggio Emilia: Centro Ricerche Produzioni Animali SpA; 2012.
- Italia. Decreto legislativo 3 aprile 2006, n. 152. Norme in materia ambientale. *Gazzetta Ufficiale* n. 88, 14 aprile 2006.
- Italia. Decreto ministeriale 10 novembre 2017. Adozione della Strategia energetica nazionale 2017. *Gazzetta Ufficiale* n. 288, 11 dicembre 2017.
- Italia. Decreto ministeriale 25 febbraio 2016. Criteri e norme tecniche generali per la disciplina regionale dell'utilizzazione agronomica degli effluenti di allevamento e delle acque reflue, nonché per la produzione e l'utilizzazione agronomica del digestato. *Gazzetta Ufficiale Supplemento Ordinario* n. 90, 18 aprile 2016.
- Johnson FX. Biofuels, bioenergy and the bioeconomy in North and South. *Ind Biotechnol (New Rochelle N Y)* 2017;13(6):289-91.
- Lee PK, Warnecke F, Brodie EL, Macbeth TW, Conrad ME, Andersen GL, Alvarez-Cohen L. Phylogenetic microarray analysis of a microbial community performing reductive dechlorination at a TCE-contaminated site. *Environ Sci Technol* 2012;46(2):1044-54.
- Ministero della Salute. *Piano Nazionale Integrato 2015-2019*. Roma: Ministero della Salute; 2015. Disponibile all'indirizzo: <http://www.salute.gov.it/pianoNazionaleIntegrato2015/homePianoNazionaleIntegrato2015.jsp>; ultima consultazione 30/11/18.
- Nasir M, Ghazi M, Omar R. Production of biogas from solid organic wastes through anaerobic digestion: a review. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012;95(2):321-9.
- Němeček J, Steinová J, Špánek R, Pluhař T, Pokorný P, Najmanová P, Knytl V, Černík M. Thermally enhanced in situ bioremediation of groundwater contaminated with chlorinated solvents - A field test. *Sci Total Environ* 2018:743-55.
- Tilche A, Galatola M. The potential of bio-methane as bio-fuel/bio-energy for reducing greenhouse gas emissions: a qualitative assessment for Europe in a life cycle perspective. *Water Sci Technol* 2008;57(11):1683-92.
- Toldrá F, Mora L, Reig M. New insights into meat by-product utilization. *Meat Sci* 2016;120:54-9.

CONSIDERAZIONI FINALI

Fabrizio Volpi, Elisabetta Volpi, Simona Gaudi, Mario Figliomeni, Laura Mancini
Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I temi affrontati in questo rapporto hanno evidenziato come solo attraverso nuove e innovative soluzioni si possano trattare tematiche urgenti ed emergenti per gli aspetti complessi come i cambiamenti ambientali globali che richiedono approcci multidisciplinari e a diverse scale territoriali e temporali.

La messa in atto di misure innovative per affrontare e contrastare gli effetti negativi dell'impatto antropico sulla salute dell'uomo e dell'ecosistema, sono una assoluta priorità per la prevenzione della salute. La tematica trattata è in continua evoluzione e sviluppo e richiede un aggiornamento in tempi rapidi, e da questo nasce la necessità di programmare azioni di formazione continue e aggiornate. Le tematiche affrontate spaziano dai potenziali rischi di sicurezza ambientale globale alle patologie correlate, in relazione ai cambiamenti ambientali e in particolare come effetto dei cambiamenti climatici. I temi sono affrontati con un'ottica interdisciplinare e con una stretta correlazione tra ambiente e salute. L'interdisciplinarietà è sicuramente l'aspetto imprescindibile.

Il rapporto evidenzia come gli ecosistemi possono essere considerati uno strumento diagnostico, preventivo e predittivo per la salute ambientale e la salute dell'uomo al fine di contrastare i cambiamenti ambientali globali.

Allo stesso tempo, la protezione e il ripristino degli ecosistemi può aiutare a mitigare la sesta estinzione di massa, migliorando nel contempo la capacità di resilienza delle popolazioni locali contro il disastro climatico. La difesa del mondo vivente e la difesa del clima sono, in molti casi, la stessa cosa. Questo approccio non deve essere utilizzato come sostituto delle politiche per la decarbonizzazione.

L'Assemblea Generale delle Nazioni Unite ha dichiarato il 2021-2030 la Decade delle Nazioni Unite sul ripristino degli ecosistemi di concerto con la *Food and Agriculture Organization* (FAO). Il ripristino potrebbe rimuovere fino a 26 gigatoni di gas serra dall'atmosfera. Così riporta sul suo sito (<http://www.fao.org/news/story/it/item/1183525/icode/>):

“1 marzo 2019 - Il decennio delle Nazioni Unite per il ripristino degli ecosistemi, dichiarato oggi dall'Assemblea generale delle Nazioni Unite, mira a potenziare in modo massiccio il ripristino degli ecosistemi degradati e distrutti come misura provata per combattere la crisi climatica e migliorare la sicurezza alimentare, la qualità-quantità dell'acqua e la biodiversità. Il degrado degli ecosistemi terrestri e marini mina il benessere di 3,2 miliardi di persone e costa circa il 10 per cento del prodotto lordo globale annuo in termini di perdita di servizi per specie ed ecosistemi. Gli ecosistemi chiave che forniscono numerosi servizi essenziali per l'alimentazione e l'agricoltura, compresa la fornitura di acqua dolce, la protezione dai rischi e la fornitura di habitat per specie come pesci e impollinatori, stanno diminuendo rapidamente”.

Di fronte a questo appello il contributo dell'unità Ecosistemi e Salute rafforzerà la condivisione e la multidisciplinarietà degli approcci tecnico scientifici e l'impegno per rendere continuo la formazione e l'aggiornamento delle tematiche affrontate per la rete di soggetti interessate alle azioni e alla ricerca.

Da un punto di vista prospettico vorremmo arrivare ad avere indicatori/indici sintetici, rapidi ed aggiornabili in grado di mantenere monitorato il territorio e i potenziali rischi per la salute al fine di poter attuare policy e governance per combattere/ridurre/mitigare gli effetti del Cambiamento Ambientale Globale (CAG), sulla salute della popolazione e sulla salute degli ecosistemi.

APPENDICE
**“Storia culturale del clima:
dall’era glaciale al riscaldamento globale”
di W. Behringer**

Una recensione del libro di Beringher

A cura di Alessandro Pinter

Dipartimento Ambiente e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il cambiamento climatico modifica l'ambiente e la salute dell'uomo e contemporaneamente condiziona gli ecosistemi ed ha come conseguenze estreme: epidemie, carestie, migrazioni e problematiche su scala mondiale. Il clima decide la storia dell'uomo. Le condizioni climatiche influenzano la vita, le civiltà dei popoli, le guerre, le migrazioni, le carestie, le religioni e anche letteratura, l'arte e la scienza. Lo afferma il Professor Wolfgang Beringher docente di Storia presso l'Università della Saarland, a Saarbrücken in Germania, dove dirige il Centro per gli Studi Storici Europei nel suo libro "Storia Culturale del Clima - Dall'era glaciale al riscaldamento globale" pubblicato nel 2013 da Bollati Boringhieri Editore. Il clima della terra è il fondamento e motore dello sviluppo storico, politico e culturale dell'uomo. Per questo è necessario porre attenzione a come il clima influenza l'uomo come avviene anche l'inverso, cioè l'uomo influenza il clima. I cambiamenti climatici hanno contribuito a cambiare le abitudini dell'uomo (in particolare l'alimentazione), che da cacciatore è diventato agricoltore e dedito alla pastorizia. È interessante notare che l'intolleranza al latte è legata al fatto che nel DNA hanno memoria dell'uomo cacciatore, quindi dopo lo svezzamento non riescono più a sintetizzare il latte.

Cause principali dei cambiamenti climatici

Le cause principali dei cambiamenti climatici messe in evidenza da Beringher sono:

– *Il sole come fonte di energia*

Il sole è il fondamento di tutti i processi chimici, biologici e climatici che avvengono sulla terra. Le osservazioni al telescopio hanno permesso di scoprire il rapporto esistente tra bilancio termico e macchie solari. La diminuzione o l'assenza di macchie solari coincide, nella maggior parte dei casi, con il raffreddamento sulla terra. A causare le fasi di minor irradiazione solare contribuiscono inoltre, alcune oscillazioni nei parametri dell'orbita terrestre. L'astronomo Milutin Milanković ricorse a queste oscillazioni per spiegare il ciclo relativamente uniforme dei periodi freddi nel Pleistocene. In concreto egli prese in considerazione l'eccentricità dell'orbita della Terra e le variazioni dell'inclinazione dell'asse terrestre, che segue periodi diversi. Secondo Milankovic, la periodicità dei cicli di glaciazione si spiega con le oscillazioni cicliche dell'orbita terrestre.

– *L'atmosfera terrestre*

Il secondo fattore responsabile del mutamento climatico è dato dalla composizione dell'involucro d'aria che circonda il nostro pianeta. Questo involucro determina gli effetti dell'irradiazione solare sulla terra. L'aria è composta per circa il 20% di ossigeno e per circa l'80% di azoto e di alcuni gas traccia, tra cui anidride carbonica (CO₂) nella misura di appena lo 0,03. Le ricerche sulle carote di ghiaccio condotte presso la base scientifica russa di Vostok, in Antartide, hanno mostrato, relativamente agli ultimi 420.000 anni, che la percentuale di gas traccia presenti nell'aria, in special modo di anidride carbonica, è direttamente proporzionale al livello di temperatura. La riduzione della quota di anidride carbonica corrisponde a un raffreddamento, il suo aumento a un riscaldamento. È legittimo ipotizzare che la stessa relazione sia esistita anche in precedenza. È chiaro che c'è un nesso, ma qual è la causa e quale l'effetto?

– *La tettonica a placche*

Il fattore della genesi delle ere glaciali, è la tettonica a placche, cioè il movimento di porzioni di crosta terrestre sul mantello superficiale. Lo spostamento dei continenti sulla superficie della Terra provoca la trasformazione delle correnti marine, della direzione dei venti e una diversa distribuzione delle precipitazioni. Quando queste masse di terra si avvicinano ai Poli, il libero fluire dell'acqua marina si blocca e si forma il ghiacciaio. Il manto nevoso e le superfici ghiacciate generano l'effetto albedo: cresce la quantità di luce solare riflessa e ciò genera un ulteriore raffreddamento. La quota

di radiazione solare che è riflessa nello spazio, il cosiddetto albedo, arriva a circa il 95% sulla neve fresca, mentre sul mare è del 10%

– *Vulcanismo*

La tettonica a placche è collegata all'attività dei vulcani. Le eruzioni maggiori liberano nell'aria grandi quantità di polvere, aerosol e gas. Le esplosioni di vulcani possono talvolta provocare un immediato raffreddamento su scala mondiale. Ciò accade quando i venti più alti fanno ruotare le particelle di materia intorno alla Terra fino a sospingerle nella stratosfera. Se ne ebbe un esempio nel 1815 con l'eruzione del vulcano Tambora, in Indonesia che ebbe conseguenze distruttive.

“Piccola era glaciale” causa di cambiamenti climatici, ma che non rientra in quelle principali

Il concetto di “Piccola era glaciale” fu coniato alla fine degli anni Trenta del Novecento dal glaciologo americano Francois Matthes. Secondo Matthes, la grande parte dei ghiacciai ancora esistenti in America settentrionale non risale all'ultima grande glaciazione, ma a un'epoca. Il più recente, compresa tra il XIII e il XIX secolo, caratterizzata dall'avanzamento dei ghiacciai sulle Alpi, in Scandinavia e in Nord America. La chiamò “la Piccola era glaciale” per distinguerla dalle grandi ere glaciali.

Possiamo dire che l'umanità ha inizio con la fine della glaciazione ma, come citato da Matthes, nel Medio Evo si è verificata una piccola glaciazione. Le cause non si conoscono ma con gli strumenti attualmente disponibili sappiamo che queste piccole glaciazioni ci sono state.

Esempi di cambiamenti climatici che interagiscono con la storia dell'uomo

Antisemitismo (conseguenza di una piccola glaciazione)

Quando le condizioni meteorologiche cominciarono a peggiorare stabilmente, in Europa occidentale l'antisemitismo pur presente nel passato entrò in una fase acuta. Secondo Friedrich Batteberg, un avvocato, storico e archivista tedesco, con l'aumento della miseria, all'inizio del XIV secolo, cominciò la ricerca di capri espiatori, fino a che, negli anni Quaranta del Trecento, lo scoppio della Peste nera scatenò la persecuzione degli ebrei in tutta Europa. Agli ebrei si attribuiva colpa di tutto - ma non si riusciva a collegare l'ebraismo con il cattivo tempo. Non si riusciva a immaginare un collegamento tra l'ebraismo e le grandinate, la siccità o il freddo estremo. Gli ebrei non erano quindi adatti a fare da capri espiatori per la Piccola era glaciale.

Fenomeno di caccia alle streghe (conseguenza di una piccola glaciazione)

Lo storico inglese Norman Cohon è stato il primo a capire che nel XV secolo le streghe assunsero lo stesso ruolo di capri espiatori che in precedenza era stato svolto dagli ebrei. La stregoneria può essere considerata come il crimine tipico della Piccola era glaciale perché le streghe erano ritenute responsabili per le condizioni del tempo, come pure l'infertilità dei terreni, la sterilità femminile, per ogni sorta di malattia “innaturale” conseguenza della crisi. Le streghe erano i capri espiatori di cui si aveva bisogno per spiegare tali catastrofi che erano conseguenza della “Piccola era glaciale”. Il numero delle vittime dovrebbe aggirarsi intorno alle 50.000. Il periodo 1560-1660 costituisce l'epoca della caccia alle streghe (secondo me nella società odierna è riconducibile al fenomeno del femminicidio). La caccia alle streghe non fu promossa dalla Chiesa o dallo stato, l'impulso venne dal “basso”. Quando finalmente il sole tornò a risplendere, furono in molti a dare il merito alla persecuzione delle streghe.

Rivoluzione francese

In seguito a delle eruzioni vulcaniche abbiamo avuto fenomeni climatici caratterizzati da basse temperature che hanno lasciato il passo a climi secchi. Che hanno avuto conseguenze negative sulle coltivazioni. Uno di questi è presente nel periodo dell'illuminismo. Nel secolo dell'illuminismo ci si abituò a pensare che la crisi alimentare fosse la conseguenza di una cattiva gestione e non di una “punizione

divina”, come si era a lungo considerata ogni calamità naturale. L’eruzione del vulcano Laki in Islanda ebbe inizio nel maggio 1783 e durò otto mesi. Grandi quantità di gas, polveri vulcaniche e aerosol furono proiettati nell’atmosfera. Raggiunse un’estensione di 27 chilometri. Il fumo ad alta quota fu osservato a Copenaghen, Parigi, Milano. Lo scienziato imprenditore inventore statunitense Benjamin Franklin, che a quel tempo era ambasciatore del suo paese presso la corte di Francia, si rese conto di un rapporto ben preciso tra l’eruzione vulcanica in Islanda e l’irritazione agli occhi di cui soffriva; egli fu il primo a cogliere gli effetti su larga scala di quell’avvenimento. Dopo il 1784 i prezzi di generi alimentari aumentarono in tutto il mondo, quindi anche in Francia.

Jack A. Goldstone (nato il 30 settembre 1953) è sociologo politologo americano è riconosciuto come una delle principali autorità nello studio delle rivoluzioni e dei cambiamenti sociali a lungo termine. Jack A. Goldstone ha osservato che nei venti anni che precedono l’ottantanove, la popolazione francese aumento di due milioni, pari al 10% della popolazione. Ma dal 1770 la coltivazione dei fondi agricoli non aveva tenuto il passo con l’incremento demografico. I fabbricanti erano in cattivo stato, la capacità di stoccaggio dei cereali scarsa. Nei campi si praticava la rotazione triennale delle colture come ai tempi di Carlo Magno e tutti i lavori (semina, raccolta e trebbiatura) erano svolti a mano. I contadini erano restii alle innovazioni. Alla fine del regno di Luigi XV il paese era in emergenza. A un’estate rovinata dalla grandine seguì poi un inverno freddo, nel corso del quale la vita economica si fermò. All’inizio del 1789 il tempo del disgelo provocò diverse inondazioni, con la conseguenza di casi di epizoozia. In alcuni regioni la fame spinse la gente a rivoltarsi. Intere famiglie davano l’assalto ai carri che trasportavano i cereali e s’impadronivano del carico. C’è un dato che svela il legame tra fame e rivoluzione: il prezzo dei cereali raggiunse il punto massimo il 14 luglio del 1789, il giorno della presa della Bastiglia.

Freddo del Tambora conseguenze sull’uomo a livello mondiale

L’esplosione del vulcano Tambora, avvenuta il 10 e 11 aprile del 1815, è stata classificata come la più forte degli ultimi 10.000 anni. Essa provocò un abbassamento di temperatura di circa 3-4°C, freddo del Tambora. La potenza dell’esplosione fu tale da spingere nella stratosfera enormi quantità di polvere e aerosol, che negli anni seguenti si distribuirono su vaste aree della terra. Il 1816 è noto come in Europa e nel Nord America come l’anno senza estate.

Le conseguenze sono state:

- scomparsa di luce in Islanda;
- crisi alimentari in diversi Paesi europei che ha come conseguenza un’ondata migratoria;
- carestia negli Stati Uniti
- carestie ed epidemie in India
- siccità in Sudafrica che ha dato luogo ad una drammatica caccia alle streghe nel regno del capo zulù Shaka e in altre regioni sudafricane.

Come negli anni Trenta e Quaranta del Trecento la carestia aveva fatto scoppiare la Grande Peste, allo stesso modo il Freddo del Tambora favorì l’epidemia di colera. Questa malattia è causata dal batterio *Vibrio cholerae* che provoca forte diarree e quindi la perdita dell’acqua nell’organismo. Il colera causato dal freddo del Tambora ebbe inizio dal Delta del Gange in India attraverso tutto l’Impero Russo e arrivò in Europa, dove fino a quel momento era rimasto ignoto, per arrivare in America del Nord, Europa e Nord America la forte urbanizzazione e le pessime condizioni igieniche negli strati più bassi della popolazione, simili a quelle delle metropoli indiane.

Dato che l’agente patogeno del colera s’insediava nella flora intestinale, decisive furono le precarie condizioni sanitarie e la mancanza d’igiene nel sistema di rifornimento dell’acqua potabile e in quello dello smaltimento delle acque di scarico.

Adesso voglio finire dicendo che l’uomo moderno sta consumando tutte le materie prime del sottosuolo immettendo enormi quantità di polvere e aerosol nella stratosfera ancora non conoscendo o conoscendone in parte gli effetti. È anche vero che non si può fermare l’industrializzazione ma si può fare cultura del clima, dell’acqua, del suolo, dell’aria. Si possono studiare gli ecosistemi e scrivere linee guide adottare comportamenti di prevenzione.

*Serie Rapporti ISTISAN
numero di luglio 2019, 3° Suppl.*

*Stampato in proprio
Servizio Comunicazione Scientifica – Istituto Superiore di Sanità*

Roma, luglio 2019