

## Indicatori microbiologici e valutazione della qualità delle acque superficiali

Rossella BRIANCESCO

Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria,  
Istituto Superiore di Sanità, Roma

**Riassunto.** - La valutazione della qualità microbiologica dell'acqua viene storicamente effettuata mediante la ricerca di microrganismi indicatori. Negli anni più recenti gli studi e le evidenze sperimentali hanno portato ad una revisione del significato sanitario dei tradizionali indicatori di contaminazione fecale. Per varie ragioni, *Escherichia coli* e gli enterococchi meglio ottemperano ai criteri di definizione di organismo indicatore rispetto ai tradizionali coliformi fecali e streptococchi fecali. Per la loro elevata resistenza le spore di *Clostridium perfringens* potrebbero rappresentare un utile indicatore di contaminazione microbica dei sedimenti. Nel lavoro vengono passate in rassegna le più recenti normative relative alla salvaguardia delle acque superficiali con particolare attenzione ai parametri microbiologici.

*Parole chiave:* acque di superficie, *E. coli*, enterococchi, indicatori microbici.

**Summary** (*Microbial indicators and fresh waters quality assessment*). - Traditionally, the microbiological quality of waters has been measured by the analysis of indicator microorganisms. The article reviews the sanitary significance of traditional indicators of faecal contamination (total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci) and points out their limits. For some characteristics *Escherichia coli* may be considered a more useful indicator than faecal coliforms and recently it has been included in all recent laws regarding fresh, marine and drinking water. A clearer taxonomic definition of faecal streptococci evidenced the difficulty into defining a specific standard methodology of enumeration and suggested the more suitable role of enterococci as indicator microorganisms. Several current laws require the detection of enterococci. The resistance of *Clostridium perfringens* spores may mean that they would serve as a useful indicator of the sanitary quality of sea sediments.

*Key words:* surface water, *E. coli*, enterococchi, microbial indicators.

### Introduzione

Nell'ampio spettro di patologie umane trasmesse attraverso l'acqua alcune sono da attribuire a microrganismi autoctoni dell'ambiente acquatico, la cui incidenza è correlata alle esposizioni umane alle naturali risorse idriche (*Legionella* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio* sp.), altre, in numero prevalente, sono dovute ad agenti patogeni derivanti dal tratto gastrointestinale degli animali a sangue caldo e dell'uomo, pervenuti nell'ambiente acquatico in seguito ad episodi di contaminazione fecale; in quest'ultimo caso, la concentrazione dei microrganismi patogeni nell'ambiente dipende dal numero di persone infette e di portatori asintomatici presenti nella comunità, dall'efficacia dei sistemi di trattamento e dalla capacità di autodepurazione dei corpi idrici recettori.

Poiché le metodiche di rilevamento e di quantificazione dei microrganismi patogeni sono spesso molto articolate, costose, caratterizzate da scarsa efficienza di recupero e comunque richiedenti un elevato livello di specializzazione da parte degli operatori, e peraltro non disponibili per tutti i microrganismi, la valutazione della qualità microbiologica dell'acqua si basa sulla definizione e sulla ricerca di organismi indicatori per i quali vengono fissati opportuni valori guida [1].

Un organismo per essere elevato al ruolo di indicatore deve soddisfare i seguenti requisiti:

- deve essere presente nell'acqua tutte le volte in cui sono presenti i microrganismi patogeni;
- la sua concentrazione nell'acqua deve essere in relazione a quella dei microrganismi patogeni e comunque deve riflettere il livello di inquinamento microbiologico;

- la sua sopravvivenza nell'acqua deve essere simile a quella dei microrganismi patogeni;
- la resistenza nei confronti dei trattamenti di depurazione e di disinfezione deve essere simile a quella dei microrganismi patogeni;
- non deve essere patogeno;
- il suo ruolo di indicatore deve essere valido in qualsiasi tipologia di acqua che richieda un programma di monitoraggio;
- le sue caratteristiche non devono mutare nel tempo;
- non deve essere in grado di moltiplicarsi o crescere nell'acqua;
- deve essere rilevabile con metodi semplici, accurati, rapidi ed economici.

Il ricorso all'uso di organismi indicatori non consente una stima diretta della presenza di un dato microrganismo patogeno nell'ambiente idrico; permette, piuttosto, la valutazione della probabilità che esso sia presente.

Nessuno degli indicatori può dare la sicurezza dell'assenza anche di patogeni primari o potenziali, specialmente di quelle forme dotate di alto potere infettante ed elevata resistenza alle condizioni ambientali e alla disinfezione (cisti di protozoi, virus enterici). Infatti, non esiste un indicatore capace di segnalare tutti i patogeni, anche nel circoscritto ambito dell'inquinamento fecale.

La ricerca degli indicatori, rispetto a quella diretta dei singoli microrganismi patogeni, ha inoltre il vantaggio di essere indipendente dall'endemicità di alcune infezioni microbiche; infatti, i dati desunti dalla ricerca diretta dei patogeni, non hanno un valore predittivo poiché sono legati a diversi fattori, primo fra tutti la diffusione delle patologie nella popolazione, e potrebbero condurre a conclusioni poco attendibili.

Storicamente i microrganismi più ampiamente usati come indicatori di contaminazione fecale dell'acqua sono stati i coliformi totali, i coliformi fecali e gli streptococchi fecali; tuttavia, in considerazione dei limiti, di seguito riportati, che questi tradizionali indicatori hanno dimostrato, le normative di più recente elaborazione prevedono anche (o in alternativa) la ricerca di nuovi indicatori quali *Escherichia coli* e le spore dei clostridi solfito-riduttori.

### Indicatori microbiologici

I coliformi totali sono batteri aerobi ed anaerobi facoltativi, gram-negativi, non sporigeni, bastoncellari, che fermentano il lattosio con produzione di gas e di acido in 24-48 ore, a  $36 \pm 1$  °C. I coliformi totali appartengono alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* ed includono generi quali *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*; la definizione di tale gruppo

non si basa su criteri tassonomici, ma su specifiche reazioni biochimiche. Storicamente i coliformi totali sono stati utilizzati come un indice di qualità dell'ambiente idrico. Il significato sanitario loro attribuito trae origine dall'elevata concentrazione dei coliformi totali nel materiale fecale di origine umana ( $10^9$  UFC/g). Tuttavia, alcuni membri appartenenti al gruppo dei coliformi totali sono largamente diffusi nell'ambiente dove colonizzano suolo, acqua, aria e vegetazione. La loro ampia diffusione in natura, documentata da una origine non strettamente enterica, la ridotta capacità di sopravvivenza nell'ambiente rispetto a virus e a parassiti, la capacità di alcuni coliformi di replicarsi nell'ambiente e, non ultima, la mancanza di una relazione tra le densità dei microrganismi patogeni e i coliformi totali, hanno fatto sorgere dubbi sulla loro validità come indicatori [1].

Anche in ambienti marini i coliformi totali hanno una capacità di sopravvivenza inferiore rispetto ad alcuni microrganismi patogeni [2]. Studi epidemiologici hanno inoltre evidenziato che la presenza di coliformi totali non è correlata alla diffusione di patologie acquisite con il consumo di acqua potabile e quindi il loro rilevamento non ha incidenza sulla qualità microbiologica dell'acqua stessa [3].

I coliformi fecali, meglio definiti come coliformi termotolleranti, per la loro capacità di fermentare il lattosio con produzione di gas e acido alla temperatura di  $44,5 \pm 0,2$  °C e con un tempo di incubazione di 24-48 ore, sono un sottogruppo dei coliformi totali più strettamente correlati al tratto intestinale degli animali a sangue caldo.

In questi ultimi anni sono stati evidenziati alcuni limiti nell'impiego dei coliformi come indicatori di contaminazione fecale delle acque e si è delineata la necessità di sostituire il parametro coliformi fecali con *E. coli*. Infatti, considerata l'elevata rappresentanza della specie *E. coli* nell'ambito del gruppo dei coliformi fecali (90%), nonché l'esclusivo rapporto del microrganismo con il tratto intestinale dell'uomo e degli animali a sangue caldo, tenuto anche conto dell'origine non necessariamente fecale dei microrganismi appartenenti a tale gruppo e del loro spiccato potenziale di ricrescita una volta pervenuti nell'ambiente, *E. coli* meglio assolve il ruolo di indicatore [4]. Anche recenti studi dell'EPA sostengono l'inadeguatezza dei coliformi fecali come indicatori di contaminazione fecale per le acque adibite a scopi ricreazionali [5].

Tale scelta, secondo recenti studi, è anche motivata dalla maggiore stabilità nella presenza di *E. coli* nelle acque ambientali nel corso dell'anno, rispetto ai coliformi fecali e totali che risulterebbero più sensibili alle variazioni stagionali e non di meno dalla minore sensibilità del microrganismo alle procedure di disinfezione rispetto alla maggior parte dei patogeni enterici [6].

In Italia, relativamente alle acque destinate al consumo umano, il DL.vo n. 31/01 [7], recepimento della Direttiva europea 98/83/CE, prevede, nell'allegato 2, la ricerca del parametro *E. coli* in sostituzione dei coliformi fecali, mentre è ancora prevista la ricerca del parametro coliformi totali indicati col termine "batteri coliformi a 37 °C". In questa tipologia di acqua, i coliformi totali, malgrado le limitazioni evidenziate, possono assolvere il ruolo di primo marcatore per ulteriori accertamenti; infatti, la loro presenza nelle reti di distribuzione può fornire indicazioni sull'efficienza dei processi di trattamento e di disinfezione e può essere un segnale dell'avvenuta rottura delle barriere sanitarie.

Relativamente alle normative che regolamentano la qualità delle acque superficiali (DL.vo n. 258/00 [8], già DL.vo n. 152/99 [9]), i coliformi totali e i coliformi fecali sono ancora inclusi tra i parametri da ricercare per la classificazione delle acque da destinare a scopi potabili, mentre viene inserito il parametro *E. coli*, come indicatore primario di contaminazione fecale tra i parametri da ricercare sia per la classificazione dei corsi d'acqua superficiali, sia per il controllo delle emissioni degli scarichi idrici. Anche nel caso delle acque di balneazione, gli studi, fortemente stimolati dalla necessità di sottoporre a revisione la Direttiva Europea 76/160 recepita in Italia mediante il DPR n. 470/82 [10], hanno evidenziato che *E. coli* è un indicatore di contaminazione fecale più idoneo dei tradizionali coliformi fecali.

Nell'ultima Proposta di Direttiva del Parlamento Europeo e del Consiglio del 28 novembre 2003 [11], *E. coli* è indicato tra i parametri per la valutazione della qualità dell'acqua di balneazione.

Per quanto riguarda gli streptococchi fecali, il parametro rappresenta un utile indicatore di inquinamento fecale per una serie di caratteristiche di seguito enunciate:

- vi è una stretta relazione tra presenza di streptococchi fecali e rischio di gastroenteriti associato alla balneazione in acque marine e superficiali;
- diversamente dai coliformi, gli streptococchi fecali non sono ubiquitari;
- sono sempre presenti nelle feci degli animali a sangue caldo;
- non si moltiplicano nelle acque contaminate da reflui;
- il loro tempo di abbattimento nelle acque di mare è meno rapido di quello dei coliformi;
- la capacità di sopravvivenza nell'ambiente è simile a quella di alcuni batteri patogeni.

Gli streptococchi fecali sono un gruppo eterogeneo di microrganismi, comprendente specie tassonomicamente distinte, associate al tratto gastrointestinale dell'uomo e degli animali a sangue caldo. Il significato sanitario, come anche le caratteristiche di sopravvivenza variano

a seconda della specie. Inoltre, la proporzione delle singole specie nelle feci umane e animali, non è la stessa. Nel gruppo sono incluse specie appartenenti a due generi: *Streptococcus* ed *Enterococcus*, accomunate dal requisito di essere esclusivamente associate al tratto gastrointestinale dell'uomo e degli animali. I termini streptococchi fecali ed enterococchi sono spesso impropriamente usati come sinonimi e la loro definizione è piuttosto controversa a causa dei rimaneggiamenti che la tassonomia ha subito con l'evolversi dei criteri di classificazione. Storicamente erano considerati streptococchi fecali i cocchi gram-positivi, provvisti dell'antigene D, con tendenza a disporsi a catena nei terreni liquidi, aerobi ed anaerobi facoltativi e catalasi negativi. Essi comprendevano le specie *Strep. faecalis*, *Strep. faecium*, *Strep. avium*, *Strep. bovis*, *Strep. equinus* e *Strep. gallinarum*. Successivamente le specie *Strep. faecalis*, *Strep. faecium*, *Strep. bovis* e *Strep. gallinarum* sono state incluse nel genere *Enterococcus* e quindi rinominate *Ent. faecalis*, *Ent. faecium*, *Ent. bovis* e *Ent. gallinarum*.

Gli enterococchi includono tutte le specie appartenenti al genere *Enterococcus* in conformità ai criteri di Sherman, ovvero che sono in grado di crescere a 10 °C e a 45 °C, a pH 9,6, in presenza di NaCl al 6,5%, che resistono a 60 °C per 30 minuti e sono in grado di ridurre il blu di metilene allo 0,1% [12].

Pertanto, secondo le più recenti revisioni, il gruppo degli streptococchi fecali comprenderebbe specie appartenenti al genere *Enterococcus* (*Ent. faecalis*, *Ent. faecium*, *Ent. durans*, *Ent. hirae*, *Ent. avium*, *Ent. gallinarum*, *Ent. cecorum*) e al genere *Streptococcus* (*Strep. bovis*, *Strep. equinus*, *Strep. alactolyticus*, *Strep. intestinalis*, *Strep. hyointestinalis* e *Strep. acidominimus*).

Poiché l'eterogeneità delle specie appartenenti a tale gruppo rappresenta un limite nella standardizzazione di metodologie analitiche per la loro enumerazione, e in considerazione della particolare attenzione rivolta alle specie di esclusiva origine fecale per il loro potenziale ruolo di indicatori, le nuove normative si vanno orientando verso la ricerca degli enterococchi piuttosto che degli streptococchi fecali.

La ricerca del parametro enterococchi è attualmente prevista dal DL.vo n. 31/01 relativo alle acque destinate al consumo umano, dal DL.vo n. 152/99 relativamente alla classificazione delle acque marino-costiere e anche dalle varie proposte di direttiva elaborate per la revisione della normativa sulle acque di balneazione.

Al genere *Clostridium* appartengono bacilli anaerobi obbligati, gram-positivi, perlopiù motili, solo raramente capsulati, sporigeni, che riducono il solfito con produzione di solfuro. La maggior parte dei clostridi sono saprofiti, vivono negli strati superficiali poveri di ossigeno del suolo e dei sedimenti

e nell'intestino di alcuni animali a sangue caldo; alcune specie sono fortemente patogene per l'uomo (*Clostridium tetani* e *Clostridium botulinum*) perché producono tossine molto potenti. Tra i clostridi solfito-riduttori *Clostridium perfringens*, specie di sicura origine fecale, la cui concentrazione nelle feci umane è compresa tra  $10^2$  e  $10^7$  UFC/g, è stato proposto come indicatore di inquinamento fecale.

Poiché le spore dei clostridi solfito-riduttori sopravvivono per lunghi periodi nell'acqua e sono più resistenti dei coliformi e degli streptococchi ai trattamenti di disinfezione, possono essere utilizzate, insieme ai classici indicatori, come indicatori secondari di efficienza di trattamenti delle acque. Inoltre il reperimento in acqua di spore di clostridi solfito-riduttori, senza la contemporanea presenza di coliformi e di streptococchi, consente di poter ritenere che l'acqua in oggetto abbia subito un processo di contaminazione in epoca non recente.

Acque in cui sia stata registrata assenza di *E. coli* e di streptococchi, potrebbero non essere indenni dalla presenza di patogeni enterici quali, ad esempio, *Giardia intestinalis* e *Cryptosporidium parvum*, più resistenti di *E. coli* e degli enterococchi alla disinfezione. In questi casi è stato ipotizzato, anche sulla base di evidenze sperimentali che dimostrano l'esistenza di correlazioni statisticamente significative tra le concentrazioni dei protozoi e quelle delle spore di *Clostridium perfringens*, che quest'ultime possano indicare la presenza di tali agenti patogeni proprio per la loro maggiore resistenza nell'ambiente [13].

Nel DL.vo 31/01 la ricerca delle spore di *Clostridium perfringens* è inserita tra i parametri da ricercare nei controlli di routine per la valutazione delle acque destinate al consumo umano, qualora le acque provengano o siano influenzate da acque superficiali; nel caso in cui tali acque risultino positive per la presenza *Clostridium perfringens* (spore comprese) l'autorità sanitaria deve accertarsi che non sussistano potenziali pericoli dovuti alla presenza di microrganismi patogeni quali ad esempio *Cryptosporidium*.

#### **Indicatori di contaminazione microbica e DL.vo n. 152/99**

Le normative sulle acque antecedenti al DL.vo n. 152/99 fissavano limiti di concentrazione degli indicatori microbiologici per le acque adibite ad una particolare destinazione d'uso (potabile, ricreazionale) e il tipo di informazione dedotta, anche se permetteva di evidenziare eventuali episodi di contaminazione, era sempre puntiforme, ovvero non integrata con le informazioni derivanti dagli altri parametri che caratterizzano uno specifico scenario ambientale.

L'aspetto nuovo del DL.vo n. 152/99, che riflette la linea su cui è stata formulata la Direttiva Quadro sulle Acque, è che la valutazione della qualità ambientale ed ecologica si basa sull'acquisizione della conoscenza di tutti i fattori che possono influenzare le condizioni ambientali. Attraverso l'integrazione delle informazioni analitiche con la valutazione e l'interpretazione di nuovi elementi e di caratteristiche territoriali è possibile effettuare previsioni di rischio per la salute ed elaborare programmi di tutela e risanamento ambientale.

Nell'allegato 1 del DL.vo n. 152/99 il cui contenuto è ribadito nell'allegato 1 del DL.vo n. 258/00, contenente disposizioni correttive ed integrative del DL.vo n. 152/99, sono stabiliti i criteri per il monitoraggio e la classificazione delle acque in funzione degli obiettivi di qualità ambientale. La classificazione distingue le acque superficiali (al punto 3), in corsi d'acqua, laghi, acque marine costiere, acque di transizione e corpi idrici superficiali.

Relativamente ai corsi d'acqua è prevista la ricerca di alcuni parametri di base sulla matrice acquosa; si tratta di parametri chimici, chimico-fisici e microbiologici, che meglio riflettono le pressioni antropiche, alcuni dei quali sono definiti macrodescrittori e utilizzati nella classificazione. Sul biota è prevista, come analisi di base, la determinazione dell'Indice Biotico Esteso (IBE) per valutare gli impatti antropici sulle comunità animali. Le analisi di base possono essere integrate da analisi supplementari (saggi biologici sui sedimenti e saggi biologici sul biota finalizzati all'evidenziazione di effetti a breve e a lungo termine).

*Escherichia coli* è l'unico parametro microbiologico che figura tra i parametri di base da ricercare nella matrice acqua per la classificazione dei corsi d'acqua. La tabella 7 dell'allegato 1 del DL.vo n. 152/99, permette di valutare il livello di inquinamento espresso dai macrodescrittori, calcolato integrando le informazioni provenienti dai parametri chimici e microbiologici. Incrociando il dato risultante dai macrodescrittori con il risultato dell'IBE è possibile attribuire classi di stato ecologico dei corsi d'acqua.

Relativamente ai sedimenti le cui analisi sono supplementari non è prevista la ricerca di parametri microbiologici.

Relativamente ai laghi, le determinazioni necessarie per la classificazione prevedono, come per i corsi d'acqua, analisi di base e analisi supplementari, ma i parametri di base sono solo chimico-fisici.

Per le acque marine costiere, tra i parametri di base, da ricercarsi sulla matrice acqua, è previsto il rilevamento degli enterococchi. Pur tuttavia, al momento non esiste ancora un approccio integrato per la valutazione dello stato di qualità degli ambienti marini costieri che tenga conto di tutti i parametri di base e delle determinazioni eseguite sul biota e sui sedimenti. Per una prima classificazione ci si basa pertanto sul calcolo dell'indice trofico e i risultati che derivano dall'applicazione

**Tabella 1.** - Caratteristiche di qualità per acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile. Parametri microbiologici (da DL.vo n. 258/00, allegato 2, tabella A1) [8]

Parametro	Unità di misura	A1	A2	A3
Coliformi totali	MPN-UFC/100 ml	0	5000	50 000
Coliformi fecali	MPN-UFC/100 ml	20	2000	20 000
Streptococchi fecali	MPN-UFC/100 ml	20	1000	10 000
Salmonella	P/A	Assenza in 5000 ml	Assenza in 1000 ml	

Categoria A1: trattamento fisico semplice e disinfezione. Categoria A2: trattamento fisico e chimico normale e disinfezione. Categoria A3: trattamento fisico e chimico spinto, affinazione e disinfezione.

MPN: numero più probabile; UFC: unità formante colonia; P: presenza; A: assenza.

dell'indice di trofia determinano l'attribuzione delle acque marine costiere ad un particolare stato ambientale (elevato, buono, mediocre, scadente).

Le determinazioni da eseguire sul biota prevedono analisi di accumulo di metalli pesanti e di composti organici nei mitili (idrocarburi policiclici aromatici e composti organoclorurati). Le Regioni possono inoltre integrare eventualmente i parametri in funzione dell'esigenza di approfondire le conoscenze su specifiche situazioni locali.

Sui sedimenti sono previste analisi di base (analisi granulometrica, idrocarburi policiclici aromatici, metalli pesanti bioaccumulabili) ed analisi addizionali (saggi biologici per evidenziare effetti a breve e a lungo termine).

Relativamente ai parametri addizionali da ricercarsi sui sedimenti, da tempo si discute sull'esigenza di integrare le determinazioni analitiche richieste e previste nel DL.vo n. 152/99, per la valutazione della qualità degli ambienti marino-costieri, con il rilevamento di un idoneo indicatore microbiologico di contaminazione fecale. In questo caso il rilevamento dei coliformi e degli streptococchi avrebbe scarsa validità a causa del loro rapido decadimento in un ambiente ostile come quello marino; le spore dei clostridi solfito-riduttori, invece, resistendo alle condizioni avverse del mezzo, sopravvivono a lungo nell'ambiente e, avendo rispetto ai coliformi il vantaggio di non riprodursi nei sedimenti marini, sono additate come il parametro indicatore che meglio ottempera ai requisiti richiesti [14].

Nell'allegato 2 del DL.vo n. 152/99, il cui contenuto è ribadito nell'allegato 2 del DL.vo n. 258/00, sono stabiliti i criteri per la classificazione dei corpi idrici a specifica destinazione funzionale. In particolare nella sezione A sono fissati i criteri generali e le metodologie per il rilevamento delle caratteristiche qualitative e per la classificazione delle acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile. I parametri microbiologici previsti (tabella 1A dell'allegato 2) sono i coliformi totali, i coliformi fecali, gli streptococchi

fecali e *Salmonella*. Per la classificazione delle acque vengono individuate tre diverse categorie (A1, A2, A3), in funzione del tipo di trattamento necessario per ottemperare ai requisiti di potabilità, e per ogni categoria sono individuati dei valori limite per i singoli parametri microbiologici (Tab. 1).

Nell'allegato 5 del DL.vo n. 152/99, il cui contenuto è ribadito dall'allegato 5 del DL.vo n. 258/00, sono fissati i limiti di emissione degli scarichi idrici (acque reflue urbane e acque reflue industriali) in corpi d'acqua superficiali e sul suolo. Per quanto riguarda gli scarichi degli impianti di trattamento delle acque reflue urbane e gli scarichi industriali in acque superficiali e in fognatura, tra i vari parametri è prevista la ricerca di *E. coli* (tabella 3 dell'allegato 5). Per gli scarichi degli impianti di trattamento delle acque reflue urbane, i limiti di concentrazione di *E. coli* devono essere fissati all'atto dell'approvazione dell'impianto di trattamento delle acque reflue urbane dall'autorità competente, in relazione alla situazione ambientale e igienico-sanitaria del corpo recettore e in base agli usi esistenti. È tuttavia consigliato un limite non superiore a 5000 UFC/100 ml.

Nella tabella 4 dello stesso allegato sono invece fissati i limiti di emissione per le acque reflue urbane ed industriali che recapitano sul suolo. Anche in questo caso è prevista la ricerca di *E. coli* come indicatore di contaminazione fecale delle acque ed i limiti, come per le emissioni in corpi idrici superficiali e in fognatura, sono stabiliti caso per caso.

L'articolo 26 del DL.vo n. 152/99 stabilisce che le acque reflue siano riutilizzate e rimanda la definizione delle norme tecniche e dei requisiti minimi di qualità per il loro riutilizzo ad un decreto (n. 185/03) [15] che il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio ha elaborato di concerto con altri ministeri, tra cui quello della Salute. Attraverso la regolamentazione delle destinazioni d'uso e stabilendo i requisiti minimi di qualità, il decreto n. 185/03 norma il riuso di acque reflue domestiche, urbane ed industriali. Nella tabella

**Tabella 2.** - Valori limite delle acque reflue all'uscita dell'impianto di recupero. Parametri microbiologici (da decreto n. 185/03)

Parametro	Unità di misura	Valore limite
<i>Escherichia coli</i> (*)	UFC/100 ml	10 (80% dei campioni)
		100 valore puntuale massimo
<i>Salmonella</i>		Assente

(\*) Per le acque reflue recuperate provenienti da lagunaggio o fitodepurazione valgono i limiti di 50 (80% dei campioni) e 200 UFC/100 ml (valore puntuale massimo).  
UFC: unità formanti colonia.

riportata nell'allegato del decreto, sono indicati i valori limite delle acque reflue all'uscita dell'impianto di recupero; relativamente ai parametri microbiologici, è prevista la ricerca di *E. coli* e di *Salmonella*. Per il parametro *E. coli* il valore limite indicato è pari a 10 UFC/100 ml, da riferirsi all'80% dei campioni, con un valore massimo di 100 UFC/100 ml, il cui superamento impone l'immediata sospensione del riutilizzo. Per le acque reflue recuperate provenienti da lagunaggio o da fitodepurazione valgono, invece, i limiti di 50 (80% dei campioni) e 200 UFC/100 ml (valore puntuale massimo). Per il parametro *Salmonella* è prevista l'assenza del batterio nel 100% dei campioni analizzati e la sospensione immediata del riuso. Da notare la mancanza di indicazioni relative al volume di acqua in cui il parametro deve essere ricercato (Tab. 2).

### Conclusioni

Tra gli indicatori microbiologici utilizzati per la valutazione della qualità delle acque superficiali nessuno soddisfa pienamente i criteri di definizione di un indicatore ideale; in generale, infatti, i microrganismi indicatori sono più sensibili alle condizioni ambientali rispetto ai microrganismi patogeni di cui sono spia. Pertanto, la ricerca è sempre molto attiva nella individuazione di più idonei marcatori di qualità delle acque.

Da una visione complessiva del quadro normativo che regola la qualità delle acque superficiali gli aspetti innovativi che emergono sono rappresentati dalla subordinazione dei limiti di emissione ai singoli contesti ambientali mediante l'elaborazione di restrizioni stabilite in funzioni di specifici obiettivi di qualità e dall'integrazione delle informazioni provenienti da più marcatori di qualità.

Lavoro presentato su invito.  
Accettato il 3 ottobre 2005.

### BIBLIOGRAFIA

- Borrego JJ, Figueras MJ. Microbiological quality of natural waters. *Microbiol Sem* 1997;13:413-26.
- Dufour AP. *Bacteriological marine and fresh ambient water quality criteria for recreational waters*. Washington DC and Cincinnati OH: US Environmental Protection Agency; 1986. (NTIS PB 86- 158045).
- Barrel RAE, Hunter PR, Nichols G. Microbiological standards for water and their relationship to health risk. *Commun Dis Pub Health* 2000;3:8-13.
- Baudisovà D. Evaluation of *Escherichia coli* as the main indicator of faecal pollution. *Wat Sci Technol* 1997;35:333-6.
- Cabelli VJ. *Health effects criteria for marine recreational waters*. Research Triangle Park: Environmental Protection Agency; 1983. (EPA 1983-600/1-80-031:98).
- Flint KW. The long term survival of *Escherichia coli* in river water. *J Appl Bacteriol* 1987;63:261-70.
- Italia. Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. *Gazzetta Ufficiale (Suppl.)* n. 52, 3 marzo 2001.
- Italia. Decreto Legislativo 18 agosto, n. 258. Disposizioni correttive e integrative del Decreto Legislativo 11 maggio 1999, n.152, in materia di tutela delle acque dall'inquinamento, a norma dell'articolo 1, comma 4, della legge 24 aprile 1998, n.128. *Gazzetta Ufficiale (Suppl.)* n. 218, 18 settembre 2000.
- Italia. Decreto Legislativo 11 maggio 1999, n. 152. Disposizioni sulla tutela delle acque dall'inquinamento e recepimento della direttiva 91/271/CEE concernente il trattamento delle acque urbane e della direttiva 91/676/CEE relativa alla protezione delle acque dall'inquinamento provocato dai nitrati provenienti da fonti agricole. *Gazzetta Ufficiale (Suppl.)* n. 124, 29 maggio 1999.
- Italia. Decreto del Presidente della Repubblica 8 giugno 1982, n. 470. Attuazione della Direttiva CEE n. 76/160 relativa alla qualità delle acque di balneazione. *Gazzetta Ufficiale* n. 203, 26 luglio 1982.
- Proposal for a Directive of the European Parliament and of the Council concerning the management of bathing water quality, n. 15355/03. Brussels, 28 November 2003.
- Leclerc H, Devriese LA, Mossel DAA. Taxonomical changes in intestinal (faecal) enterococci and streptococci: consequences on their use as indicator of faecal contamination in drinking water. *J Appl Bacteriol* 1996;81:459-66.
- Payment P, Franco E. *Clostridium perfringens* and somatic coliphages as indicators of the efficiency of drinking water treatment for viruses and protozoan cysts. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:2418-24.
- Bonadonna L, Dal Cero C, Liberti R, Pirrera A, Santamaria F, Volterra L. *Clostridium perfringens* come indicatore in sedimenti marini. *Ing Sanitaria-Ambientale* 1993;1:28-30.
- Italia. Decreto del Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio 12 giugno 2003, n.185. Regolamento recante norme tecniche per il riutilizzo delle acque reflue in attuazione dell'articolo 26, comma 2, del D. Lgs 11 maggio 1999, n. 152. *Gazzetta Ufficiale* n. 169, 23 luglio 2003.