

MONITORAGGIO MICROBIOLOGICO DELLE ACQUE SORGIVE E SOTTERRANEE DELL'ALTA VALLE DEL FIUME COSA

CLAUDIO DI RUSSO (*) E SALVATORE SIMONELLI (**)

INTRODUZIONE

Il controllo microbiologico delle acque da destinare all'approvvigionamento potabile riveste particolare importanza nei confronti dello stato di salute delle popolazioni che ne fanno uso; a tal proposito ne fanno ampia testimonianza le frequenti segnalazioni di episodi infettivi e diversa eziologia tutti rapportabili alla contaminazione primaria o secondaria di riserve d'acqua potabile (IRSA-CNR, 1979; Volterra e Dal Cero, 1991).

Ciò può risultare ancora più vero per un'area come quella dell'Alta Valle del fiume Cosa, oggetto delle nostre indagini, che per la sua particolare struttura geologica (ampie zone di assorbimento in quota ed estesi tratti di scorrimento sotterraneo) può e deve essere definita altamente vulnerabile nelle sue importanti e famose riserve di acqua potabile.

Uno degli scopi del lavoro svolto dal Circolo Speleologico Romano è stato quello di effettuare un monitoraggio ed una valutazione microbiologica delle acque di numerose sorgenti del comprensorio in esame. Inoltre la possibilità di accedere e di raccogliere campioni di acqua nei diversi tratti di scorrimento sotterraneo, nella fattispecie il sistema del Gresele-Vermicano, poneva come ulteriore obiettivo quello di verificare e ricostruire le possibili connessioni tra i bacini carsici di assorbimento superficiali e le diverse sorgenti che interessano l'alimentazione idrica del comune di Guarcino e di altre aree della provincia di Frosinone.

Le indagini, iniziate nel giugno 1990, sono state articolate in una serie di campionamenti periodici (almeno due per ogni anno di studio) sia di alcune sorgenti perenni che di diversi punti dello scorrimento profondo. Le analisi per la determinazione dei principali indicatori di contaminazione microbiologica sono state condotte in collaborazione con il Laboratorio di Tossicologia P.M.P./USL Frosinone.

In questa breve relazione verranno riportati i risultati fin qui ottenuti sulla contaminazione batterica delle sorgenti e dei tratti sotterranei accompagnati da alcune considerazioni sulla vulnerabilità e sulla gestione di certe aree sicuramente implicate nei sopraindicati fenomeni di inquinamento organico.

(*) Circolo Speleologico Romano; Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"
(**) Laboratorio di Tossicologia P.M.P./USL Frosinone.

METODOLOGIE

I prelievi sono stati effettuati in contenitori sterili costituiti da materiali esenti da sostanze tossiche o batteriche e autoclavabili a 121°C per 30 minuti.

I campioni prelevati secondo le comuni norme di asepsi sono stati trasportati in cassette coibentate e refrigerate (4°-10°C) e sottoposte ad esame entro le 24 ore dal prelievo.

Le indagini fondamentali sono state basate sulla ricerca primaria di uno o più dei cosiddetti indici di inquinamento fecale e hanno compreso la ricerca dei Coliformi totali e fecali, degli Streptococchi fecali e la valutazione della Carica batterica totale a temperatura ambiente e a 37°C. In alcuni casi è stata tentata la ricerca di Pseudomonacee.

In totale sono stati effettuati 10 campionamenti per indagini qualitative intese ad evidenziare la presenza o l'assenza di determinate classi batteriche indicatrici di inquinamento fecale e 51 campionamenti per indagini quantitative (MPN) condotte secondo i metodi ufficiali indicati dalle normative vigenti (Direttiva CEE 80/778; DPR 24 Maggio 1988, n. 236).

Terreni di Coltura

Per le indagini di tipo qualitativo sono stati utilizzati i seguenti terreni di crescita:

- Lactose Broth (LB), per la crescita batterica totale.
- Agar Cled (CL), per la crescita batterica totale.
- Agar Mac Conkey (MC), per la crescita selettiva di Gram-
- Agar Centrimide (CE), per la crescita selettiva di *Pseudomonas*.
- Agar per Enterococchi (ES), per la crescita selettiva di Streptococchi.
- Enterotube II (EN), Per l'identificazione degli Enterobatteri sulla base di 15 differenti caratteristiche biochimiche.

Il test dell'ossidasi (OX), è stato effettuato per evidenziare i germi Gram-Ossidasi- prima dell'inoculo in Enterotube II.

Per le indagini di tipo quantitativo i terreni di crescita sono stati i seguenti:

- Brodo Lattosato
- EC-Broth, Colimetria
- Azide Dextrose Broth
- EVA Broth, Streptococchi
- Plate Count Agar, Carica Batterica.

DESCRIZIONE DEI PARAMETRI MICROBIOLOGICI

Colimetria

La valutazione qualitativa e quantitativa di questo parametro rappresenta il criterio fondamentale e più frequentemente adottato per valutare la potabilità di un'acqua. I metodi ufficiali adottati per la determinazione dei coliformi presentano qualche differenza a seconda dei tipi di acqua esaminata (superficiale, potabile, minerale). Fondamentalmente si basano sulla ricerca del numero più probabile di colonie

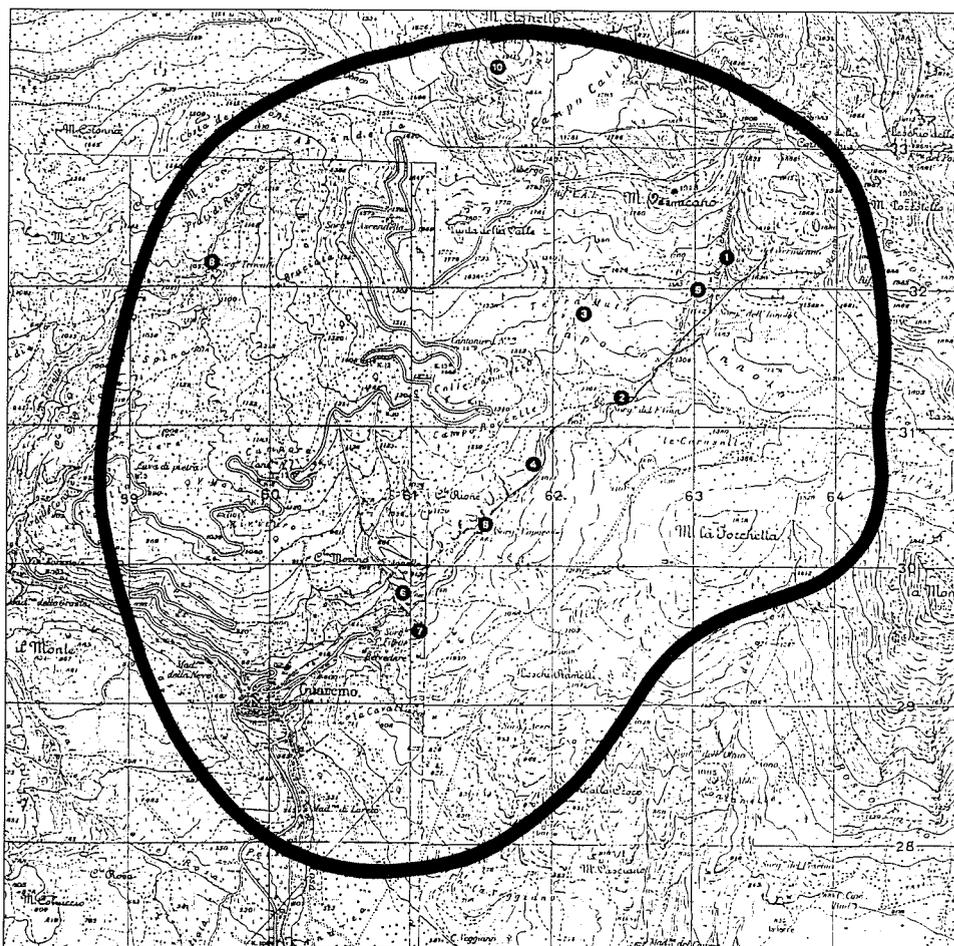


Fig. 1 - Localizzazione delle stazioni di campionamento microbiologico (Carta IGM 1:25000).

cresciute su terreni selettivi (metodo MPN). La potabilità di un campione viene quindi espressa come MPN/100 ml.

La presenza di coliformi fa ritenere l'acqua sospetta; questi, indipendentemente dalla specie cui essi appartengono, non sono mai presenti nelle acque pure e perciò la loro comparsa indica contaminazione e potenziale presenza di specie microbiche patogene.

Streptococchi fecali

Per Streptococchi fecali (denominati anche Enterococchi) si intende quel gruppo di cocchi Gram+ capaci di crescere su terreni contenenti Azide sodica e brodo biliato.

La specie più comune è lo *Streptococcus faecalis* con diverse sottospecie quali il *faecalis*, il *liquafeciens* e *faecium*.

Anche per la determinazione di questi microrganismi può essere adatto il metodo MPN. In linea di massima si può affermare che la presenza di Streptococchi in acque potabili assume significato di inquinamento molto recente, essendo questi microrganismi più labili dei coliformi nell'ambiente esterno.

Carica Batterica Totale

Con questo termine si intende il contenuto batterico totale del campione o meglio il numero di batteri capaci di dare luogo a sviluppo di colonie a 37°C e a 20°C (metodo UFC).

ELENCO DELLE STAZIONI PER LE INDAGINI MICROBIOLOGICHE

In questo paragrafo viene riportato l'elenco di tutte le stazioni di campionamento microbiologico sia per le acque superficiali che sotterranee (Tab 1). Ogni stazione è identificata da un numero progressivo e da una sigla. Nella figura 1, le stesse stazioni sono riportate con il loro numero progressivo su carta IGM 1:25.000. Mentre nella figura 2 sono riportate le stazioni di campionamento sotterraneo.

Tabella 1 - Elenco delle stazioni per le indagini microbiologiche

| | | |
|----|-------------------------------|-------|
| 1 | Sg. Vermicano bassa | V2 |
| 2 | Sg. Capo Cosa alta | a |
| | Sg. Capo Cosa bassa | c |
| | Sg. del Tubo | k |
| 3 | Sg. del Rio | Rio |
| 4 | Risorghiotto | 4A |
| 5 | Sg. Caporelle basse | F1,F2 |
| 6 | Sg. San Luca | g |
| 7 | Sg. Filette | H |
| 8 | Sg. Trovalle | Tro |
| 9 | Gresele Vermicano : | |
| | • acqua prima strettoia | Gre1 |
| | • cordella rossa | Gre2 |
| | • attivo Gresele | Gre3 |
| | • risalita Cristiano | Gre4 |
| | • corso principale | Ver1 |
| | • stillicidio Gresele | Ver2 |
| | • stillicidio Vermicano | Ver3 |
| | • torrente dopo la confluenza | Ver4 |
| 10 | Grotta degli Urli : | |
| | • stazione - 430 | Urli |

Tabella 2 - Stazioni per campionamenti qualitativi

LB = Brodo lattosato; CL = Agar Cled; MC = Agar Mac Conkey; CE = Agar Cetrimide; EC = Agar Enterococchi; OX = Test ossidasi; EN = Enterotube II

| Stazioni | data | LB | CL | MC | CE | ES | OX | EN |
|----------|----------|----|----|----|----|----|----|----|
| t | 10.06.90 | no | - | - | - | - | no | no |
| F1,F2 | 30.09.90 | no | - | - | - | - | no | no |
| k | 15.10.90 | + | no | + | - | - | - | +* |
| F1.F2 | 15.10.90 | + | no | + | - | + | + | no |
| F2 | 03.01.91 | + | no | + | - | + | + | no |
| h | 03.01.91 | + | no | + | - | - | + | no |
| F2 | 16.01.91 | + | no | - | - | + | no | no |
| h | 16.01.91 | + | no | - | - | - | no | no |
| 9 | 16.01.91 | + | no | - | - | - | no | no |
| V2 | 16.01.91 | + | no | - | no | - | no | no |

* Identificato *Escherichia coli*

RISULTATI

In questa parte della relazione vengono riportati in modo analitico i risultati ottenuti dalle indagini sui diversi parametri microbiologici considerati. In particolare una prima tabella (Tab.2) riporta i dati relativi ad una serie preliminare di analisi qualitative per un certo numero di sorgenti esterne. Queste analisi sono state rivolte essenzialmente alla identificazione di specie batteriche indice di contaminazione batterica.

Una seconda tabella (Tab.3) riporta invece i dati espressi in valore MPN delle analisi quantitative delle sorgenti di superficie e dei tratti sotterranei per i due anni di studio considerati. In una terza tabella le diverse sorgenti e alcuni dei punti di campionamento sotterraneo sono stati caratterizzati in modo sintetico, assegnando a ciascun campione nei diversi periodi, un punteggio dato dalla positività per ogni parametro microbiologico. In questo modo è stato possibile ottenere un punteggio medio di contaminazione batterica per tutte le stazioni considerate (Tab.4). Gli stessi valori per ogni stazione di campionamento sono stati riportati sul profilo altimetrico Campo Catino Guarcino (Fig. 3).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Dai dati riportati nelle tabelle riassuntive emerge sostanzialmente un quadro abbastanza complesso dello stato di contaminazione da microrganismi sia delle sorgenti che dei tratti sotterranei saggiati.

Tuttavia, alcuni dei risultati ottenuti, soprattutto se correlati con le indagini idrogeologiche e speleologiche che hanno risolto almeno in parte il complicato reticolo

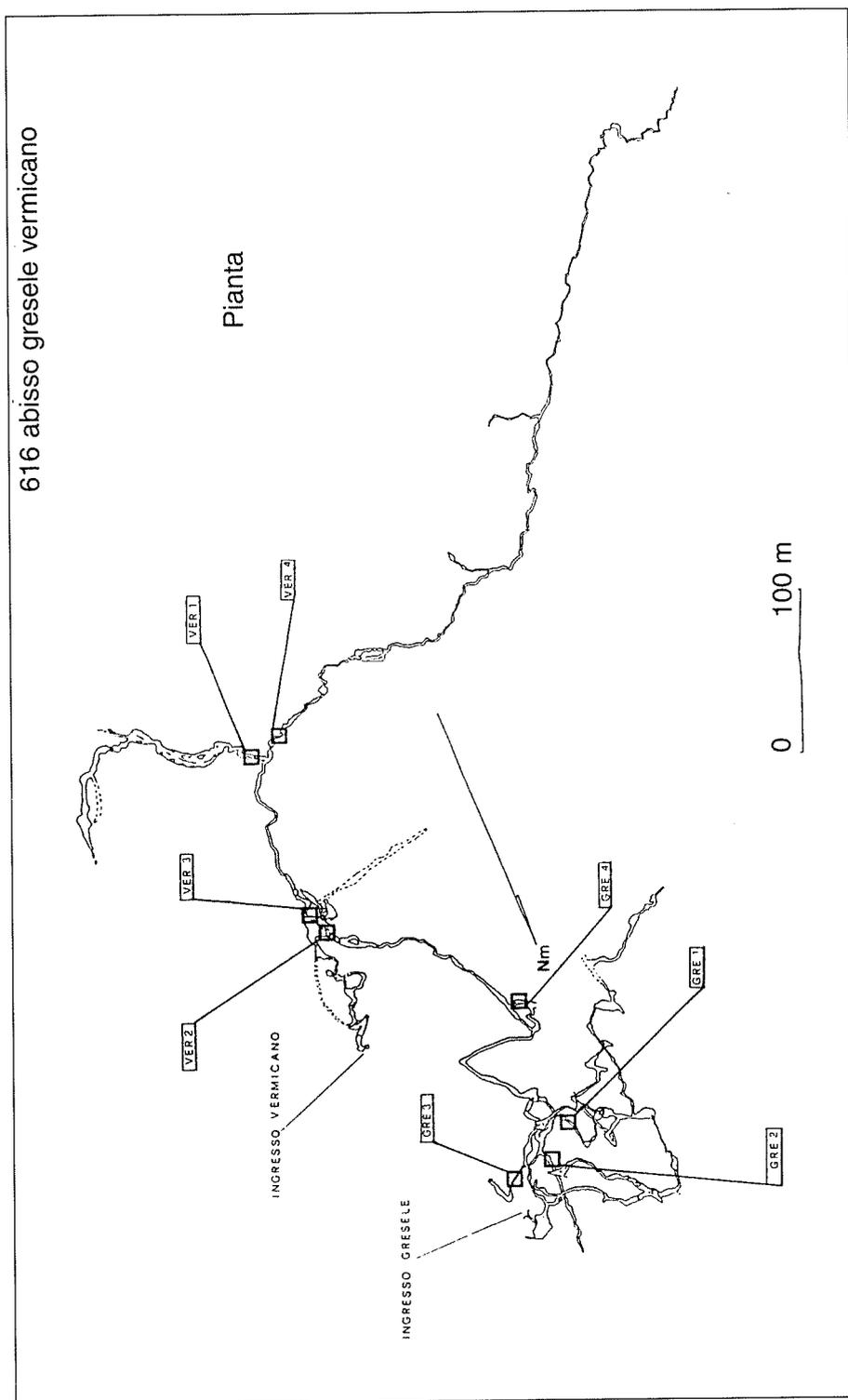


Fig. 2 - Localizzazione delle stazioni sotterranee di campionamento microbiologico.

Tabella 3 - Stazioni per campionamenti per le indagini eseguite secondo il metodo MPN

| Stazioni | data | Coli. tot | Coli. fec | Strepto. | Car. batt. 37° C | Car. batt. 20° C |
|--|--|---|--|---|---|--|
| F1,F2 h | 21.01.91 21.01.91 | 3 8 | 0 0 | 1 0 | no no | no no |
| Grotta Ver2 Ver1 c a k F2 h 9 4A | 01.02.92 01.02.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 | 24 1 0 1 1 0 8 1 13 | 13 0 0 0 0 0 0 0 0 | 1 0 0 0 0 0 1 1 0 | ~200 12 4 6 6 7/4 6 4 8 | >200 10 8 12 6 8 10 6 28 |
| Grotta Gre1 Gre2 Gre3 Gre4 Ver2 Ver3 Ver1 | 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 23.03.91 | 5 5 3 3 5 8 0 | 3 3 0 0 0 0 0 | 1 0 0 1 1 0 1 | 8 18 7/24 10 146 4 4 | 110 42 208 32 500 20 16 |
| F1,F2 9 V2 Rio | 07.03.92 07.03.92 02.03.92 02.03.92 | 1 0 3 5 | 1 0 1 3 | 0 0 1 1 | 18 12 42 36 | 6 8 96 246 |
| Grotta Gre1 Gre2 Gre3 Gre4 Ver2 Ver3 Ver1 Ver4 | 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 07.03.92 | 1 1 5 3 11 3 8 1 | 0 1 3 3 1 3 5 1 | 0 0 1 0 1 1 1 0 | 12 26 186 8 80 132 14 20 | 30 84 408 16 84 280 22 14 |
| F1,F2 9 V2 Rio c a Tro | 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 | 1 1 1 1 0 0 1 | 0 1 0 0 0 0 1 | 1 1 1 0 0 0 1 | 300 14 22 128 16 10 18 | 300 70 90 148 48 56 136 |
| Grotta Gre1 Gre3 Ver1 Ver2 Ver3 Ver4 | 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 | 24 3 3 31 17 3 | 0 0 0 1 1 0 0 | 1 0 1 1 0 0 0 | 104 182 14 >300 140 >300 | >300 >300 112 >300 >300 >300 |
| F1,F2 9 h | 10.11.92 10.06.92 10.06.92 | 0 1 3 | 0 0 0 | 0 1 1 | 10 8 10 | 34 16 32 |
| Grotta Gre1 Gre3 Ver1 Ver2 Ver3 | 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 10.06.92 | 5 13 5 1 1 | 3 1 2 3 1 | 1 1 0 0 1 | 142 96 46 >300 >300 | >300 180 54 >300 >300 |

Tabella 4 - Indice sintetico di contaminazione ottenuto, per ogni stazione di campionamento, dalla media di tutti i parametri che superano la soglia consentita.

| Stazioni | gen.91 | mar.91 | nov.91 | mar.92 | giu.92 | nov.92 | media |
|----------|---------|----------|--------|---------|----------|---------|-------|
| v2 | — | — | — | FSB1B2 | SPB1B2 | — | 4 |
| Gre1 | — | B1B2 | — | PB1 | TSPB1B2 | FSB1B2 | 3.2 |
| Gre3 | — | B1B2 | — | FSPB1B2 | B1B2 | TFSB1B2 | 3.5 |
| Ver2 | TFSB1B2 | SB1B2 | — | TFSB1 | TFSPB1B2 | FB1B2 | 4.2 |
| Ver3 | — | negativo | — | FSB1B2 | TFB1B2 | FSB1B2 | 3 |
| Ver1 | B1 | S | — | FSPB1 | SPB1B2 | FB1 | 2.4 |
| Rio | — | — | — | FSB1B2 | B1B2 | — | 3 |
| A | — | negativo | — | — | B1 | — | 0 |
| C | — | negativo | — | — | negativo | — | 0 |
| 4a | — | T | — | — | — | — | 1 |
| F1, F2 | TS | negativo | — | TFPB1 | TSPB1B2 | B1 | 2.4 |
| G | — | TS | — | B1 | TFSPB1 | B1 | 2.2 |
| H | T | TS | TFS | — | — | TS | 2 |
| Tro | — | — | — | — | FSPB1B2 | — | 5 |
| Url | — | — | TFB1B2 | — | — | — | 4 |

T = Coliformi totali; F = Coliformi fecali; S = Streptococchi; P = *Pseudomonas*;
B1 = Carica batterica 37°C; B2 = Carica batterica 22°C

di scorrimento delle acque sotterranee e le relazioni con le emergenze superficiali, ci permettono di trarre alcune importanti considerazioni conclusive.

Prima di tutto riferendosi alla normativa vigente sulle acque potabili, la maggior parte delle stazioni di campionamento sia superficiali che sotterranee sono risultate, almeno in uno dei periodi considerati, al di sopra dei valori guida per i diversi parametri indicatori di inquinamento. Solo il gruppo di sorgenti di Capocosa è risultato esente da contaminazione batterica. Questi stessi risultati possono essere dedotti dall'esame della Tabella 4, dove gli indici sintetici di inquinamento sono relativamente alti per tutte le stazioni saggiate e solo per le sorgenti di Capocosa hanno un valore pari a 0. Tuttavia è doveroso segnalare, almeno per quelle stazioni dove è stato possibile effettuare dei rilevamenti periodici, una certa fluttuazione dei valori di contaminazione. Ciò potrebbe essere correlato con la particolare struttura carsica del territorio costituita, come detto nell'introduzione, da zone di assorbimento in quota e da complessi tratti di scorrimento sotterraneo. Tali sistemi sono attivi e collegati con le emergenze superficiali in modo non costante e in concomitanza di fattori per ora solo ipotizzabili.

Una indicazione abbastanza chiara del rapporto diretto tra lo scorrimento sotterraneo del sistema Gresele-Vermicino, sicuramente in connessione con i bacini d'assorbimento in quota ed una emergenza superficiale, nella fattispecie la Sorgente di Caporelle gestita dal Comune di Guarcino (F1, F2), viene dalle prove di colorazione

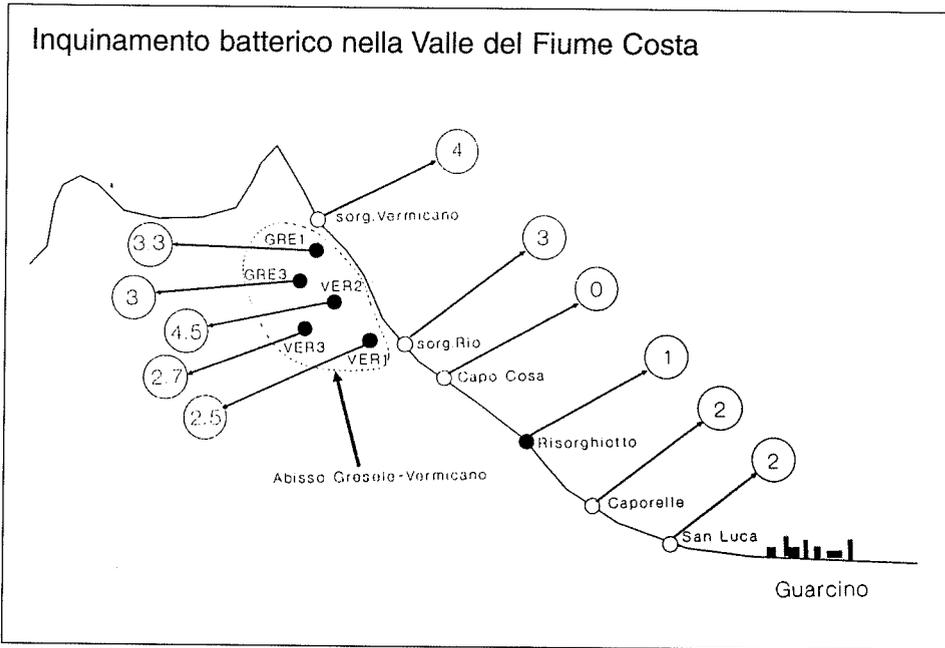


Fig. 3 - Valori dell'indice sintetico di inquinamento batterico riportato sul profilo altimetrico Campo Catino - Guarcino.

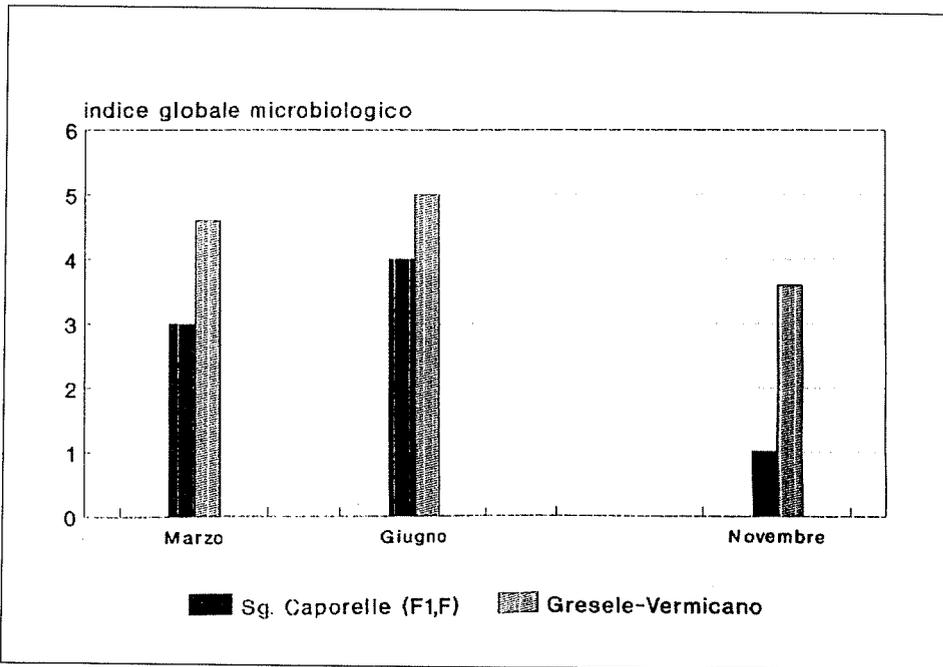


Fig. 4 - Confronto dei valori dell'indice sintetico di contaminazione batterica tra le Stazioni del Gresele-Vermicano e la Sorgente di Caporelle (Anno 1992).

eseguite con la fluorescina i cui risultati sono riportati nella sezione idrogeologica e speleologica.

Anche dal punto di vista microbiologico una certa relazione tra i valori di contaminazione dei tratti sotterranei e la sorgente di Caporelle può essere messa in evidenza. Nella figura 4 sono confrontati i valori sintetici di contaminazione per l'acqua del Gresele Vermicano e per la Sorgente di Caporelle. Risulta evidente dalla figura uno stesso andamento nel tempo degli indici di inquinamento batterico. All'aumentare o al diminuire di uno segue l'aumento o la diminuzione dell'altro. A sostegno di questa relazione inoltre sarebbe la frequente contaminazione da Streptococco, indice di inquinamento abbastanza recente, della Sorgente di Caporelle (2/4 campioni) che potrebbe essere spiegato con il flusso abbastanza rapido dell'acqua dal tratto sotterraneo alla emergenza superficiale stimato intorno alle ventiquattro ore.

Un comportamento analogo sembra esistere anche nella Sorgente di San Luca, stimolando così l'ipotesi di una sua connessione diretta con i punti di assorbimento in quota e lo scorrimento profondo.

Per quanto riguarda l'origine di questa contaminazione una chiara indicazione ci può venire dal rapporto tra i Coliformi e gli Streptococchi fecali che, secondo l'ipotesi di Gueldereich (1976; 1978), quando supera il valore 1 sembrerebbe indicare una chiara origine umana dell'inquinamento batterico. I nostri dati mostrano un valore medio di questo rapporto chiaramente superiore a 1, con punte di 13 per una stazione del tratto sotterraneo (Ver2 del 01/02/92), confermando così l'origine antropica della contaminazione.

Alla luce di questi primi risultati sulle indagini di valutazione microbiologica è sicuramente possibile concludere che, data la quasi costante positività per i diversi parametri microbiologici della maggior parte dei campioni saggiati, le riserve d'acqua di questa area dell'alto frusinate sono da ritenere altamente vulnerabili e quindi da sottoporre ad un continuo controllo microbiologico.

Per quanto riguarda le cause che possono essere invocate quale fonte di questa estesa e persistente contaminazione, due fondamentali considerazioni possono essere tratte dai nostri studi. La prima riguarda essenzialmente lo stato di sorveglianza e di igiene delle reti di distribuzione, impianti di captazione compresi, che spesso risultano inadeguati o insufficienti. Una seconda considerazione riguarda invece la connessione sperimentata tra le aree di assorbimento in quota individuabili in Campo Catino e le emergenze superficiali di Caporelle e forse di San Luca. Tale evidenza associata all'indicazione di origine umana delle contaminazioni permette di individuare negli insediamenti antropici, non serviti da corretti dispositivi di smaltimento dei rifiuti sia solidi che liquidi, posti al di sopra di una certa fascia altimetrica (1600 m s.l.m.) una sicura fonte di inquinamento tale da compromettere le importanti riserve di acqua che nei secoli hanno alimentato le popolazioni di tutta l'alta Ciociaria.

RIASSUNTO

Vengono riportati i risultati di un monitoraggio microbiologico delle acque sorgive e sotterranee dell'Alta valle del fiume Cosa eseguito negli anni 1991-92. Dai dati ottenuti emerge un quadro abbastanza complesso dello stato di contaminazione

da microrganismi sia delle sorgenti che dei tratti sotterranei saggiati (Abisso Gresele-Vermicano- Grotta del Risorghiotto). Il rapporto tra i diversi indici microbiologici sembrano inoltre confermare un'origine antropica della contaminazione.

SUMMARY

Results of a microbiological survey conducted on several springs and hypogean water from Cosa river valley (Monti Ernici, Latium, Italy) are reported. Data show a wide microbic contamination of springs and hypogean streams studied confirming its antropic origin.

BIBLIOGRAFIA

- Geldreich E.E. 1976. Fecal coliform and fecal streptococcus density relationships in waste discharges and receiving waters. *CRC Environ. Contr.* 6: 349-354.
- Geldreich E.E. 1978. Bacterial populations and indicator concepts in feces, sewage, stormwater and solid wastes. In : G. Berg (ed). *Indicators of Viruses in Water and Food*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor.
- IRSA-CNR:1979. *Metodi analitici per le acque*. Volume terzo.
- Volterra L. e C. Dal Cero. 1991. Gli indicatori microbiologici. *Biologi italiani*. 10: 37-38.

