

MARIA TERESA MONTAGNA<sup>1</sup>

**Indagini micologiche in alcune  
grotte della murgia barese e del territorio salentino:  
risultati preliminari**

**Introduzione**

Negli ultimi anni si è verificato un incremento delle attività speleologiche, favorendo un maggiore interesse per la *biospeleologia*. Questa scienza ha compiuto numerosi progressi per ciò che attiene la conoscenza e lo studio delle forme di vita superiore, mentre molto vi è ancora da indagare nel campo della microbiologia ipogea. Studi e ricerche in tal senso sono state condotte sui microrganismi chemiolitotrofi, coinvolti in importanti fenomeni di modificazione geomorfologica degli ambienti ipogei (geomicrobiologia), e sui microrganismi patogeni per l'uomo, verso i quali l'attenzione si è concentrata per il registrato aumento di particolari patologie riscontrate in alcuni speleologi.

In particolare, sulle infezioni micotiche correlate agli ambienti cavernicoli i dati sono ancora insufficienti nel nostro Paese e, in ogni caso, remoti e limitati ad alcune regioni. Negli ultimi anni, invece, si è molto discusso sulla presenza di *Cryptococcus neoformans* (CN) nell'ambiente (2,3,4,5). Ricerche recenti hanno documentato la presenza di CN var. *neoformans* e var. *gattii* in aree della nostra Regione frequentate da *Columba livia* e/o animali esotici, e ricoperte da alberi di *Eucalyptus camaldulensis* (6,7,8).

Dato il numero limitato di tali reperti e poiché la Puglia è una regione ricca di cavità naturali di origine carsica, abbiamo voluto estendere le nostre indagini anche negli ambienti ipogei, allo scopo di verificare se anche l'ambiente sotterraneo frequentato da piccioni, chirotteri e altri animali, così come quello esterno, può rappresentare un serbatoio naturale per *Cryptococcus neoformans* e, quindi, una possibile fonte di infezione per gli speleologi.

**Descrizione degli ipogei esaminati.**

La Puglia è una regione ricca di ipogei distribuiti sia nel retroterra che lungo la costa. All'interno delle grotte, i parametri climatici (temperatura, umidità, pressione) appaiono generalmente costanti nel corso dell'anno con leggere

---

<sup>1</sup> Professore Ordinario di Igiene - Sezione di Igiene - Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica - Università di Bari.

variazioni legate alla conformazione della grotta, soprattutto nel caso di ambienti che hanno maggiori possibilità di scambio con l'esterno.

Le condizioni di luminosità sono molto scarse e limitate solo alle zone di immediata vicinanza con l'esterno. Nel caso di pozzi con ampie aperture, le condizioni di illuminazione nel loro complesso sono migliori, mentre sono praticamente assenti nel caso di grotte completamente chiuse o che presentino un grande sviluppo in lunghezza e profondità.

Per quanto riguarda la popolazione animale, è possibile trovare fauna *troglobia* (propria delle cavità ipogee che ha subito un particolare adattamento evolutivo e la cui vita è possibile solo all'interno delle grotte), *troglofila* (animali che normalmente vivono nell'ambiente esterno ma che possono adattarsi alla vita ipogea o in forma occasionale o impiantandosi in maniera definitiva) e *troglossena* (animali che sono estranei agli ambienti ipogei e la cui presenza nelle grotte è da considerarsi del tutto accidentale). Si tratta di dati estremamente variabili sia da un punto di vista qualitativo che quantitativo. In particolare, per ciò che riguarda la presenza di pipistrelli, animali troglofili per eccellenza, vi è da segnalare come questi mammiferi in alcune grotte abbiano assunto dimora stabile da tempo, mentre in altre vi è solo testimonianza della loro presenza nel passato segnalata dai cospicui depositi di guano fossile. In numerose grotte sia della murgia che del salento è da tempo segnalata la presenza di colombi (*Columba livia*) che popolano questi ambienti in maniera ormai quasi stabile comportandosi come veri e propri *troglofili*, e talvolta determinando anche fenomeni di competizione nei confronti dei chiroteri.

Nelle grotte in esame è stata riscontrata la presenza di diversi volatili fra cui anche rapaci ed uccelli notturni, dedotta direttamente oppure per la presenza di tipici escrementi. In alcuni casi sono stati segnalati topi anche di grossa taglia e probabilmente collegati alla presenza di rifiuti organici (carogne di animali).

Alcune grotte sono caratterizzate dalla presenza di raccolte d'acqua più o meno consistenti, permanenti o periodiche; solo una di queste si presenta come una grotta attiva, soggetta a fenomeni di piene stagionali con aspetti idrologici di particolare rilievo.

Alcune delle grotte esaminate hanno presentato anche un particolare grado di inquinamento antropico, per la presenza di diversissime tipologie di rifiuti che vanno da residuati bellici, alle carogne di animali di piccola e grossa taglia, ai rifiuti ospedalieri, plastica e piombo, copertoni di gomma e carcasse di veicoli, soprattutto nelle grotte della murgia barese, mentre in altri casi l'inquinamento antropico è risultato scarso o completamente assente.

## **Materiali e Metodi.**

In provincia di Bari lo studio è stato orientato verso ambienti ipogei del territorio murgiano non turistici e frequentati da fauna *troglofila* e *troglossena* (piccioni,

pipistrelli, rettili, volpi e piccoli roditori), animali notoriamente portatori di microrganismi patogeni. Sono state selezionate 9 grotte, situate nel territorio della murgia barese ad una altitudine compresa tra 370 e 630 metri sul livello del mare. Si tratta di cavità naturali di origine carsica formatesi all'interno di rocce carbonatiche (calcare), di cui 5 a sviluppo prevalentemente verticale, e 4 grotte a sviluppo superficiale e ad andamento per lo più orizzontale.

Complessivamente sono stati eseguiti 321 prelievi, di cui 228 terreno e/o fango, 13 guano fresco o secco, 11 acqua di percolazione o di raccolta, 13 materiale organico in decomposizione (vegetale o animale).

In provincia di Lecce sono stati presi in esame 16 ambienti ipogei del territorio salentino, prettamente non turistici, ad eccezione della *Grotta della Zinzulusa* (Fig. 1). La maggior parte di queste grotte presentano notevole interesse paleontologico e paleontologico per le numerose testimonianze archeologiche relative alla loro antichissima frequentazione antropica. Le grotte in esame sono popolate da fauna *troglofila* e *troglossena* (chiroterri, uccelli, micromammiferi) e presentano nella maggior parte cospicui depositi di guano.

Complessivamente sono stati eseguiti 224 prelievi, di cui 183 feci di origine animale e 41 di diversa natura (terreno interno e esterno alle grotte, detriti).

Ogni grotta è stata campionata una volta, ad eccezione della grotta di *Mezzoprete* (Altamura-Ba) dove il campionamento è stato ripetuto tre volte (Fig. 2).

Le indagini sono state condotte insemenzando il materiale su terreno *GACA*



Fig 1 - Grotta della Zinzulusa - Castro (Le).



Fig. 2 - Grotta di Mezzoprete - Altamura (Ba).



Fig. 3 - Piastre di cultura con isolamento del CN var. *Neoformans*.

(Guizotia Abyssinica Creatinine Agar) (9) e incubando le piastre per 5-7 gg. a 30 °C (Fig. 3). Le colonie sospette sono state identificate, previa colorazione specifica, impiegando le metodiche standard (1).

## **Risultati.**

La tabella 1 riporta i risultati micologici ed i valori medi delle condizioni climatiche rilevate al momento del campionamento nelle 9 grotte della murgia barese. Le grotte esaminate presentavano uno sviluppo in profondità (dislivello totale) compreso tra -6m e -235m, con uno sviluppo orizzontale di lunghezza variabile. La temperatura è risultata compresa tra 11,7 °C e 16,5 °C, l'umidità relativa tra 70% e 90%.

Lieviti appartenenti al genere *Cryptococcus* sono stati evidenziati in 4 campioni (1,2%) provenienti da 3 grotte. Due campioni di guano di pipistrello sono risultati positivi rispettivamente per *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. laurentii*, due campioni di terreno rispettivamente per *C. neoformans* var. *neoformans* e *C. albidus*, un campione di feci di volpe per *C. neoformans* var. *neoformans*.

La tabella 2 riporta i valori medi delle condizioni climatiche rilevate al momento del campionamento nelle 16 grotte del territorio salentino.

Le grotte esaminate, ad andamento prevalentemente orizzontale, non presentano né un grande sviluppo planimetrico, né in profondità. Alcune di esse si aprono su falesie marine, mentre altre grotte hanno l'imbocco situato ad una altitudine che non supera i 160 metri sul livello del mare. La temperatura è risultata compresa tra 9 °C e 23 °C, l'umidità relativa tra 59% e 80%.

Lieviti appartenenti alla specie *Cryptococcus laurentii* sono stati evidenziati in un solo campione (0,4%) di feci di *Columba livia*.

## **Considerazioni e Conclusioni.**

I dati finora ottenuti sulla contaminazione micotica degli ambienti ipogei sono ancora molto scarsi per ritenere questo ambiente una possibile fonte di infezione. Finora in Italia, *C. neoformans* è stato isolato da habitat e animali non cavernicoli, mai da pipistrelli o da ambienti sotterranei.

La grotta di *Mezzoprete* (murgia barese), invece, ha rivelato una vasta popolazione di colombi (*Columba livia*) e passeri. Si tratta di numerosi esemplari che popolano stabilmente la grotta con stagionali variazioni numeriche, il cui ultimo censimento ha messo in evidenza almeno 100 esemplari adulti. Essi mostrano una particolare affinità per questo ambiente, tanto da riprodursi al loro interno ove è stata riscontrata una grande quantità di nidi con uova ancora intere o appena schiuse (Fig. 4-5-6). La loro massiccia presenza ha probabilmente determinato l'estromissione dei pipistrelli un tempo sicuramente residenti come dimostrato dai depositi di guano fossile e da numerosi resti ossei.

DENOMINAZIONE GROTTA	TERRITORIO	ALTT. (slm)	TEMP.	UMID. RELAT.	LUCE	SPECIE ISOLATA
<i>Foiba Anelli</i>	Gravina	600m	12,5 °C	70%	scarsa	
<i>Lamalunga</i>	Altamura	460m	16,5 °C	89%	assente	
<i>Mezzoprete</i>	Altamura	400m	15,5 °C	81%	scarsa	<i>CN var. neoformans</i>
<i>Castel del monte</i>	Andria	520m	14,5 °C	75%	scarsa	
<i>Inghiottoio del Pulo</i>	Altamura	400m	14,0 °C	89%	assente	
<i>Pasciuddo</i>	Cassano	305m	12,5 °C	91%	assente	
<i>Faraualla</i>	Gravina	630m	12,5 °C	90%	assente	
<i>Spinale di Porco</i>	Gravina	625m	11,7 °C	80%	scarsa	<i>C. laurentii</i>
<i>Cortomartino</i>	Acquaviva	377m	13,1 °C	72%	scarsa	<i>C. albidus</i> <i>CN var. neoformans</i>

Tabella 1

DENOMINAZIONE GROTTA	TERRITORIO	ALTT. (slm)	TEMP.	UMID. RELAT.	LUCE
<i>Inghiottoio Leptospira</i>	Surano	97m	19°C	78%	presente
<i>Vora Nuova Spedicaturo</i>	Nociglia	99m	20°C	79%	presente
<i>Vora Grande Spedicaturo</i>	Surano	99m	20°C	73%	presente
<i>Grotta Lea</i>	Nardò	0m	23°C	70%	assente
<i>Vora di Vitigliano</i>		N.R.	19°C	73%	assente
<i>Vora di Supersano</i>	Supersano	N.R.	18°C	72%	scarsa
<i>Grotta delle Croci</i>	S. Cesarea T.	N.R.	19°C	77%	assente
<i>Grotta Antonietta</i>	Presicce	157m	20°C	80%	assente
<i>Cav. delle ossa di Punta Ristola</i>	Castrignano del Capo	0m	20°C	67%	scarsa
<i>Grotta Artanisi</i>		N.R.	17°C	73%	assente
<i>La Grava</i>	Avetrana	N.R.	15°C	71%	presente
<i>Grotta Grande del Ciolo</i>	Gagliano del Capo	0m	15°C	59%	scarsa
<i>Grotta della Zinzulusa</i>	Castro	0m	12°C	62%	presente
<i>Grotta della Poesia Grande</i>	Melendugno	N.R.	10°C	65%	scarsa
<i>Vora piccola di Barbarano</i>	Morciano di Leuca	126m	9°C	73%	scarsa
<i>Vora piccola di Barbarano</i>	Morciano di Leuca	126m	22°C	66%	presente

Tabella 2

Il primo campionamento effettuato in questa grotta è risultato molto ricco di lieviti, per cui si è voluto ampliare il numero dei prelievi, tenendo conto dei diversi strati di guano depositato e considerando che quello profondo è costituito prevalentemente da feci di pipistrello. Sono stati isolati numerosi lieviti per lo più dagli strati meno profondi. *Cryptococcus neoformans* è apparso ampiamente rappresentato, il che ci consente di confermare che colombi e passeri possono costituire un serbatoio naturale di questo lievito anche in ambienti sotterranei che presentano un microhabitat diverso da quello superficiale.

Alla luce di questi primi risultati e tenendo conto di quelli finora ottenuti nelle diverse aree pugliesi esaminate, risultano necessarie ricerche più ampie e puntuali per chiarire i problemi connessi alla diffusione di *C. neoformans* in Italia. Sarebbe opportuno esaminare in dettaglio i differenti micro-habitat terrestri (superficiali e non), correlarli con i fattori climatici e ambientali sì da spiegare la sopravvivenza o la riproduzione nel nostro Paese di ceppi anche rari (10).



Fig. 4-5-6 - Grotta di Mezzoprete. Nidi di colombi con uova ancora intere o appena schiuse.

## Bibliografia

1. Barnett JA, Payne RW, Yarrow D (1990)  
Yeasts: characteristics and identification.  
Cambridge: Cambridge University Press
2. Ellis DH, Pfeiffer TS (1990)  
Natural habitat of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*  
J. Clin Microbiol, 28: 1642-1644
3. Gallo MG, Calari C, Gemello L (1990)  
Uccelli sinantropici come vettori di lieviti potenzialmente patogeni per la città di Torino.  
Microbiologia Medica, 5: 78-80

4. Griseo G, Gallo M (1997)  
Serotyping of *Cryptococcus neoformans* isolates from environmental and clinical sources in extreme southern Italy (Calabria and Sicily, central Mediterranean area).  
*Mycoses*, 40: 95-100
5. Griseo G, Messina S, Chinermi G (1992)  
Habitat naturali di *C.neoformans* nei centri urbani di Messina e Reggio Calabria: studio sulla presenza di *Cryptococcus neoformans* var. *gattii*.  
1° Congr Naz FIMUA, Firenze 26-28 novembre 1992
6. Montagna MT, Mele MS, De Donno A, Marcuccio C, Pulito A (1996)  
Criptococcosi e AIDS. Nota I. Indagini sulla diffusione di *Cryptococcus neoformans* nelle città di Bari e Lecce.  
*Rivista Italiana di Igiene*, 56: 69-77
7. Montagna MT, Tortorano AM, Fiore L, Viviani MA, Barbuti S (1996)  
First isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in Apulia, Italy  
Atti 3° Congr Internaz “*Cryptococcus & Cryptococcosis*”, Parafi 22-26 settembre 1996
8. Montagna MT, Viviani MA, Pulito A, Aralla C, Tortorano AM, Fiore L, Barbuti S (1997)  
*Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in Italia. Note II. Environmental investigation related to an autochthonous clinical case in Apulia.  
*J Mycol Med*, 7: 93-96
9. Staib F, Seeliger HPR (1966)  
Un nouveau milieu sélectif pour l'isolement de *Cryptococcus neoformans* des matières fécales et du sol.  
*Ann Inst Pasteur*, 110: 792-793
10. Viviani MA, Esposito MC, Cogliati M, Montagna MT, Wickes BL (2001)  
Isolation of a *Cryptococcus neoformans* serotype A MATa strain from the Italian environment.  
*Medical Mycology* 39: 383-386 “