

INAIL

“Biotecnologie: Ricerca e Produzioni Industriali”



Immagine grafica di Nicolas Bouvier

Corso di formazione per gli studenti del IV e V anno

Roma, 14 Marzo 2013

Atti del Corso a cura della Dott.ssa Elena Sturchio.

Progetto CCM 2011 finanziato dal Ministero della Salute: Promozione della sicurezza nei laboratori che fanno uso di microrganismi geneticamente modificati.

Pubblicazione realizzata da

Ricerca

INAIL

Settore Ricerca Certificazione e Verifica, Dipartimento installazioni di produzione ed Insedimenti antropici

COORDINAMENTO SCIENTIFICO

Elena Sturchio

AUTORI

Laura Casorri¹, Barbara Ficociello¹, Eva Masciarelli¹.

¹ INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica, Dipartimento installazioni di produzione ed Insedimenti antropici (DIPIA).

PER INFORMAZIONI

INAIL, Dipartimento installazioni di produzione ed Insedimenti antropici

Via Alessandria, 220/E

00198 Roma

Tel +39 06 97892614 - +39 06 97892661

e.struchio@inail.it

www.inail.it

INTRODUZIONE

Referente Scientifico del Progetto CCM

Dott.ssa Elena Sturchio

Nell'ambito delle attività relative al Progetto CCM 2011 finanziato dal Ministero della Salute dal titolo "Promozione della Sicurezza nei laboratori che fanno uso di Microrganismi Geneticamente Modificati" è stato realizzato un Corso sulle Biotecnologie per gli studenti degli Istituti di Istruzione Secondaria Superiore, al fine di realizzare una corretta politica di comunicazione dei risultati scientifici raggiunti nel settore. Il corso nasce infatti dall'esigenza di valorizzare e incentivare il notevole sforzo svolto dall'Europa ed anche dall'Italia, nel settore biotech. Le applicazioni in campo biomedico rappresentano l'ambito nel quale le biotecnologie hanno dato finora il contributo più significativo, sia in termini di prodotti (terapeutici, vaccini e diagnostici), sia nell'ambito della ricerca e dello sviluppo. Inoltre le aziende che utilizzano il biotech in campo agroalimentare e industriale sono in crescita, a conferma delle ampie potenzialità applicative di queste tecnologie.

Nel nostro paese le biotecnologie, in particolare quelle applicate all'agricoltura, sono da sempre oggetto di un acceso dibattito tra opinione pubblica, mondo della ricerca e istituzioni, spesso non basato su evidenze scientifiche ma su argomentazioni esclusivamente ideologiche ed emozionali prive di verifiche sperimentali. Poiché, per esprimere un'opinione e fare scelte consapevoli occorrono una corretta informazione e opportuni strumenti cognitivi, obiettivo del Corso è stato quello di fornire una panoramica sui diversi aspetti riguardanti le biotecnologie utile ai docenti ad elaborare una corretta visione sull'argomento.

Il progetto nasce dall'esperienza di un gruppo di ricercatori INAIL, che in collaborazione con diverse istituzioni governative, ha realizzato una serie di attività incentrate sulla divulgazione e sulla cultura della sicurezza, con particolare riguardo ai giovani che si affacciano al mondo del lavoro.

Queste attività sono maturate nel DIPIA in piena aderenza alle politiche INAIL di prevenzione e divulgazione, nella particolare e attuale prospettiva di avvicinamento dei giovani al mondo della Ricerca, finalizzate all'acquisizione di competenze e alla maturazione di sensibilità culturale sulla sicurezza, grazie a un rapporto diretto con i tecnici e gli esperti del settore e alla proposta di contenuti specialistici, attraverso un linguaggio comprensibile, esauriente e completo, che si avvalga di moderne strategie di divulgazione.

“Biotecnologie: Ricerca e Produzioni Industriali”

Roma, 14 Marzo 2013

PROGRAMMA DEL CORSO

- 9.30** **Introduzione al concetto di biotecnologie (mediche, ambientali, agroalimentari)**
Dott.ssa Elena Sturchio INAIL, Direttore del Corso
- 10.00** **Aggiornamenti in tema di Biotecnologie (Epigenetica e microRNA).**
Dott.ssa Miriam Zanellato
- 10.30** **Pausa**
- 10.45** **Prevenzione e sicurezza a partire dall'impiego delle biotecnologie nei laboratori (MOGM) fino alle sue applicazioni cliniche (vaccini).**
Dott.ssa Barbara Ficociello
- 11.15** **OGM e rilascio deliberato nell'ambiente.**
Dott.ssa Laura Nicolini
- 11.45** **Pausa**
- 12.00** **L'agricoltura sostenibile, possibile alternativa all'agricoltura convenzionale e alle agrobiotecnologie**
Dott.ssa Laura Casorri
- Test finale e questionario di gradimento.**
- Consegna degli attestati agli studenti.**

RELATORI

Elena Sturchio

INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica (DIPIA)

Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

e.sturchio@inail.it

Barbara Ficociello

INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica (DIPIA)

Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

b.ficociello@inail.it

Miriam Zanellato

INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica (DIPIA)

Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

m.zanellato@inail.it

Laura Nicolini

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

Direttore Settore Biologico

Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.

laura.nicolini@iss.it

Laura Casorri

INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica (DIPIA)

Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

l.casorri@inail.it

DIRETTORE DEL CORSO

Elena Sturchio, INAIL – Settore Ricerca, Certificazione e Verifica, DIPIA

SEGRETERIA SCIENTIFICA

Elena Sturchio, INAIL– Settore Ricerca, Certificazione e Verifica, DIPIA

Claudia Meconi, INAIL – Settore Ricerca, Certificazione e Verifica, DIPIA

Priscilla Boccia, INAIL – Settore Ricerca, Certificazione e Verifica, DIPIA

SEGRETERIA ORGANIZZATIVA

Pier Francesco Benvenuto, INAIL, Direttore Ufficio Amm.vo Gestionale DPO

Chiara Varese, INAIL, Unità Amministrativa-Gestionale DPO

Patrizia Di Stefano, INAIL, Settore Ricerca, Certificazione e Verifica, DCC

CLASSI CHE HANNO PARTECIPATO AL CORSO

IIIAC - settore Industria del Nuovo Ordinamento

IVAC - indirizzo chimico-biologico

VIBC - indirizzo chimico-biologico

VAC - indirizzo chimico-biologico

VBC - indirizzo chimico-biologico.

DOCENTI

Patrizia Belloni

Ascensina Evangelista

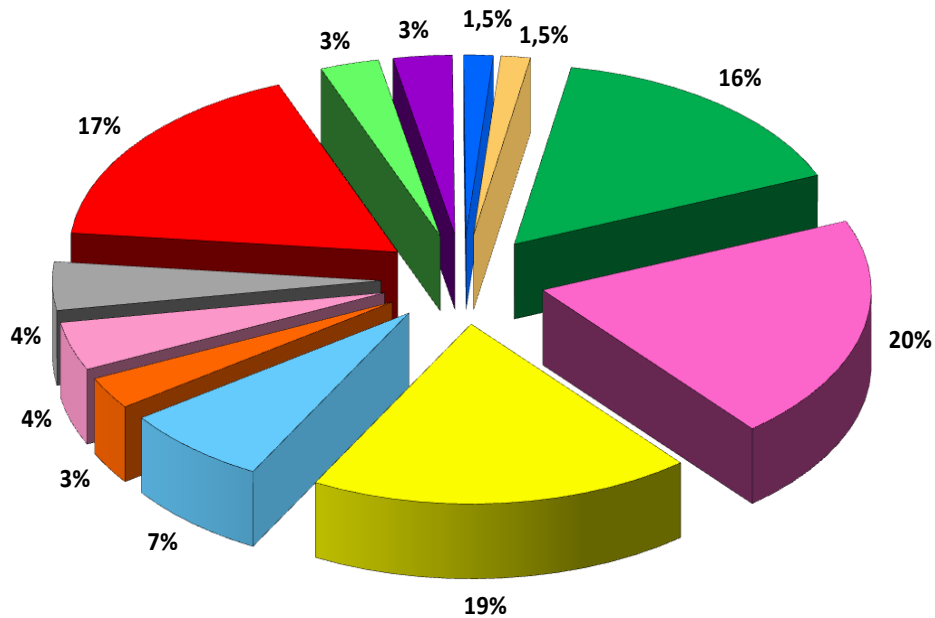
Andrea Mercuri

Alberto Russo

Stefania Stabile

Istituto di Istruzione Superiore “ARMANDO DIAZ” – ROMA

QUESTIONARIO DI GRADIMENTO



- Approfondimento sulla tematica OGM
- Approfondimento sull'Epigenetica
- Nessun suggerimento
- Durata del corso più breve
- Miglioramento di alcuni aspetti trattati
- Miglioramento dell'aspetto grafico
- Noioso
- Piena soddisfazione
- Approfondimento sul DNA
- Approfondimento Vaccini e sistema immunitario
- Approfondimento tecniche alternative alla sperimentazione sugli animali
- Utilizzo di video durante la spiegazione

Approfondimento in tema di vaccini

VACCINI

Dott.ssa Barbara Ficociello¹

Dott.ssa Laura Casorri¹

Dott.ssa Eva Masciarelli¹

¹ INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica, DIPIA, Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

La rivoluzione biotecnologica

“Le biotecnologie diventeranno parte della lotta globale contro la povertà, la fame, le malattie ed il sottosviluppo, che hanno un effetto diretto sulla scolarizzazione, la mortalità infantile, la salute delle madri e sulla libertà associata ad un decente livello di vita..... Non è in discussione se le biotecnologie manterranno le loro promesse, ma solo come le promesse delle biotecnologie verranno condivise”.

(K. A. ANNAN Segretario Generale delle Nazioni Unite. **2003**)

Le biotecnologie costituiscono un insieme di metodiche che trovano applicazione in vari settori industriali ed economici e trovano crescente applicazione in diversi comparti industriali e settori definiti come:

- ✓ **green biotech** (biotecnologie agroalimentari),

- ✓ **white biotech** (biotecnologie industriali)

- ✓ **red biotech** (biotecnologie applicate alla salute umana) (Figura 1).

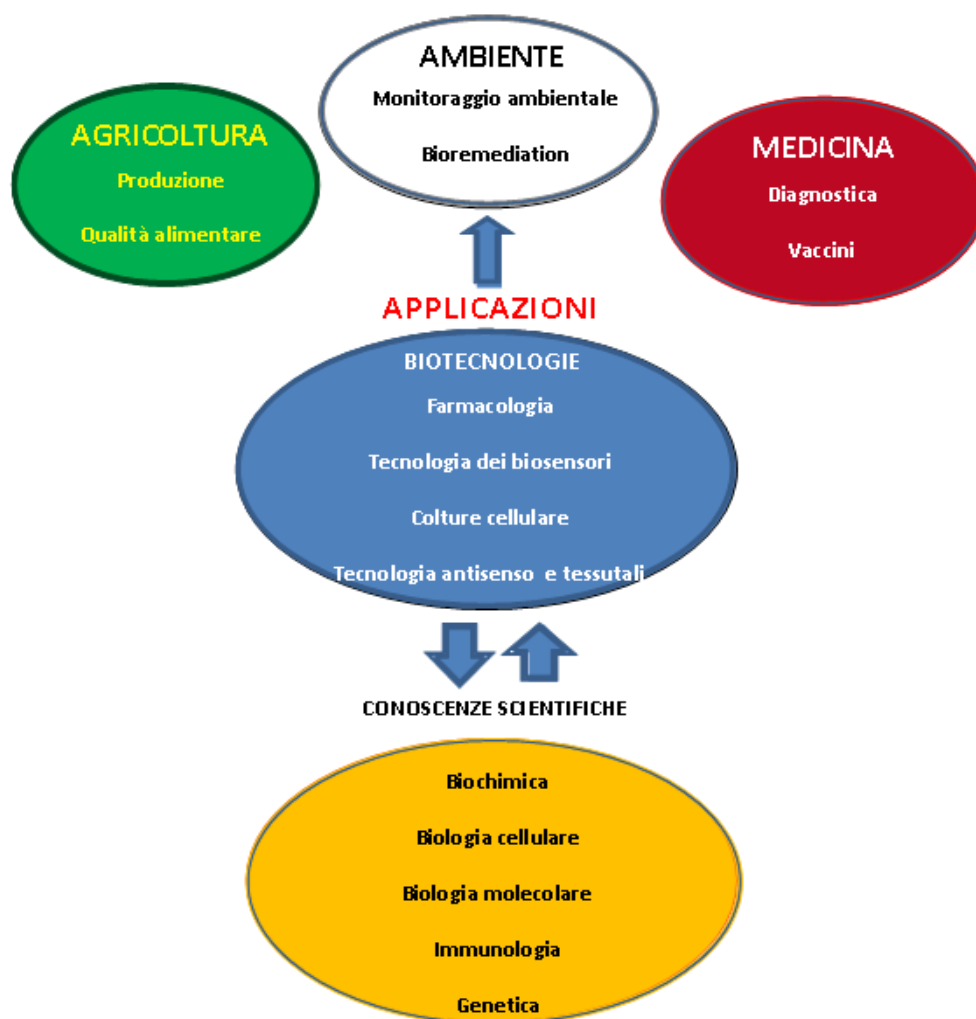


Figura 1. Relazione tra conoscenze scientifiche, biotecnologie e loro applicazioni.
 Fonte: H. Kreuzer, A. Massey. Recombinant DNA and Biotechnology. 2010. ASM Press Washington, D.C.

In particolare il red biotech rappresenta il settore più rilevante e maggiormente sviluppato con diversi campi di applicazione mirati alla salute e al benessere dell'uomo come:

Terapeutico



L'ottimizzazione e lo sviluppo di molecole innovative per la realizzazione di nuovi farmaci assume un'importanza fondamentale e le biotecnologie rappresentano validi strumenti per diversi approcci terapeutici:

✓ *Biologici*

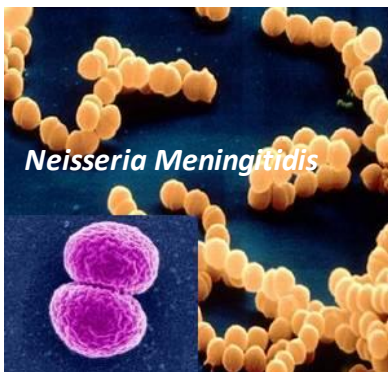
- Farmaci prodotti mediante la tecnologia del DNA ricombinante (ormone della crescita, eritropoietina, fattori coinvolti nei processi della coagulazione del sangue (fattori VII, VIII, IX), interferoni)
 - molecole ibride (es. vaccini coniugati)
 - anticorpi monoclonali
- ✓ *Composti a basso peso molecolare*
Composti organici di sintesi chimica di piccola massa molecolare
 - ✓ *Prodotti per terapie avanzate*
Comprendono la terapia genica, cellulare e tissutale; prevedono l'uso di geni, cellule o porzioni di tessuto manipolati in laboratorio per adattarli e renderli adeguati al trattamento di specifiche malattie.
 - ✓ *Drug delivery*
Tecnologie utilizzate per veicolare farmaci in uno specifico sito grazie all'ottimizzazione del loro assorbimento e della loro distribuzione.
 - ✓ *Drug discovery*
Tecnologie utilizzate per la sintesi, l'ottimizzazione, la caratterizzazione e la validazione di farmaci, lo sviluppo di saggi per attività di screening.

Diagnostica molecolare

La diagnostica molecolare è il settore **red biotech** che sta maggiormente beneficiando delle applicazioni biotecnologiche, portando allo sviluppo di nuovi metodi e dispositivi di analisi, derivanti dalla biologia molecolare, dall'immunochimica, dalla genetica e dalle nanotecnologie. La diagnostica molecolare permette non solo una diagnosi rapida e tempestiva, indubbio beneficio per il paziente, ma spesso delle difficoltà. Infatti, se è possibile identificare il pericolo biologico monitorando la presenza di uno o più agenti biologici in un ambiente di lavoro, è invece più complesso effettuare una valutazione del rischio poiché legata a diversi fattori come l'entità dell'esposizione, la tipologia di agente biologico, la capacità infettante, la suscettibilità individuale dell'operatore esposto. Inoltre per la valutazione del rischio biologico non vi è un consenso concorde sulle metodologie di valutazione dell'esposizione ad agenti biologici, delle valutazioni di dose-effetto e dei relativi valori limite espositivi della maggior parte degli agenti biologici correlati al rischio occupazionale. A tal proposito le applicazioni biotecnologiche presentano procedure operative che possono costituire dei validi metodi di prevenzione,



riducendo i fattori di rischio. Ad esempio, la tecnologia del DNA ricombinante ha reso possibile lo sviluppo e la produzione su larga scala del vaccino contro il virus dell'epatite B senza l'utilizzo di elevate quantità di siero proveniente da portatori sani del virus, oppure di poter realizzare un microrganismo geneticamente modificato di agenti infettivi con ridotta infettività e capacità replicativa. La genomica ha permesso la scoperta di nuovi antigeni attraverso l'approccio della reverse vaccinology e reso possibile lo sviluppo di un vaccino contro la *Neisseria meningitidis* di gruppo B riducendo il rischio derivato dalla coltivazione del batterio in vitro.



Biotechnologie nella produzione di vaccini

Le biotecnologie negli ultimi anni hanno trovato un'ampia applicazione nella ricerca e produzione dei vaccini e hanno permesso di realizzare nuove produzioni sia di vaccini già in uso sia di vaccini innovativi con scopi terapeutici e di profilassi.

Prima di tutto un po' di Immunologia!!!

Il tema dei vaccini e della loro produzione richiede una breve introduzione su alcuni concetti di immunologia.

Cos'è il sistema immunitario?

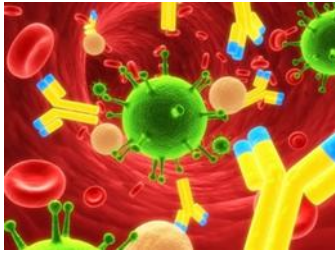
Il sistema immunitario rappresenta un complesso ed importante meccanismo, costituito da un insieme di molecole e di cellule il cui ruolo è quello di proteggere l'organismo contro agenti patogeni, (parassiti, batteri, virus, funghi), cellule neoplastiche e sostanze tossiche grazie alla capacità di riconoscere, distinguere ed eliminare elementi estranei all'organismo (Figura 2).



Figura 2. Agenti o molecole con cui il sistema immunitario può interagire.

Come avviene il meccanismo di difesa??

Il compito del sistema immunitario è di *attivare una risposta immunitaria* che consiste



nel riconoscere un agente estraneo giudicandolo come “diverso” dalle molecole o cellule presenti nell’organismo e di conservare la *memoria dell’avvenuto contatto*, per intervenire in modo rapido ed efficiente ad un secondo incontro col medesimo agente (Figura 3).

Le risposte immunitarie sono classificate in:

1. *Risposta immune di tipo umorale*

Attivata da antigeni esogeni (batteri, virus, miceti o loro prodotti). Prevede la produzione di anticorpi e la cooperazione di particolari cellule (linfociti B, macrofagi e alcuni linfociti T/helper) che agiscono per eliminare l’agente estraneo.

2. *Risposta immune di tipo cellulo-mediata*

Attivata da antigeni endogeni (antigeni presenti all’interno di una cellula) è affidata a specifici linfociti T/citotossici che agiscono sulla cellula infetta, causandone la distruzione.

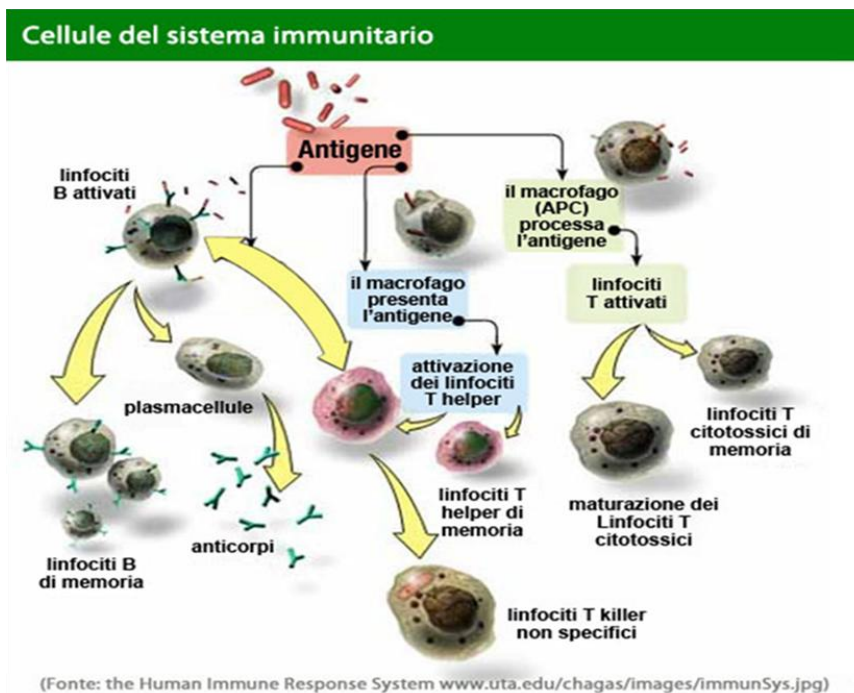
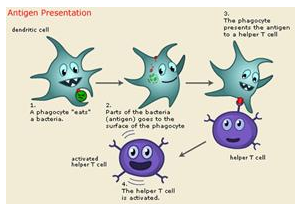


Figura 3. Attivazione del sistema immunitario.



Cosa è un antigene???

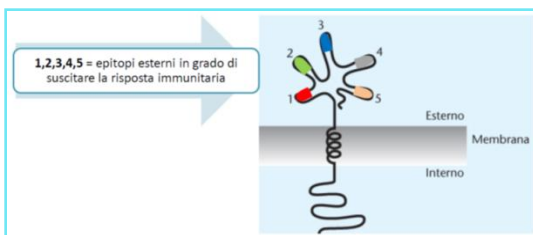
Gli antigeni sono tutte quelle sostanze che, introdotte nell'organismo, sono in grado di indurre l'attivazione di una risposta immune di tipo umorale o di tipo cellulo-mediata.

Un antigene è definito da due principali funzioni:

1. *immunogenicità*: capacità di stimolare il sistema immunitari;
2. *antigenicità*: capacità di reagire specificatamente con gli anticorpi o con le cellule di cui ha indotto la formazione.

Ma spesso il sistema immunitario non viene attivato dall'intera molecola di antigene ma solo da alcune parti: gli epitopi

.....gli epitopi???



Gli epitopi sono specifiche "parti" dell'antigene che per le loro caratteristiche strutturali sono riconosciuti dal sistema immunitario.

Il numero di epitopi per molecola di antigene può variare moltissimo ad esempio

antigeni come le proteine possiedono numerosi epitopi diversi, mentre antigeni come i polisaccaridi, presentano lo stesso epitopo, ripetuto molte volte.

Cosa accade quando si attiva il sistema immunitario?



L'Immunità

E' il meccanismo con il quale l'organismo si difende da potenziali minacce alla propria integrità.

Esistono due tipi di immunità :



Immunità Innata o Naturale

E' costituita da un insieme di meccanismi di difesa non specifici, presenti fin dalla nascita di un individuo. Questo sistema è presente già prima dell'esposizione all'antigene e rappresenta la prima e più importante barriera di difesa

dell'organismo agli agenti patogeni.

L'immunità innata è immediata, altamente efficiente e non ha memoria immunologica.

I componenti principali dell'immunità innata sono:

- le barriere fisico-chimiche (pelle, saliva e lacrime, mucose vaginale, bronchiale, nasale);
- alcune proteine del sangue (componenti del Complemento e molecole correlate dell'infiammazione);
- alcuni tipi di cellule con capacità di fagocitare (macrofagi) o di uccidere (cellule Natural Killer);
- alcune molecole che agiscono su altre cellule (citochine).



Immunità Acquisita o Specifica

E' costituita da meccanismi di difesa specifici di cui l'organismo conserva la memoria e rappresenta un sistema integrato di difesa, in cui numerose cellule e molecole agiscono insieme per garantire la difesa dell'organismo.

L'immunità specifica si può suddividere in:

1. Immunità attiva:

le risposte immuni specifiche sono attivate quando un individuo si trova esposto per:

- via naturale (precedenti infezioni)
- via artificiale (vaccinazioni)

ad una variazione antigenica quantitativa o qualitativa.

Questa forma di immunità viene definita attiva perché l'individuo immunizzato partecipa attivamente alla risposta verso l'antigene.

2. Immunità passiva:

le risposte immuni specifiche non vengono attivate dall'individuo ma l'immunizzazione viene ottenuta trasferendo nel soggetto cellule o siero di soggetti specificamente immunizzati.

Quindi, l'immunità passiva può avvenire per:

- via naturale (passaggio di anticorpi da madre a feto);
- via artificiale (somministrazione di siero).

Cosa è la vaccinazione?



La prevenzione delle malattie per mezzo della vaccinazione ha rappresentato una delle più importanti conquiste in ambito biomedico. Attraverso di essa la medicina preventiva si propone di prevenire le malattie infettive inducendo una specifica risposta immunitaria agli agenti infettivi.

Una delle prime testimonianze storiche del fenomeno della "immunizzazione" risalgono alle "Storie" di Tucidide nel V secolo a.C. Lo storico descrive una malattia non ben identificata (peste, vaiolo, febbre tifoide) osservando che: "Il male non colpisce mai due volte: o almeno l'eventuale ricaduta non è letale" a dimostrazione del fatto che già nell'antichità la medicina aveva evidenziato che i sopravvissuti a malattie contagiose diventavano resistenti a un nuovo contatto.

Gli antichi greci avevano, quindi, osservato il fenomeno dell'immunità acquisita, conosciuto anche nel VI secolo a.C. dagli antichi abitanti della Cina e dell'India, dove veniva descritta ed applicata una prassi di prevenzione dal vaiolo detta "variolazione". La pratica consisteva nell'infettare le persone con l'auspicio che la malattia si manifestasse in forma più lieve e conferisse, quindi, immunità. La variolazione, pur se praticata in Africa, India, Cina e nell'Impero Ottomano, venne resa nota in Europa all'inizio del 1700 ma trovò, applicazioni molto limitate.

Alla fine del XVIII secolo il medico inglese Edward Jenner studiò e comprese le conseguenze di un'osservazione empirica: i mungitori venuti in contatto con mucche affette da una malattia pustolosa, determinata dal *Vaccinia virus*, erano protetti dall'infezione del virus del vaiolo.

Jenner realizzò il primo vaccino inoculando nell'uomo il contenuto prelevato dalle pustole delle mucche. In questo modo si diede inizio alla pratica della vaccinazione attraverso la quale è stata possibile



l'eradicazione del vaiolo, avvenuta alla fine degli anni settanta del XX secolo.

Jenner aveva scoperto alcuni principi fondamentali dell'immunizzazione: utilizzare una sostanza relativamente poco rischiosa per indurre una risposta immunitaria specifica in grado di proteggere dall'agente patogeno.

Tuttavia si dovrà arrivare al XIX secolo con gli studi di Louis Pasteur per comprendere meglio i principi alla base del processo di immunizzazione scoprendo che le malattie infettive sono causate da agenti

patogeni capaci di stimolare una risposta protettiva attiva e duratura nei confronti della stessa infezione. La scoperta innovativa di Pasteur fu di aver compreso che gli agenti patogeni possono essere resi meno virulenti (attenuati) ponendo le basi per lo sviluppo dei vaccini.

Quali sono gli obiettivi della vaccinazione?



Gli obiettivi che la medicina si prefigge con la vaccinazione sono azioni di prevenzione verso:

il singolo:

Indurre una risposta immune verso uno o più antigeni di un agente patogeno per proteggere il soggetto dalla malattia da esso causata.

la collettività:

Limitare la diffusione di una malattia infettiva e se possibile eradicarla definitivamente come avvenuto per il vaiolo.

La ricerca biomedica si propone di realizzare vaccini anche per altri obiettivi futuri come:

1. profilassi di malattie non infettive come il cancro ¹
2. terapia verso malattie croniche come AIDS o cancro
3. profilassi e terapia mirate a particolari fasce di popolazione (età, condizione sociale, stato di salute) (Figure 4, 5).



¹ Lollini P.L., Cavallo F., Nanni P. et al. Vaccines for tumour prevention. Nature reviews. Cancer. 2006; 6(3): 204-16

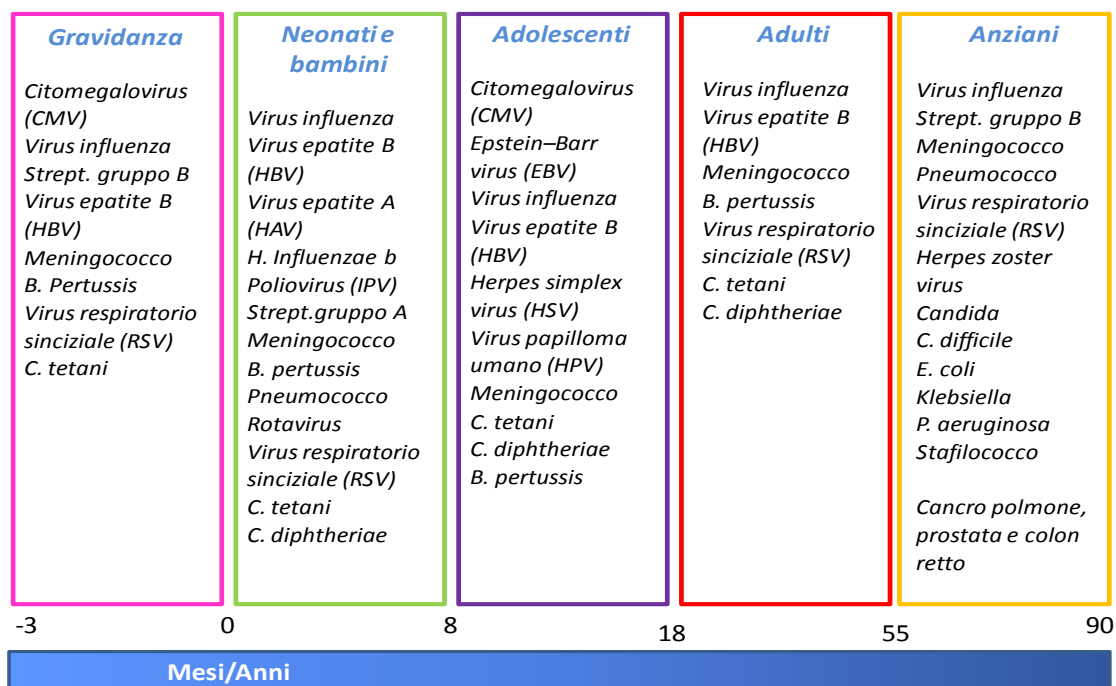


Figura 4. Profilassi mirata a particolari fasce di età

Fonte: Rappuoli R., Mandl C.W., Black S., De Gregorio E. Vaccines for the twenty-first century society. Nat Rev Immunol. 2011;11(12):865-72.

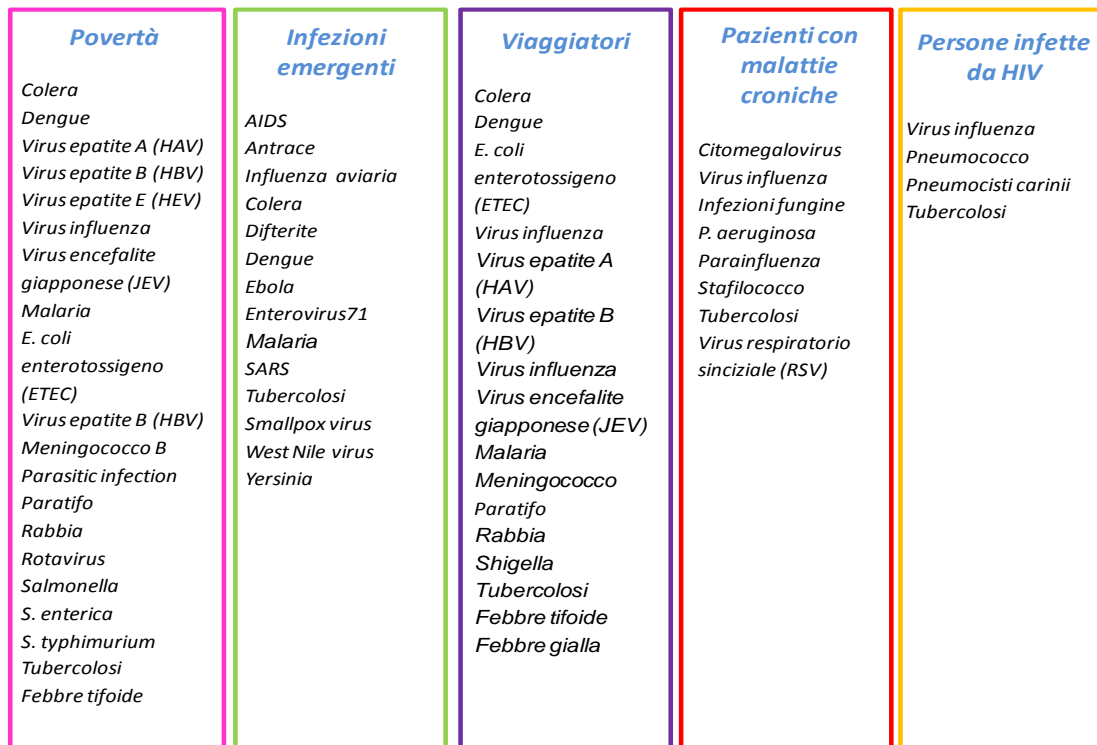


Figura 5. Profilassi e terapia mirate a particolari fasce di popolazione

Fonte: Rappuoli R., Mandl C.W., Black S., De Gregorio E. Vaccines for the twenty-first century society. Nat Rev Immunol. 2011;11(12):865-72.

Cosa è un vaccino?

Un vaccino è una preparazione (ad uso parenterale o orale) a scopo profilattico costituito da microrganismi, parti di essi o loro prodotti, artificialmente privati della virulenza, in grado di indurre una risposta immunitaria.

Il vaccino simula l'infezione ed attiva il sistema immunitario senza sviluppare la malattia.

Quali sono le caratteristiche di un vaccino?

Un vaccino deve possedere delle specifiche caratteristiche:

IMMUNOGENICITA'	Capacità di indurre il sistema immunitario a sviluppare una risposta efficace nella sede idonea che prevenga l'infezione
PROTEZIONE	Capacità di indurre un'immunità protettiva specifica per una determinata malattia infettiva (virale, batterica, protozoaria) espressa come dalla risposta nella produzione di degli anticorpi e come resistenza all'infezione
SPECIFICITA'	Deve essere mirato verso antigeni specifici costituiti, correlati o derivati dall'agente patogeno
INNOCUITA'	Non deve provocare la patologia di cui è responsabile il relativo microrganismo virulento e non deve indurre reazioni avverse collaterali
MEMORIA IMMUNOLOGICA	La risposta immunitaria deve costituire una memoria immunologica a lungo termine anche in assenza di antigene

Vaccinologia tradizionale e biotecnologica

In seguito al successo della vaccinazione antivaiole, applicata per la prima volta su larga scala più di due secoli fa, la ricerca biomedica iniziò a produrre un numero



sempre maggiore di vaccini contro diversi patogeni e di sviluppare preparati sempre più efficaci e sicuri rispetto a quelli già esistenti. Questi traguardi sono stati raggiunti grazie ad una maggiore conoscenza dei meccanismi alla base dell'immunità protettiva nell'uomo, ad un continuo progresso della ricerca ed alle innovazioni in campo tecnologico nel settore

della vaccinologia.

Grazie alle applicazioni biotecnologiche è stato possibile applicare metodiche sempre più sofisticate di indagine, di sviluppo e di produzione permettendo l'ottimizzazione di molte caratteristiche dei vaccini tradizionali, (immunogenicità e sicurezza rispetto alle reazioni avverse nel soggetto), e il miglioramento della sicurezza degli operatori coinvolti nelle fasi di produzione, in particolare in presenza di agenti altamente patogeni.

Un'altra problematica è rappresentata dalla suscettibilità di molti vaccini tradizionali ad alcune condizioni ambientali (esposizione alla luce, temperature elevate) non sempre di facile risoluzione. Infine, i vaccini esistenti vengono per lo più somministrati per via parenterale ma tale somministrazione, può costituire un problema di sicurezza per la trasmissione di patogeni (virus dell'epatite B e C, il virus dell'AIDS) nei paesi sottosviluppati dove l'uso di aghi non sterili non rappresenta la norma.



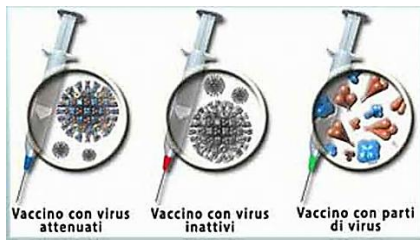
Come sono strutturati e prodotti i vaccini?

Se Jenner fu il primo a scoprire uno dei principi fondamentali dell'immunizzazione postulando come un agente meno virulento (*Vaccinia virus*) potesse indurre una risposta immunitaria in grado di proteggere verso un altro patogeno (virus del vaiolo umano), Pasteur fu colui che postulò i principi alla base dell'immunizzazione:

1. isolamento dell'agente causale la malattia
2. inattivazione dell'agente
3. inoculo dell'agente nel soggetto da immunizzare

I primi vaccini prodotti nella storia sono stati sviluppati utilizzando approcci di tipo empirico secondo i principi di Pasteur. La maggior parte dei vaccini erano costituiti da

microrganismi uccisi o vivi attenuati o da componenti di agenti patogeni parzialmente purificati o ancora da tossine private della tossicità (detossificate).



Negli ultimi 30 anni le biotecnologie hanno reso possibile lo sviluppo dei vaccini con un approccio tutt'altro che empirico grazie all'evoluzione apportata nelle modalità di produzione e di progettazione dall'impiego della genomica e della bioinformatica. La figura 6 mostra schematicamente

l'evoluzione che negli anni si è avuta nella vaccinologia, dall'approccio empirico all'avvento della biologia molecolare e della genomica.

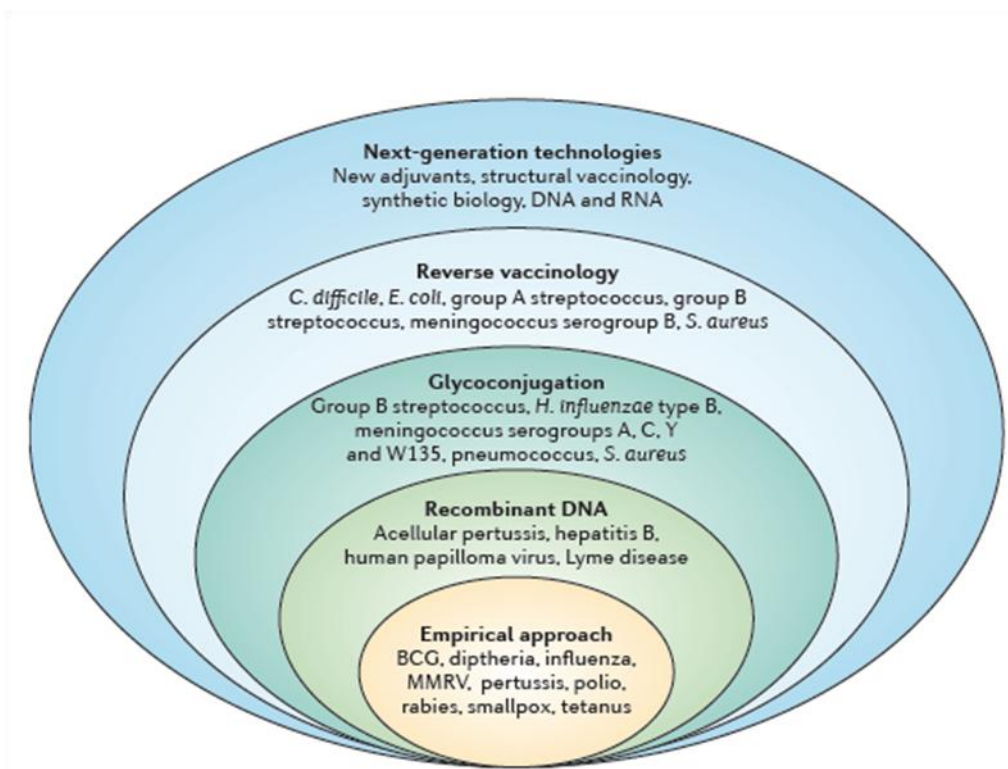


Figura 6. Evoluzione della vaccinologia

Fonte: Rappuoli R, Mandl C.W., Black S. and De Gregorio E. Vaccines for the twenty-first century society. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11(12): 865-872

Le applicazioni delle biotecnologie per la produzione di vaccini sono state molteplici, ad esempio la tecnica del DNA ricombinante ha permesso diverse innovazioni:

- produrre antigeni immunogenici tramite microrganismi non patogeni (*Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*);

- modificare il DNA di un agente infettivo eliminando i geni della virulenza e lasciando inalterata la sua capacità immunogenica;
- trasferire antigeni di un microrganismo patogeno in microrganismi vivi non patogeni da utilizzare come vettori per indurre una risposta immunitaria;
- isolare e clonare geni di proteine di agenti altamente patogeni o non facilmente coltivabili e farli esprimere in sistemi ospite alternativi come linee cellulari, *Escherichia coli*, o *Saccaromyces cerevisiae*.



La tabella 1 elenca alcuni agenti patogeni per cui sono stati prodotti o sono in fase di sviluppo specifici vaccini con la tecnica del DNA ricombinante.

AGENTE PATOGENO		MALATTIA
Virus	Virus varicella-zoster Citomegalovirus Virus dengue Virus dell'epatite A Virus dell'epatite B Virus tipo 2 dell'herpes simplex Virus dell'influenza A e B Virus dell'encefalite giapponese Virus parainfluenzale Virus della rabbia Virus sinciziale respiratorio Rotavirus Virus della febbre gialla Virus dell'immunodeficienza umana	Varicella Infezioni dei bambini e di soggetti immunodepressi Febbre emorragica Danno epatico, febbre elevata Danno epatico cronico Ulcere genitali Malattia respiratoria acuta Encefalite Infiammazione delle alte vie respiratorie Encefalite Lesioni delle vie respiratorie alte e basse Gastroenterite acuta infantile Lesioni cardiache, renali ed epatiche AIDS
Batteri	<i>Vibrio cholerae</i> Ceppi enterotossici di <i>E. coli</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Mycobacterium leprae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Bordetella pertussis</i> Ceppi di <i>Shigella</i> <i>Streptococcus</i> gruppo A <i>Streptococcus</i> gruppo B <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Clostridium tetani</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Salmonella typhi</i>	Colera Diarrea Gonorrea Meningite, setticemia Lebbra Meningite Pertosse Dissenteria Scarlattina, febbre reumatica, faringite Sepsì, infezione tratto urogenitale Polmonite, meningite Tetano Tubercolosi Febbre tifoide
Parassiti	<i>Onchocerca volvulus</i> <i>Leishmania</i> spp. <i>Plasmodium</i> spp. <i>Trypanosoma</i> spp. <i>Schistosoma mansoni</i> <i>Wuchereria bancrofti</i>	Oncocherchiasi, cecità Lesioni interne ed esterne Malaria Encefalite letargica Schistosomiasi Filariasì

Tabella 1. Alcuni agenti patogeni per cui sono stati prodotti o sono in fase di sperimentazione vaccini con la tecnica del DNA ricombinante

Fonte: B.R. Glick, J.J. Pasternak. Biotecnologia molecolare. Principi e applicazioni del DNA ricombinante. 1999. Ed. Zanichelli, Bologna

La genomica ed il sequenziamento hanno permesso di approfondire le conoscenze sulle caratteristiche immunogeniche e strutturali di molti agenti infettivi permettendo lo sviluppo ad esempio di vaccini polisaccaridici nei quali il legame di un polisaccaride (antigene) con una proteina carrier (vettore) ne migliora l'efficacia anche nei soggetti di età pediatrica, particolarmente suscettibili al rischio di contrarre forme di meningite. La reverse vaccinology e le altre tecniche emergenti come la biologia sintetica e la vaccinologia strutturale stanno aprendo nuove prospettive con un approccio nella strutturazione di nuovi vaccini completamente diverso.

Attualmente grazie all'applicazione di queste diverse tecnologie è possibile realizzare per uno stesso agente patogeno più tipologie di vaccino ad esempio contro il virus influenza (tabella 2), ciascuno con propri vantaggi e svantaggi specifici (Figure 7 e 8).²

<i>Attuali e nuovi approcci per la produzione del vaccino anti influenza</i>				
Vaccino	Stadio di sviluppo			
	Sviluppo preclinico	Test clinico di fase 1 e fase 2	Test clinico di fase 3	Licenziato o approvato
Vaccini inattivati				
Coltura in uova	Si	Si	Si	Si
Coltura in cellule	Si	Si	Si	In EU non in USA
Con adiuvanti	Si	Si	Si	In EU non in USA
Vaccini vivi attenuati				
Coltura in uova	Si	Si	Si	Si
Coltura in cellule	Si	Si	No	No
Vaccini di nuova generazione				
Proteine ricombinanti	Si	Si	Si	No
Virus like particles (VLP)	Si	Si	No	No
Vettori virali	Si	Si	No	No
Vaccini a DNA	Si	Si	No	No
Vaccini universali	Si	Si	No	No

Tabella 2. Tipologie di vaccino prodotte e in sperimentazione contro il virus dell'influenza
Fonte: Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44

² Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44.

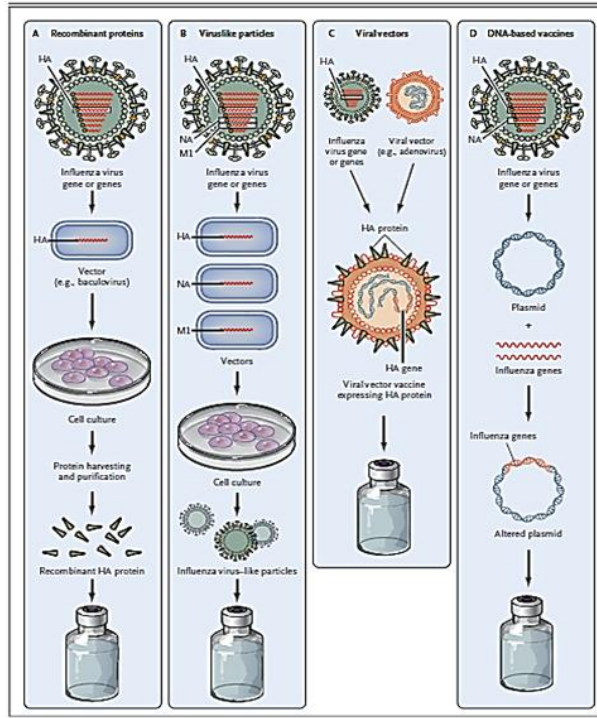


Figura 7. Diverse modalità di produzione biotecnologica del vaccino contro il virus dell'influenza.
 Fonte: Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44

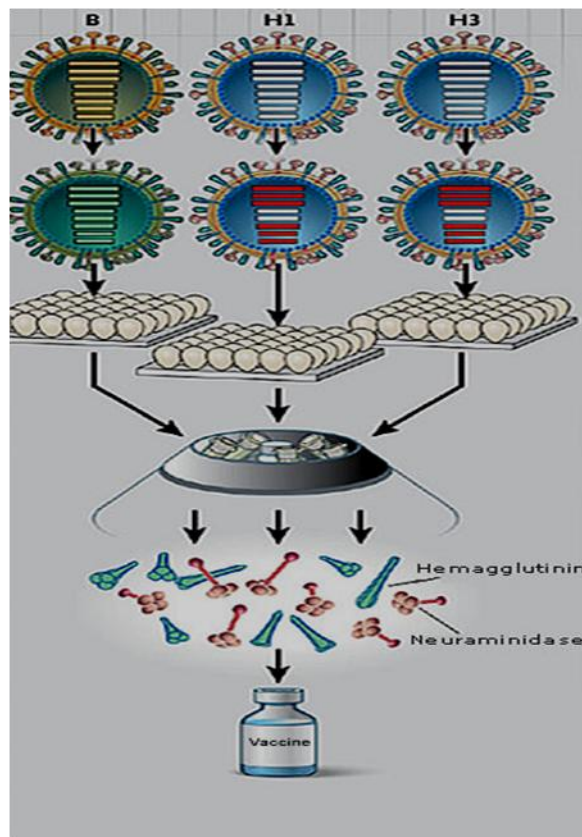


Figura 8. Modalità di produzione tradizionale del vaccino contro il virus dell'influenza.
 Fonte: J.Treanor. Weathering the Influenza Vaccine Crisis N Engl J Med 2004; 351:2037-2040

Un altro aspetto interessante dell'applicazione delle nuove biotecnologie è



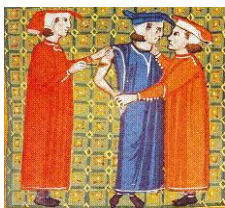
rappresentato dalla possibile produzione di vaccini orali di origine vegetale. Ciò permetterebbe di combinare la convenienza della via di somministrazione con quella dell'aspetto produttivo che, oltre a ovviare ai potenziali rischi di contaminazione con materiale di origine animale (microrganismi

patogeni o proteine), può risultare importante in termini sia di fattibilità sia di resa. Sinora sono già state prodotte alcune patate in grado di esprimere antigeni contro il virus dell'epatite B e il Norwalk virus e i primi risultati degli studi di fase I appaiono incoraggianti.

Attualmente la vaccinologia moderna prevede l'applicazione delle biotecnologie per la messa a punto sia di nuove strategie, per produrre vaccini alternativi con minori svantaggi rispetto ai tradizionali, sia lo sviluppo di nuovi vaccini.

Le tipologie di vaccini prodotti con le biotecnologie sono:

1. vaccini vivi attenuati
2. vaccini vivi ricombinanti o vettori vaccinici
3. vaccini a subunità
4. vaccini coniugati
5. vaccini peptidici
6. vaccini genetici



VACCINI INATTIVATI

Come vengono prodotti in modo tradizionale?

I vaccini inattivati sono preparati con microrganismi (virus o batteri) responsabili dell'infezione, uccisi con agenti fisici (calore, luce ad ultravioletti) o agenti chimici (fenolo, acetone, formaldeide) (Fig. 9). Il processo di inattivazione li rende incapaci di produrre un'infezione, ma di indurre una risposta immunitaria, poiché le caratteristiche antigeniche rimangono immutate.

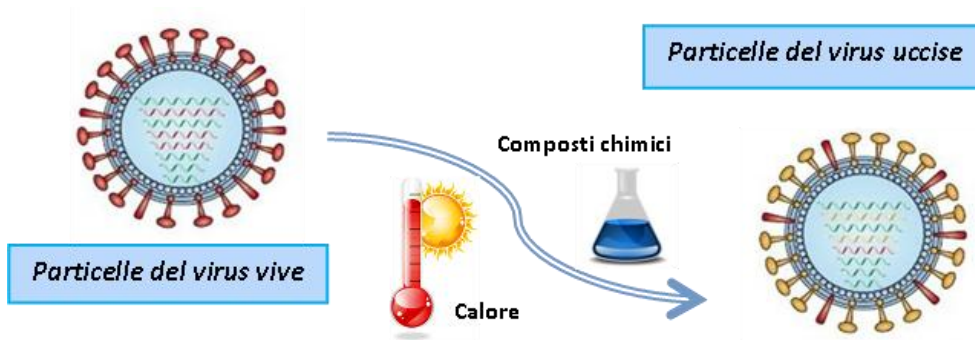


Figura 9. Produzione di un vaccino inattivato.

Affinché questi vaccini siano efficaci sono necessarie più dosi di somministrazione. La prima dose stimola il sistema immunitario, le successive inducono una risposta protettiva, principalmente legata alla produzione di anticorpi. Un limite di questi vaccini è rappresentato dalla riduzione, nel corso del tempo, della presenza degli anticorpi nel soggetto vaccinato, ciò comporta la necessità di richiami successivi.

 Vantaggi	 Svantaggi
Nessun rischio di mutazioni o reversione di patogenicità	Protezione immunitaria relativamente debole (necessari richiami)
Nessun rischio di trasmissione	Possibili effetti avversi rispetto ai vaccini vivi attenuati e prodotti con biotecnologie
Adatti a pazienti immunodeficienti e in gravidanza	Presenza di adiuvanti
Non necessarie particolari modalità di conservazione	

Esempi di vaccini uccisi impiegati contro alcune malattie virali e batteriche sono:

- Poliomelite (vaccino tipo Salk)
- Rabbia
- Influenza
- Epatite A

- Pertosse (vaccino cellulare)
- Tifo addominale
- Colera
- Peste

Da diversi anni i vaccini inattivati sono stati sostituiti dai *vaccini split*, costituiti da virus inattivati frammentati. La frammentazione della struttura virale viene ottenuta da detergenti che scompongono il microrganismo in parti utilizzate come componenti del vaccino (Figura 10).

In questo modo è possibile ovviare ad alcuni svantaggi dei vaccini inattivati.

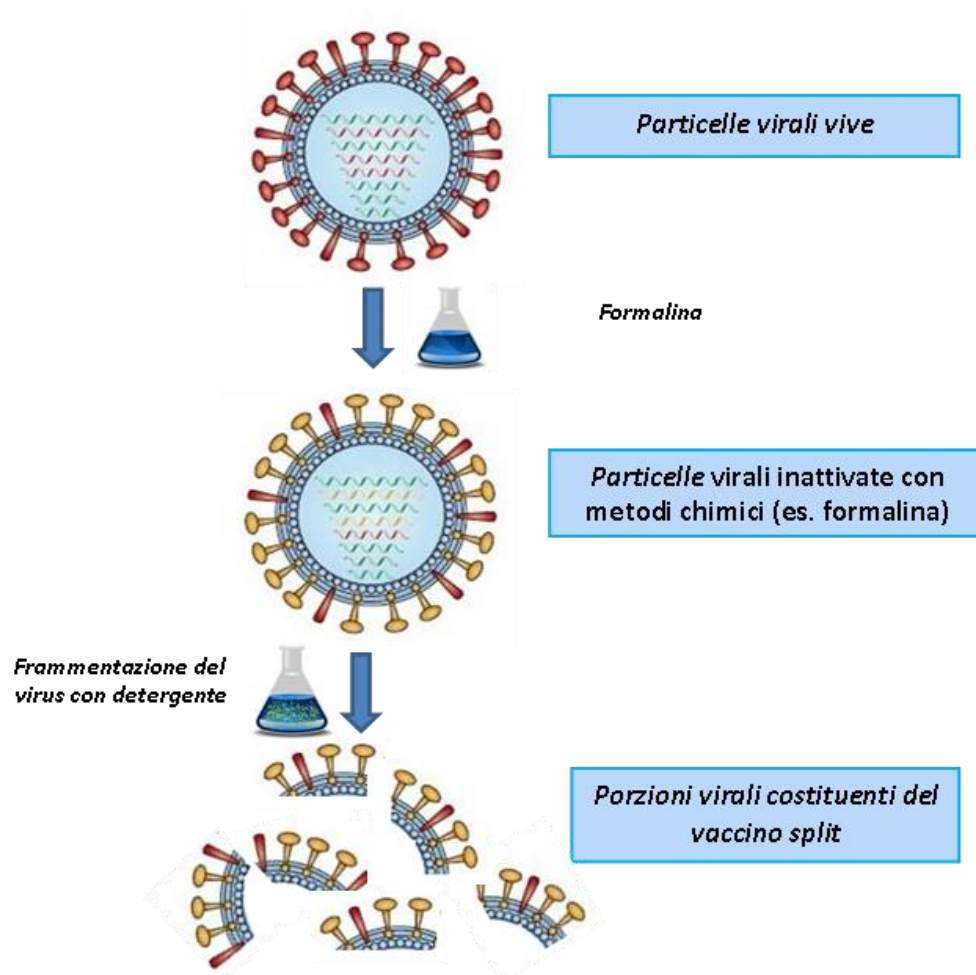


Figura 10. Produzione di un vaccino split.

Il processo di produzione non altera le proprietà antigeniche delle proteine (capacità immunizzante), ma vengono ridotti alcuni eventuali effetti collaterali, in particolare nel caso di vaccini contenenti particelle virali intere.

Un esempio è rappresentato dal vaccino contro il virus dell'influenza.

VACCINI VIVI ATTENUATI

Come vengono prodotti in modo tradizionale?

I vaccini vivi attenuati sono costituiti da organismi (batteri o virus) vivi attenuati, ossia privati della patogenicità. L'attenuazione viene ottenuta in vitro attraverso trattamenti chimici oppure coltivando i microrganismi in condizioni non ottimali di crescita per selezionare mutanti a ridotta virulenza e patogenicità (Figura 11).

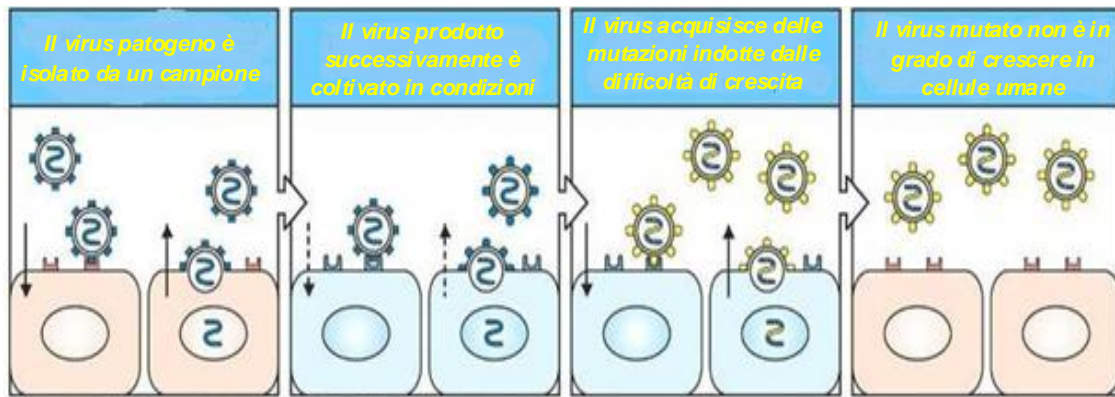
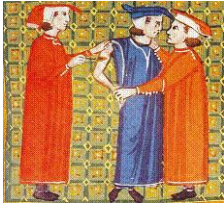


Figura 11. Produzione di vaccini vivi attenuati

Fonte: modificata da P. Parham. The immune system. 2005. Ed. Garland Science, New York.

Il processo permette di mantenere la capacità immunogenica ed una ridotta capacità replicativa, infatti, per indurre una risposta immune, i microrganismi vivi attenuati, presenti nel vaccino, devono replicarsi nel soggetto vaccinato. A tal fine viene somministrata una piccola dose del patogeno attenuato lasciando che esso si replichi



nel soggetto fino a quando il suo livello è tale da stimolare una risposta immune uguale a quella che si sviluppa in seguito alla malattia classica. Per questo motivo tali vaccini hanno il vantaggio, a differenza di quanto accade con i vaccini uccisi, di poter essere impiegati in dosi minori per conferire un'immunità protettiva permanente (fanno eccezione i vaccini vivi somministrati per via orale).

I vaccini vivi attenuati presentano, tuttavia, alcuni svantaggi:

- di norma non causano malattia nei soggetti immunocompetenti e, qualora questa si manifesti, avviene in una forma clinica lieve, ma nei soggetti con deficit immunitari, il patogeno attenuato può indurre la malattia nella forma clinica classica.
- nei vaccini costituiti da virus, può avvenire il ripristino della forma virulenta (evento raro se vi sono mutazioni multiple) e l'induzione della malattia (es. i rari casi di polio per il vaccino orale tipo Sabin), o il rischio dell'incorporazione del DNA virale in quello dell'ospite.
- richiedono particolari condizioni di conservazione, possono essere danneggiati o inattivati dalla luce e dal calore.

I vaccini vivi attenuati sono stati realizzati per le seguenti malattie virali e batteriche:

- Morbillo-Rosolia-Parotite (polivalente)
- Varicella
- Febbre gialla
- Poliomielite (vaccino tipo Sabin)
- Tifo addominale orale
- Tubercolosi (vaccino Bacillus Calmette-Guérin)



 Vantaggi	 Svantaggi
Una o poche dosi richieste	Rischio di inattivazione parziale o di integrazione (se virale)
Protezione a lunga durata	Rischio di reversione alla patogenicità
Immunità umorale e cellulare	Rischio di inattivazione parziale o di integrazione (se virale)
	Rischio di reversione alla patogenicità
	Non adatti a soggetti immunodepressi ed in gravidanza
	Sensibili a luce e calore



.....e con le biotecnologie?

Lo stesso obiettivo, di produrre un vaccino con un microorganismo a ridotta o nulla virulenza, può essere ottenuto grazie all'introduzione di mutazioni specifiche o delezioni dei geni responsabili della virulenza, attraverso tecniche di ingegneria genetica. L'ingegneria genetica permette di ottenere mutazioni mirate, o di rimuovere o inattivare geni specifici. Tali modifiche vengono ottenute in modo più controllato e mirato rispetto al metodo in coltura, e permettono di mantenere inalterata la capacità di stimolare la risposta immunitaria dell'organismo (Figura 12).

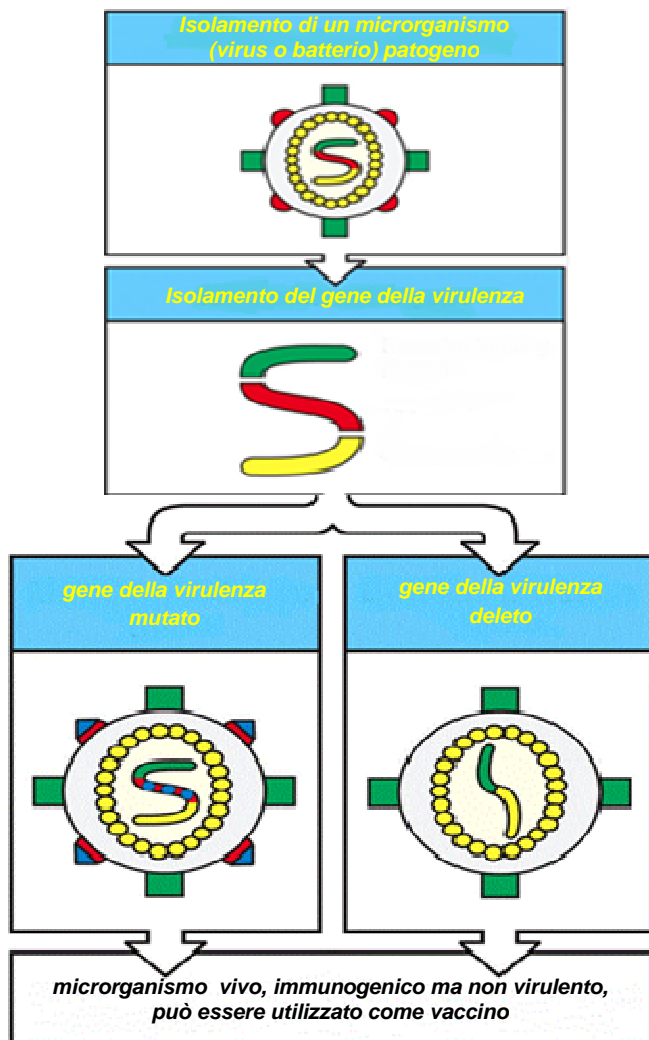


Figura 12. Produzione di un vaccino vivo attenuato per via biotecnologica
Fonte: modificata da C.A. Janeway, P. Travers, M. Walport, M. Shlomchik. Immunobiology. 2005. Garland Science, New York.

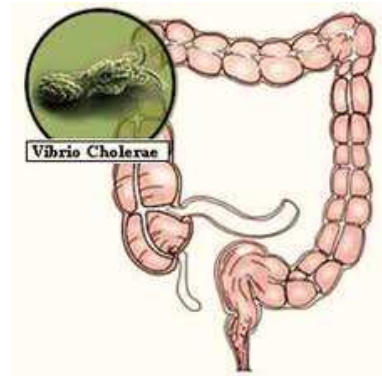
Vaccino contro il *Vibrio cholerae*

Un esempio di questo tipo di vaccino è quello contro il *Vibrio cholerae*, batterio responsabile del colera.

La patogenicità è determinata da una tossina costituita da una subunità A (responsabile della tossicità) e cinque subunità B identiche (responsabili del legame ai recettori delle cellule della mucosa intestinale).

Il vaccino tradizionale è costituito da batteri vivi inattivati chimicamente.

Il vaccino biotecnologico, invece, è costituito dalla tossina mutata nella subunità A. La tecnica del DNA ricombinante permette di rimuovere alcune sequenze di DNA codificanti la subunità A della tossina, producendo un ceppo mutato del batterio: un microrganismo geneticamente modificato (MOGM).



1. Una parte della sequenza di DNA, responsabile della tossicità della subunità A, viene identificata ed con l'utilizzo di particolari enzimi (enzimi di restrizione) viene privata della sequenza che determina la tossicità.
2. Il gene mutato, inserito in un plasmide, viene trasferito per coniugazione in un ceppo di *Vibrio cholerae* che contiene anche un gene marcatore di selezione (es. resistenza ad un antibiotico) necessario per identificare i batteri che avranno inserito nel proprio DNA la sequenza della proteina A deleta (Figura 13).
3. Il processo di ricombinazione genetica permette di sostituire il gene della subunità A normale con quella deleta.
4. I batteri che avranno nel loro DNA la subunità A mutata, verranno selezionati grazie al marcatore di resistenza all'antibiotico e saranno utilizzati come costituenti del vaccino.

La figura 14 sintetizza le modalità operative del processo di costruzione del ceppo mutato del batterio.

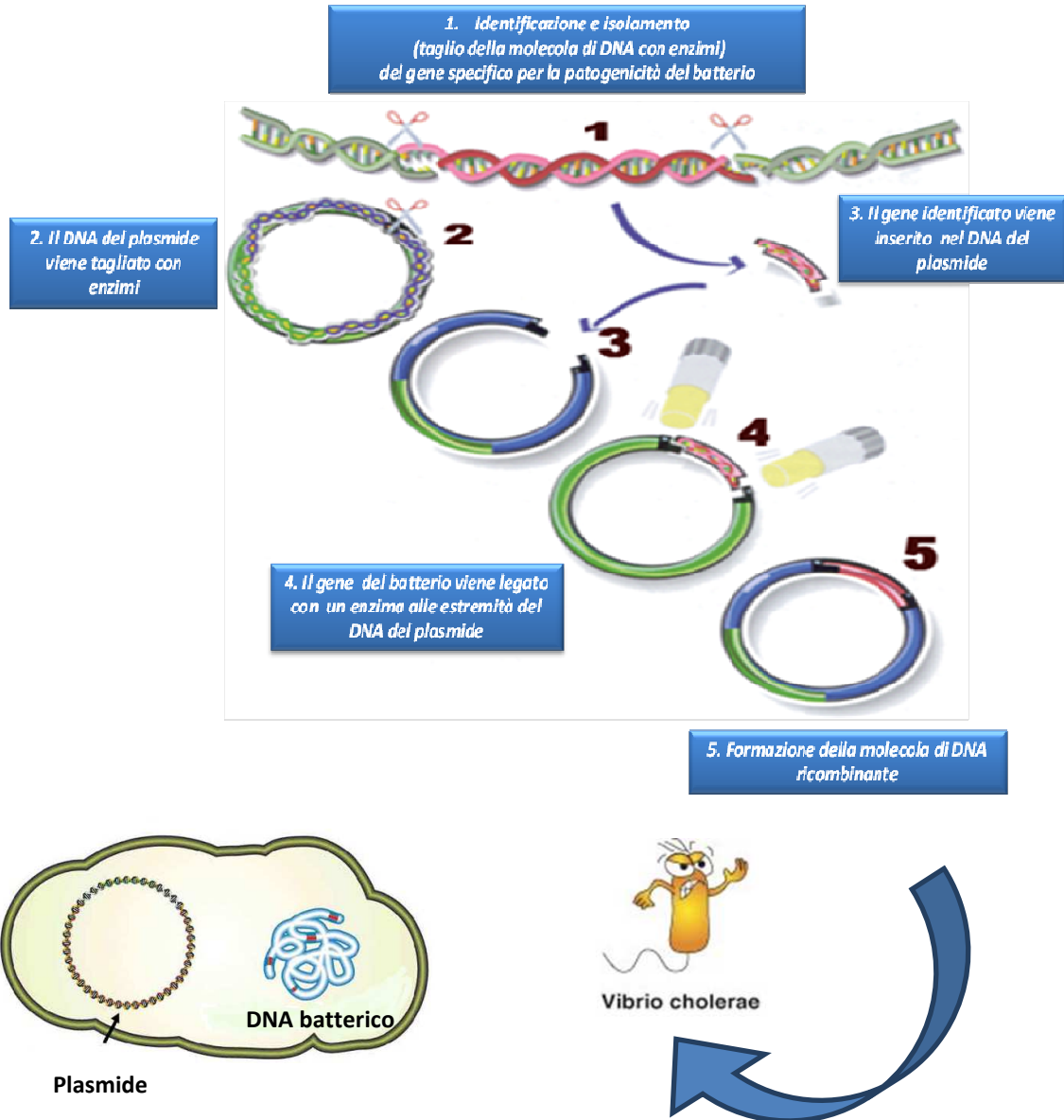


Figura 13. Costruzione di una molecola di DNA ricombinante da trasferire nel *Vibrio cholerae*.

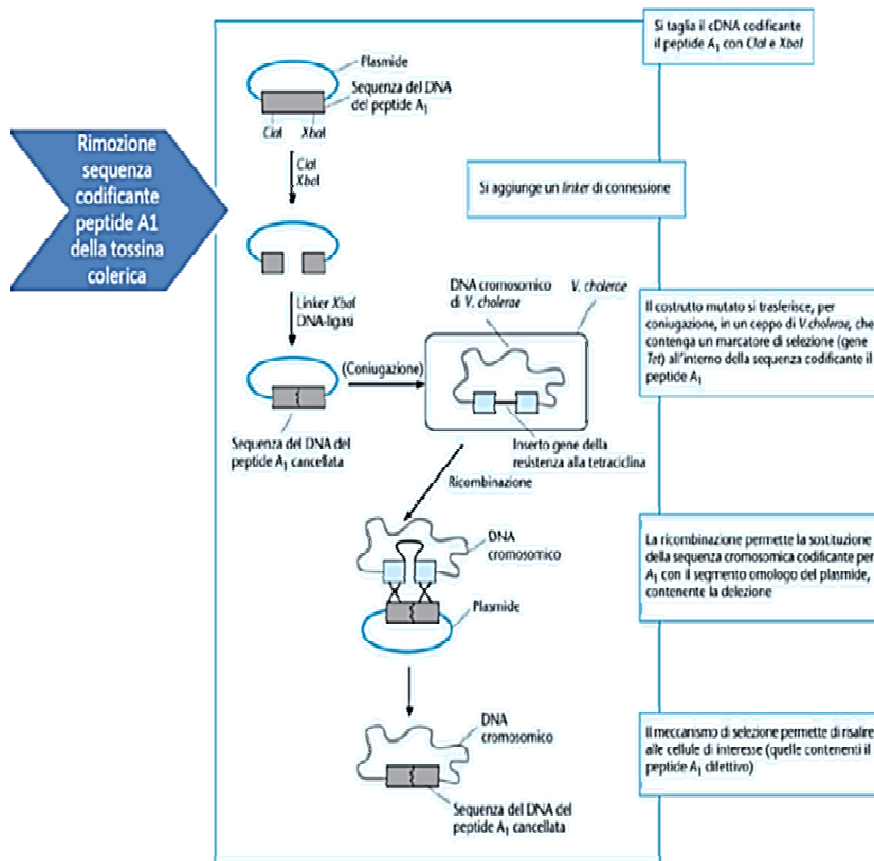
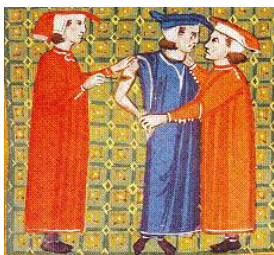


Figura 14. Costruzione del ceppo mutato di *Vibrio cholerae*.

Fonte: modificata da M.I.Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli.

VACCINI A SUBUNITA'



Come vengono prodotti in modo tradizionale?

I vaccini a subunità contengono proteine virali o batteriche in grado di indurre la produzione di anticorpi. Questi vaccini, prodotti secondo il metodo tradizionale, sono costituiti da antigeni isolati dal microrganismo patogeno.

Gli antigeni possono essere rappresentati da:

- *Molecole di superficie del microrganismo*



Batteri e virus presentano sulla loro superficie esterna diverse molecole (polisaccaridi e/o proteine) che stimolano la risposta immunitaria e possono essere selezionati come costituenti dei vaccini.

L'utilizzo di polisaccaridi per la formulazione di vaccini non è sempre ottimale per alcuni svantaggi (es. scarsa attività immunogena), superati dai VACCINI CONIUGATI.

Un esempio di vaccino a subunità di produzione tradizionale è quello contro il virus dell'epatite B (HBV) costituito da una sospensione purificata di particelle virali prive di DNA, che esprimono l'antigene HBsAg, prelevate dal siero di un soggetto portatore sano. La preparazione vaccinica viene inoltre sottoposta ad inattivazione chimica o termica per aumentarne la sicurezza.

- *Tossine*

Alcuni microrganismi (es. *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*) producono tossine che possono essere inattivate con trattamenti chimici in modo da eliminare la tossicità e mantenere il potere antigenico. Questo tipo di vaccini richiede la somministrazione di più dosi per sviluppare un'immunità protettiva ed effettuare richiami a distanza di anni.

 Vantaggi	 Svantaggi
Maggiore sicurezza non vengono utilizzati microrganismi viventi	Richieste più dosi per l'immunizzazione
Composizione definita	Relativamente costosi per il processo di purificazione
Diversi sistemi di delivery disponibili	Richiesta per la produzione di coltivazione dell'agente patogeno
	Necessari adiuvanti
	Rischio di alterazione per il processo inattivazione della componente antigenica



.....e con le biotecnologie?

Il principio che regola questi vaccini è lo stesso di quello tradizionale, la differenza consiste nelle modalità di inattivazione della tossina o nella produzione delle molecole di superficie (proteine o polisaccaridi) attraverso la tecnica del DNA ricombinante.

Questo tipo di produzione prevede la realizzazione di un MOGM rappresentato da una cellula procariota o eucariota usata come vettore per la produzione della proteina di interesse. I sistemi cellulari ospiti sono trasformati tramite l'inserimento del gene o dei geni provenienti dal microrganismo patogeno.

Esempi di questa tipologia di vaccini sono quelli contro:

- *Bordetella pertussis*,
- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Clostridium tetani*
- *Corynebacterium diphtheriae*
- Virus dell'influenza

VACCINI A SUBUNITÀ VIRALI

È stato dimostrato che le proteine di superficie dei virus patogeni inducono una buona risposta anticorpale nell'organismo ospite. Sulla base di tale conoscenza sono stati sviluppati diversi vaccini i più noti dei quali sono quelli per i virus dell'influenzali, dell'epatite B (HBV) e del papilloma virus (HPV).

Vaccino contro il virus epatite B (HBV)

Le figure 15 e 16 mostrano schematicamente la produzione del vaccino contro l'HBV.

1. Il gene codificante per l'antigene di superficie HBsAg isolato dal virus HBV viene clonato in un plasmide.
2. Il plasmide per coniugazione viene trasferito ed espresso in cellule di lievito (*Saccaromyces cerevisiae*). L'antigene HBsAg prodotto viene purificato ed utilizzato come costituente del vaccino.

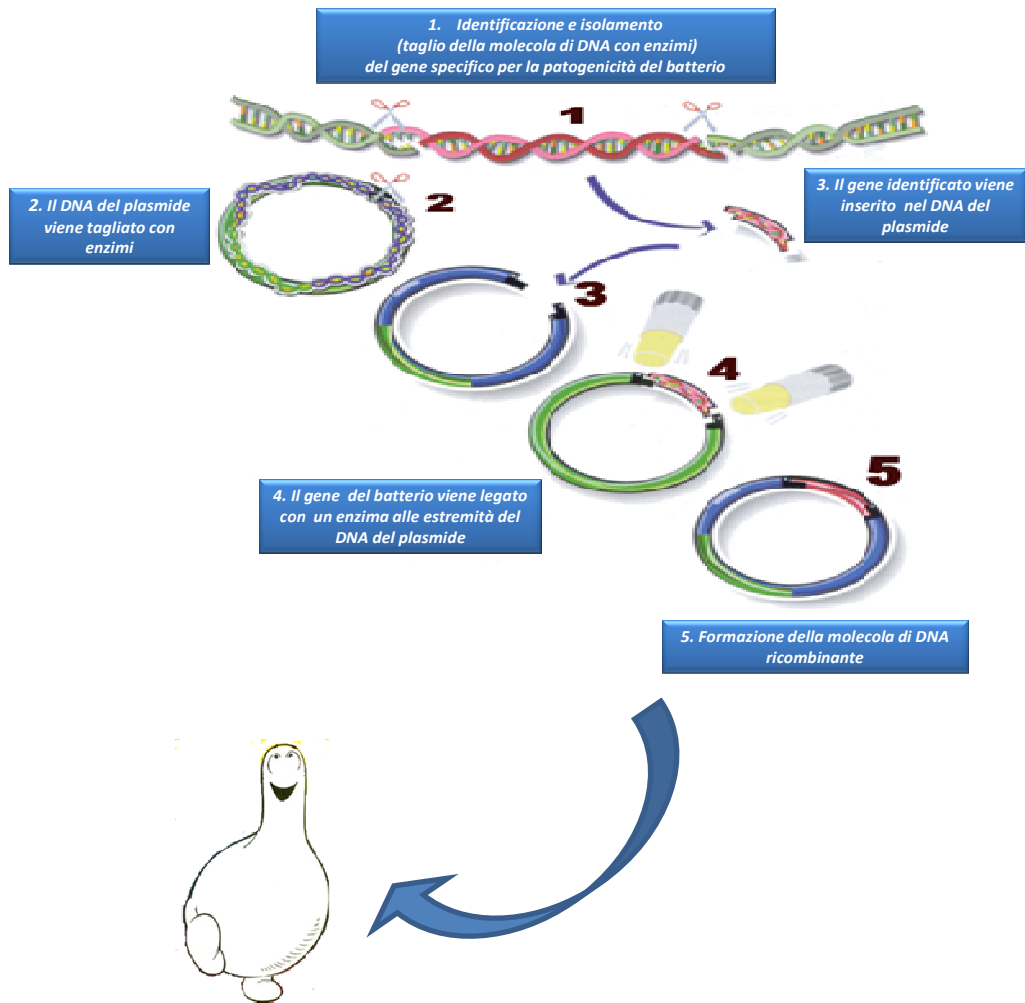


Figura 15. Costruzione di una molecola di DNA ricombinante da trasferire in cellule di lievito (*Saccaromyces cerevisiae*)

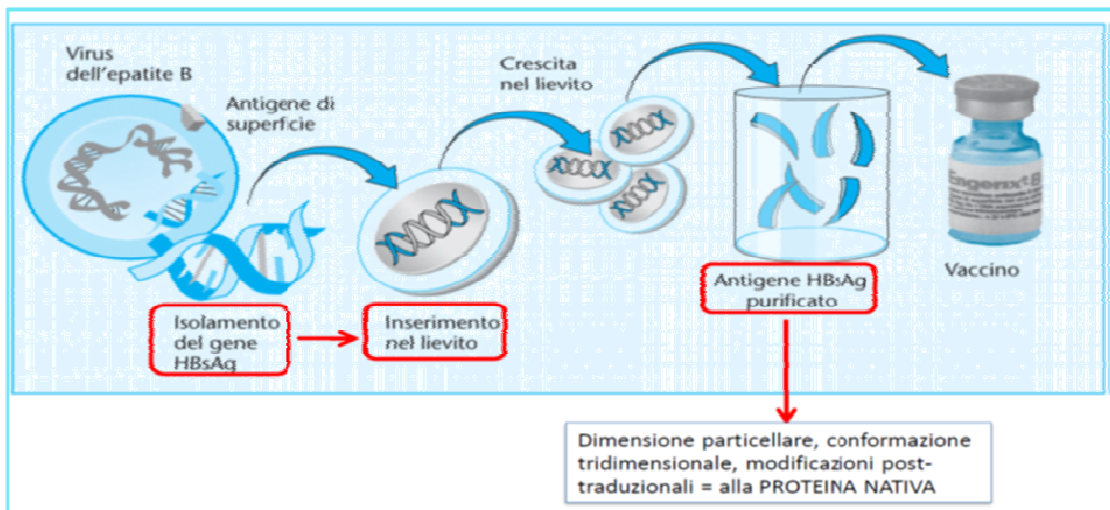
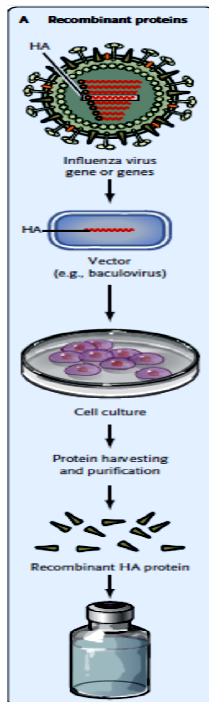


Figura 16. Produzione dell'antigene HBsAg per il vaccino contro il virus epatite B.

Fonte: M.I.Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli

Vaccino contro il virus dell'influenza



VACCINO a subunità contro il virus dell'influenza

Il gene per la proteina emoagglutinina (HA) viene clonato in un microrganismo non patogeno con il ruolo di vettore per inserire il gene in colture cellulari in modo che producano la proteina HA.

La HA prodotta e purificata sarà l'antigene costituente il vaccino (Fig. 17)

Fase sperimentale

Figura 17. Produzione del vaccino a subunità contro il virus dell'influenza.

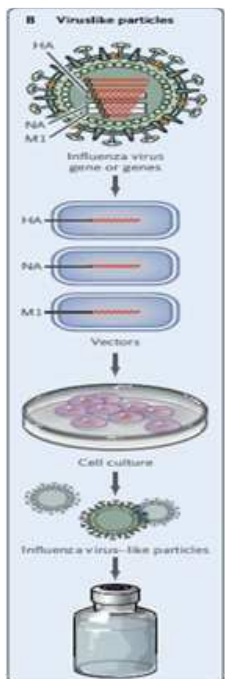
Fonte: Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44

VACCINI A SUBUNITÀ VIRALI del tipo VLP

Un ulteriore passo avanti nella produzione di vaccini è stato realizzato sfruttando la capacità di alcuni antigeni virali di autoassemblarsi per formare viral-like particles (VLPs). Le VLPs sono strutture tridimensionali simili ai virus, ma incapaci di indurre la malattia perché mancanti del materiale genetico. Le VLPs possono essere ottenute con la tecnica del DNA ricombinante attraverso la simultanea infezione di cellule eucariote o procariote con più vettori di clonaggio codificanti per diverse proteine (immunogeniche e strutturali). In genere le VLPs sono molto immunogene poiché mostrano un gran numero di siti antigenici e conformazionali allo stesso modo dei virus infettivi.

Due esempi sono i vaccini per il virus influenzale (Fig. 18) e per il papilloma virus (HPV) (Figura 19).

Vaccino contro il virus dell'influenza



VACCINO a VLP contro il virus dell'influenza

Le VLPs virali prive di genoma si strutturano in sistemi ospite cellulari grazie all'inserimento di più plasmidi ognuno contenenti specifici geni del virus dell'influenza codificanti per la proteina di matrice (M1), la neuroamidasi (NA) e l'emoagglutinina (HA).

Fase sperimentale

Figura 18. Produzione del vaccino VLP contro il virus dell'influenza.

Fonte: Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44

Vaccino contro il papilloma virus (HPV)

Il vaccino è costituito dalle 4 varianti della proteina virale L1 (genotipi 6, 11, 16, 18). Queste proteine possono essere prodotte in cellule di lievito (*Saccaromyces cerevisiae*) nelle quali vengono inseriti dei plasmidi contenenti i geni che le codificano. Le proteine prodotte sono in grado di assemblarsi per formare particelle strutturalmente simili all'HPV, prive di DNA virale, che non possono infettare e causare la malattia.

Lo scopo del vaccino è di indurre la produzione di anticorpi che proteggeranno le cellule della mucosa uterina dall'infezione da parte del virus HPV (Figura 19).

L'infezione da HPV è stata riconosciuta dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) come responsabile del cancro alla cervice. L'OMS ha promosso la vaccinazione contro questo virus nella fascia di età 9-13 anni come target primario, e nella fascia di età 14-26 anni come target secondario.

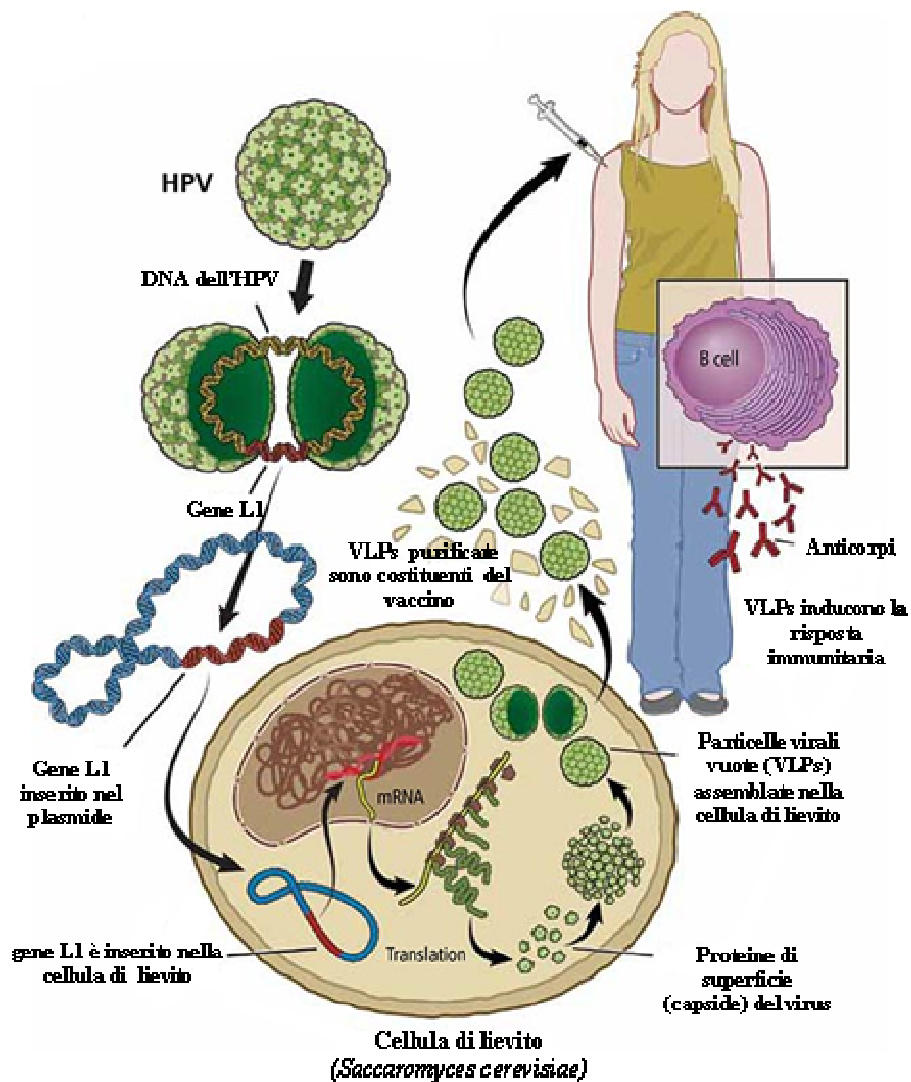


Figura 19. Produzione del vaccino VLP contro il virus dell'HPV.

VACCINI A SUBUNITÀ BATTERICHE

L'inattivazione delle tossine batteriche (detossificazione) può essere effettuata attraverso una manipolazione genica in sostituzione del processo di detossificazione di tipo chimico, che può comportare esiti finali non ottimali sulla proteina detossificata, ad esempio:

- Diversi gradi di detossificazione ed inalterata capacità di indurre una risposta immunologica
- Parziale perdita della capacità di indurre una risposta immunologica
- Formazione di aggregati di proteine
- Lievi modifiche della struttura tridimensionale della proteina

I due processi sono schematizzati nella figura 20.

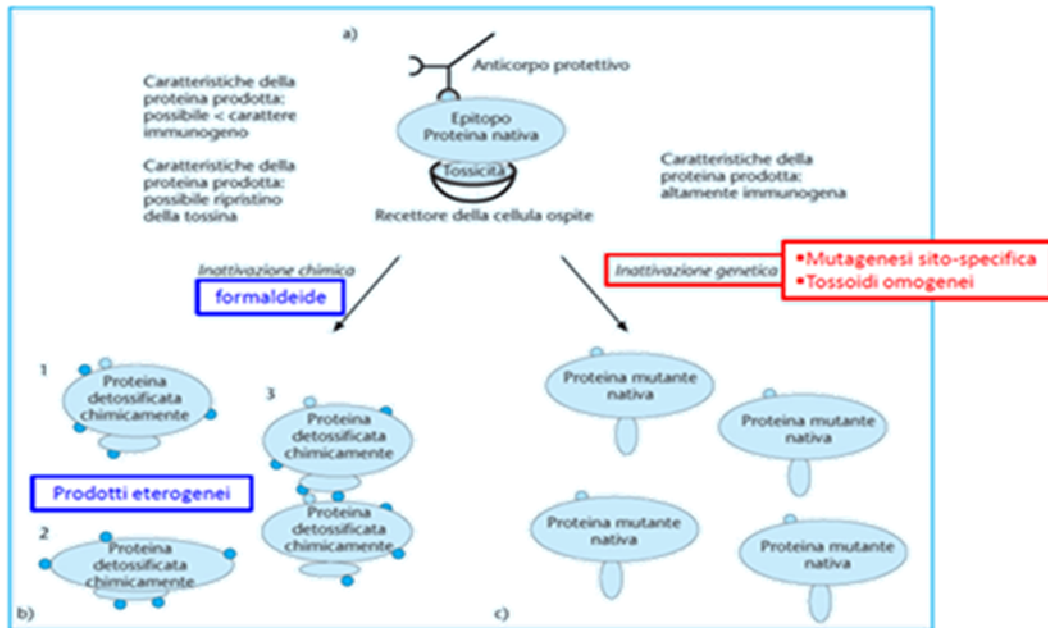


Figura 20. Detossificazione chimica e con mutazione genica
 Fonte: modificata da: D. J. Crommelin, R. D. Sindelar. Biotecnologie farmaceutiche. 2000 Ed. Zanichelli, Bologna

La detossificazione genetica viene realizzata modificando la sequenza di DNA responsabile della tossicità e mantenendo inalterata la capacità di indurre una risposta immunitaria.

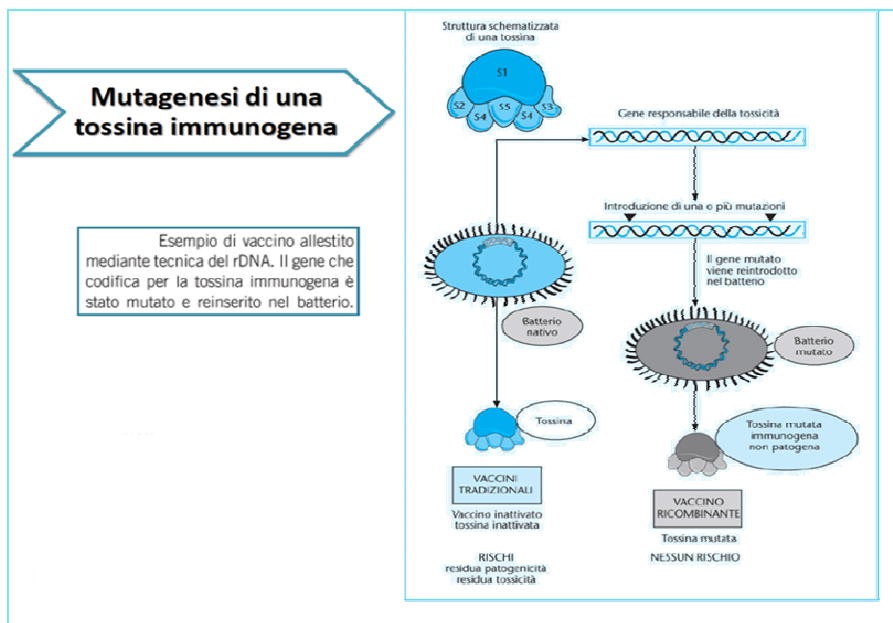
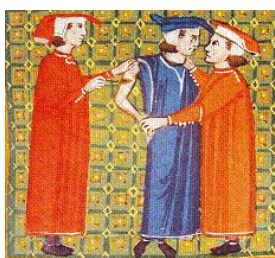


Figura 21. Detossificazione chimica e con mutazione genica del *C. diphtheriae*.
 Fonte: modificata da: D. J. Crommelin, R. D. Sindelar. Biotecnologie farmaceutiche. 2000 Ed. Zanichelli, Bologna

Un esempio è rappresentato dal vaccino contro il *Corynebacterium diphtheriae*, costituito dalla sua tossina inattivata. La proteina inattivata si ottiene introducendo nel batterio il gene codificante per la tossina mutata geneticamente (Figura 21).

 Vantaggi	 Svantaggi
Maggiore sicurezza del prodotto finale da eventuali contaminazioni	Purificazione in alcuni casi costosa
Maggiore sicurezza nella produzione e possibilità di produzione su larga scala	Perdita di antigenicità
Nessun rischio di patogenicità	Dosi multiple
	Adjuvanti richiesti

VACCINI CONIUGATI



Come vengono prodotti in modo tradizionale?

L'efficacia di una vaccinazione è legata ad una adeguata induzione della risposta immunitaria conseguenza di una corretta "presentazione" dell'antigene.

Alcuni vaccini (es. vaccini a polisaccaridi nudi contro *Streptococcus pneumoniae*, *N. meningitidis* gruppo A, Y, W135) costituiti solo da antigeni polisaccaridici, prelevati e purificati dalla superficie batterica, presentano alcuni



Svantaggi

- Scarsa immunogenicità
- Induzione solo di una risposta anticorpale senza stimolazione di alcuni tipi di linfociti (T helper)
- Nessuna memoria immunologica

Inoltre, l'immunizzazione con questi vaccini presenta il limite di non indurre una risposta immunitaria significativa nei bambini al di sotto dei 18 mesi, età in cui le malattie infettive hanno la più alta incidenza di morbosità e di mortalità.

.....e con le biotecnologie?



I limiti descritti sono stati risolti legando, ossia "coniugando", chimicamente il polisaccaride a una proteina di trasporto chiamata carrier con lo scopo di coadiuvare l'attivazione del sistema immunitario.

Le tecniche di ingegneria genetica permettono di identificare e ottenere diverse proteine carrier efficaci nell'indurre un'adeguata risposta immune. Un esempio è la tossina difterica (derivata dal *Corynebacterium diphtheriae*) privata della tossicità attraverso mutazioni specifiche realizzate con la tecnologia del DNA ricombinante (Figura 22).

Esempi di questi vaccini sono quelli contro l'*Haemophilus influenzae* di tipo b, lo *Streptococcus pneumoniae* e la *Neisseria meningitidis* di gruppo C.



Vantaggi

- Buona immunogenicità
- Risposta umorale e cellulare
- Inducono una memoria immunologica
- Protezione duratura nel tempo

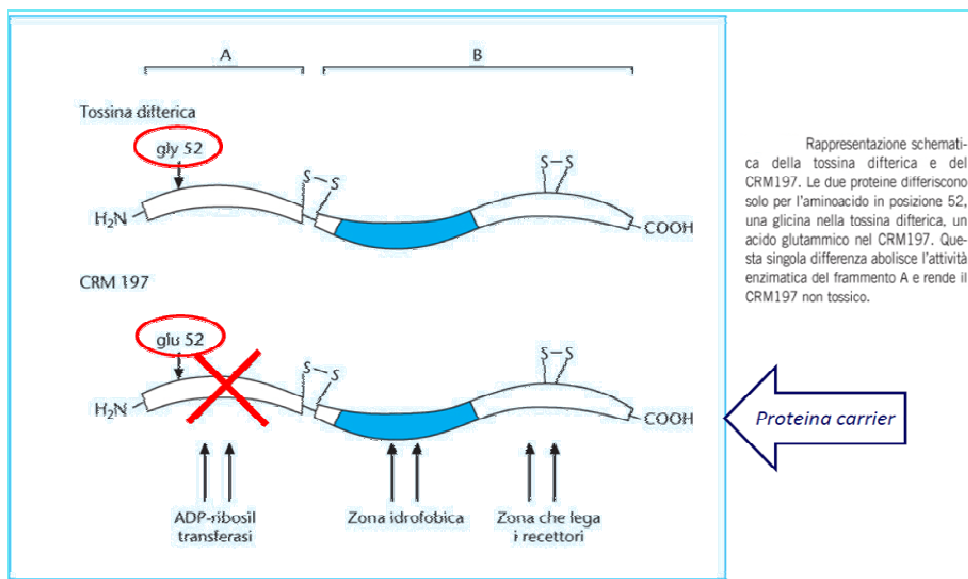


Figura 22. Coniugazione della proteina carrier con la proteina difterica.

Fonte: M.I. Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli



.....ANCORA VACCINI BIOTECNOLOGICI!!

Le biotecnologie applicate alla vaccinologia hanno permesso di realizzare vaccini diversi da quelli tradizionali.

VACCINI VIVI RICOMBINANTI O VETTORI VACCINICI

Questi vaccini sono costituiti da microrganismi vivi non patogeni o resi tali, nei quali vengono inseriti, con tecniche di biologia molecolare, geni che codificano per gli antigeni di un agente patogeno in grado di indurre una risposta immunitaria. L'inserimento del gene esogeno avviene tramite un plasmide (Figura. 23).

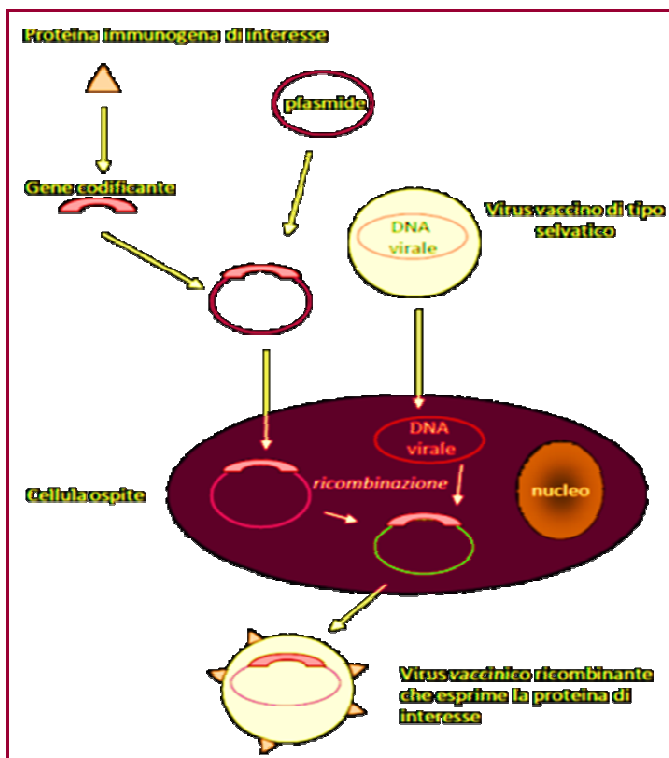


Figura 23. Produzione di un vaccino vivo ricombinante
Fonte: M.I.Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli

Il microrganismo più utilizzato come vettore è il *Vaccinia virus* per diversi motivi:

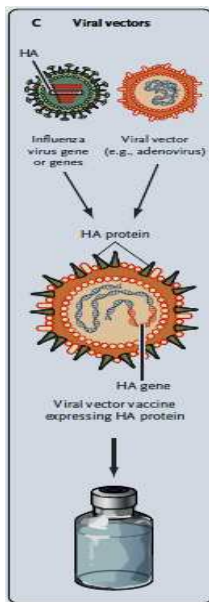
- facilità di produzione

- possibilità di realizzazione vaccini multivalenti
- provata sicurezza nei confronti dell'uomo.

Altri microrganismi utilizzati sono:

- Adenovirus
- *Salmonella typhimurium* (ceppi attenuati)
- *Mycobacterium bovis*.

Un esempio di vaccino vivo ricombinante è quello contro il virus dell'influenza in figura 24.



**Vaccino vivo ricombinante
contro il virus dell'influenza**

Costituito da particelle virali di un virus non patogeno (vettore) nel quale è stato inserito, mediante un plasmide, il gene che codifica per la proteina emoagglutinina (HA). Le particelle del virus non patogeno esprimeranno sulla loro superficie la HA del virus dell'influenza e saranno utilizzate come antigeni nel vaccino.

Fase sperimentale

Figura 24. Produzione del vaccino con vettori contro il virus dell'influenza
Fonte: Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44

 Vantaggi	 Svantaggi
Espressione di antigeni con modalità e caratteristiche simili ad una infezione naturale	Non adatti a soggetti immunodepressi ed in gravidanza
Possibilità di immunizzazione contemporanea con più antigeni	
Replicazione del vettore nell'ospite aumenta il titolo dell'antigene che attiverà la risposta immunitaria	

In tabella 3 alcuni esempi di questo tipo di vaccini.

VETTORE	ANTIGENI DA	VANTAGGI DEL VETTORE	SVANTAGGI DEL VETTORE
Virale			
Vaccinia	RSV, HIV, VSV, virus della rabbia, HSV, virus dell'influenza, EBV, <i>Plasmodium</i> spp. (malaria)	Ampiamente utilizzato nell'uomo (sicuro) Possibili inserti grandi (fino a 41 kbp)	Possibili effetti collaterali Molto immunogeno: difficile l'impiego ripetuto
Virus Avipox (dei canarini, aviario)	Virus della rabbia Virus del morbillo	Nell'uomo replicazione abortiva Scarsamente immunogeno	
Poliovirus	<i>Vibrio cholerae</i> , virus dell'influenza, HIV, <i>Chlamydia</i>	Ampiamente utilizzato nell'uomo (sicuro) Forme possibili viva/orale inattivata/parenterale	Genoma piccolo
Adenovirus	RSV, HBV, EBV, HIV, CMV	Applicabile la via orale	Genoma piccolo
Virus erpetici (HSV, CMV, varicella)	EBV, HBV	Genoma grande	
Batterico			
<i>Salmonella</i> spp.	<i>B. pertussis</i> , HBV, <i>E. coli</i> , <i>Plasmodium</i> spp., virus dell'influenza, streptococchi, <i>V. cholerae</i> , <i>Shigella</i> spp.	Forte risposta della mucosa	
Micobatteri (BCG)	<i>Borrelia burgdorferi</i> (malattia di Lyme)	Ampiamente utilizzato nell'uomo (sicuro)	
<i>E. coli</i>	<i>B. pertussis</i> , <i>Shigella flexneri</i>		

Tabella 3. Esempi di vaccini vivi ricombinanti

Fonte: M.I.Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli

VACCINI PEPTIDICI



Poiché i vaccini sono costituiti dagli antigeni di una proteina o di un polisaccaride, è stato evidenziato che nell'attivazione della risposta immunitaria non viene coinvolto tutto l'antigene ma solo alcune sue parti (epitopi) (Figura 25).

I vaccini peptidici si basano su tale assunto e sono costituiti solo dagli

epitopi ritenuti importanti ai fini della risposta immunitaria.

Il fine di questi vaccini è quello di esporre il soggetto solo a parti di molecole indispensabili all'immunizzazione.

I peptidi di sintesi sono ottenuti tramite la tecnica del DNA ricombinante che comporta la produzione di una proteina contenente diversi epitopi di interesse.

La proteina di sintesi è prodotta costruendo un Microrganismo Geneticamente Modificato (MOGM) nel quale sono espressi le diverse componenti antigeniche.

Un vaccino di questo tipo contro la malaria, causata da 4 diverse specie di *Plasmodium* (*falciparum*, *vivax*, *ovale*, *malariae*), è in fase di studio.

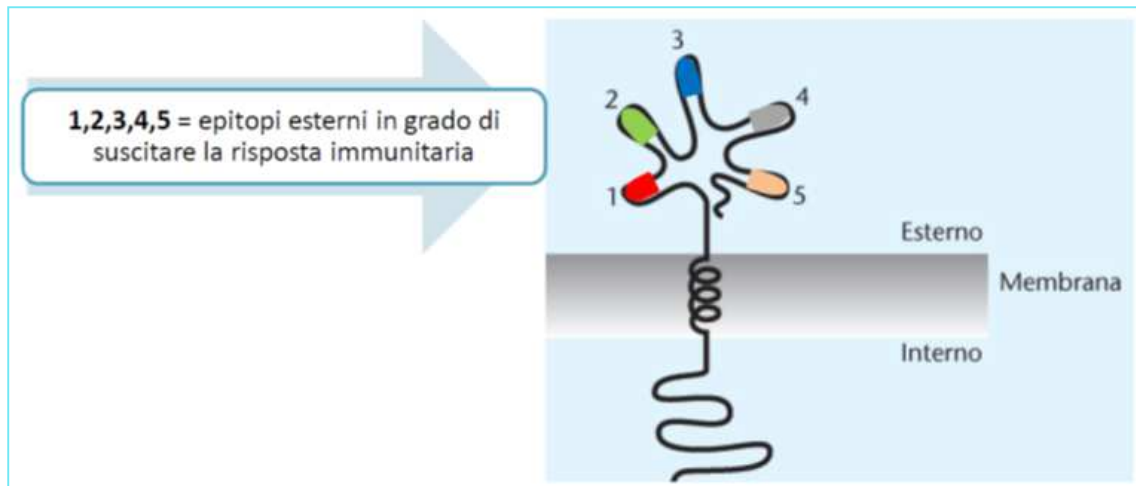


Figura 25. Disposizione degli epitopi in una proteina
 Fonte: M.I.Calabrò. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli

VACCINI A DNA



Questi vaccini sono costituiti dal gene (porzione di DNA) ricombinante dell'antigene verso la quale si vuole indirizzare la risposta immunitaria. Tale modalità di vaccinazione è ancora in via sperimentale (Figura 26).

La vaccinazione a DNA è utile contro quei patogeni verso i quali la risposta immunitaria è mediata da cellule (cellulo-mediata), come il virus dell'epatite C, i virus erpetici, l'HIV, e i patogeni batterici intracellulari (es. *Mycobacterium tuberculosis*).

Il DNA codificante per l'antigene di interesse viene inserito in un plasmide ed inoculato nel soggetto da vaccinare. Una volta che il DNA è penetrato nella cellula bersaglio, l'antigene viene prodotto ed espresso sulla superficie della cellula, attivando una risposta immunitaria.

Il DNA "nudo" può essere somministrato mediante una semplice iniezione intramuscolare o intradermica. Attualmente sono allo studio delle tecniche di inoculo alternative per ridurre la dose di DNA da iniettare, potenziando contemporaneamente la risposta immunologica. Tra le varie possibilità c'è quella di somministrare il DNA adesivo a particolari microparticelle e in alternativa quella di utilizzare vettori virali (alfavirus, adenovirus, poxvirus) o batterici opportunamente modificati allo scopo.

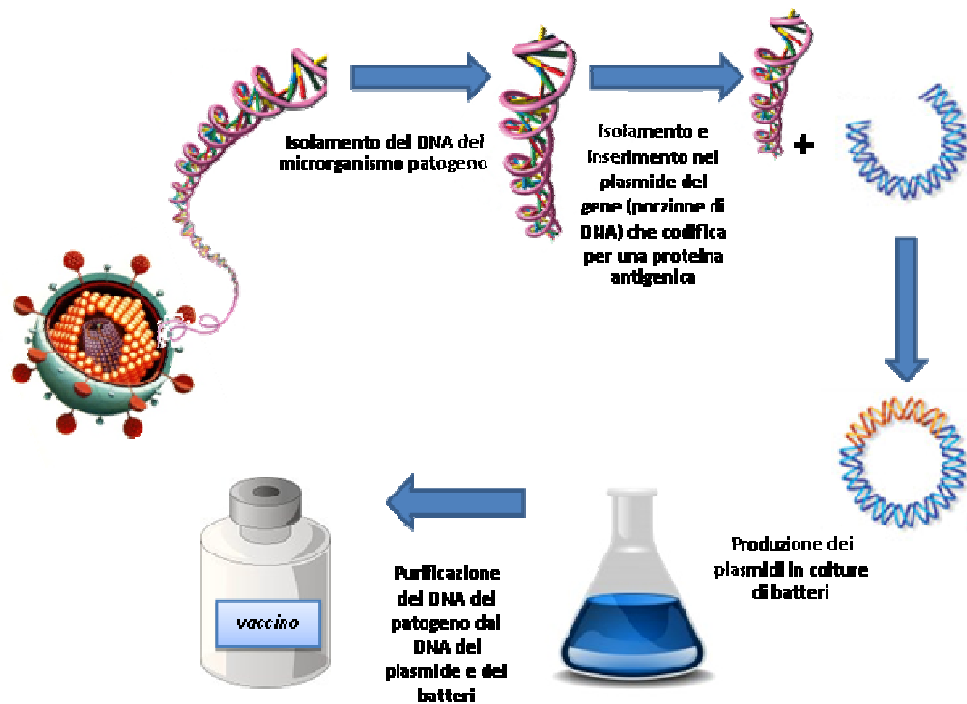




Figura 26. Produzione di un vaccino a DNA.

 Vantaggi	 Svantaggi
Risposta immunitaria superiore agli altri vaccini, uniscono la sicurezza dei vaccini a subunità e i vantaggi dei vaccini ricombinanti vivi	Sconosciuti effetti a lungo termine
Risposta immunitaria a lungo termine	Possibile formazione di anticorpi anti DNA
Risposta immunitaria anticorpale e cellulare	Possibile integrazione del DNA del vaccino nel DNA dell'ospite
Possibilità di costruire plasmidi con più antigeni	Limitato ad antigeni proteici
Termostabilità	

La Rivoluzione Genomica

COSA È LA REVERSE VACCINOLOGY???

I progressi della biologia molecolare e della bioinformatica hanno permesso di conoscere la sequenza genomica completa di molti patogeni. A partire dal 1995 sono stati sequenziati e resi noti i genomi di microrganismi come:

- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria meningitidis*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Helicobacter pylori*
- *Borrelia burgdorferi*
- *Mycobacterium tuberculosis*

La conoscenza delle codice genetico di alcuni agenti patogeni ha permesso di cambiare l'approccio di studio e di sviluppo dei vaccini. L'approccio tradizionale, postulato da Pasteur, basato sull'isolamento del patogeno, la sua inattivazione e l'inoculo nel soggetto da vaccinare è stato, in anni relativamente recenti, radicalmente rivoluzionato dalla reverse vaccinology e dalla vaccinologia strutturale (Figura 27).

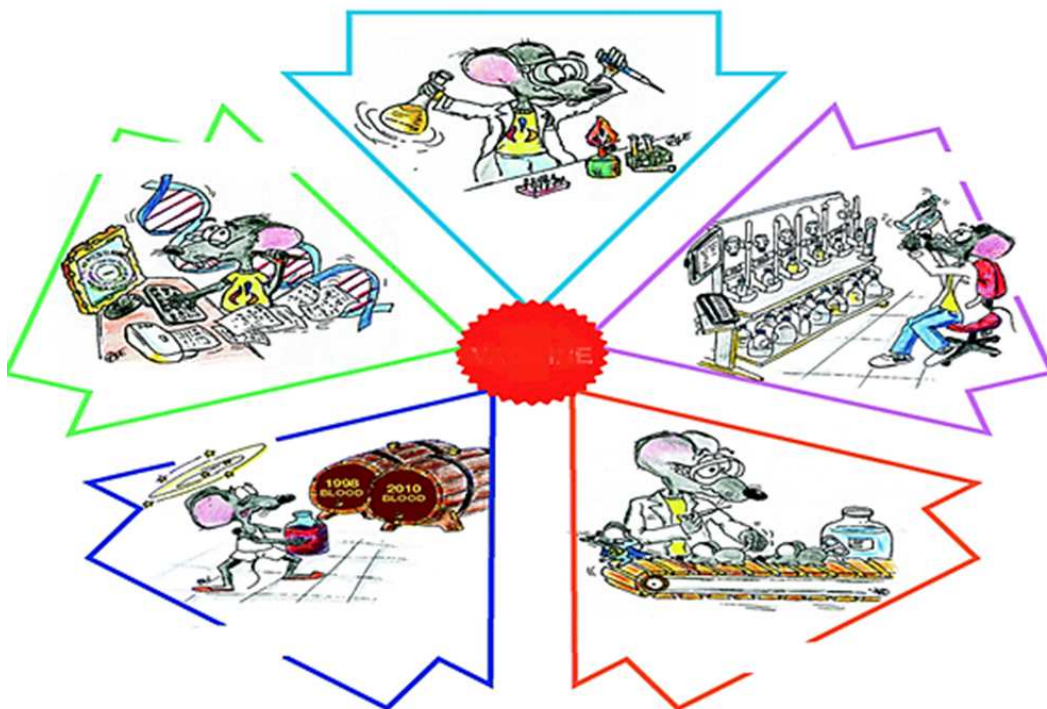


Figura 27. Metodo di studio e produzione di vaccini secondo la reverse vaccinology.

Fonte: Berti, F., Adamo, R. Recent mechanistic insights on glycoconjugate vaccines and future perspectives ACS Chemical Biology. 2013; 8 (8):1653-1663

La figura 28 mostra come lo sviluppo tradizionale di un vaccino sia basato sulla coltura in vitro del microrganismo, sull'identificazione e la selezione degli antigeni immunogenici in tempi spesso piuttosto lunghi.

La *reverse vaccinology* identifica gli antigeni candidati per il vaccino in base alle informazioni fornite dal sequenziamento genomico. Non richiede coltura in vitro del microrganismo, può essere applicata anche patogeni non coltivabili, riduce i tempi di identificazione degli antigeni e introduce un fattore di sicurezza maggiore (si lavora con il DNA e non con l'intero microrganismo patogeno).

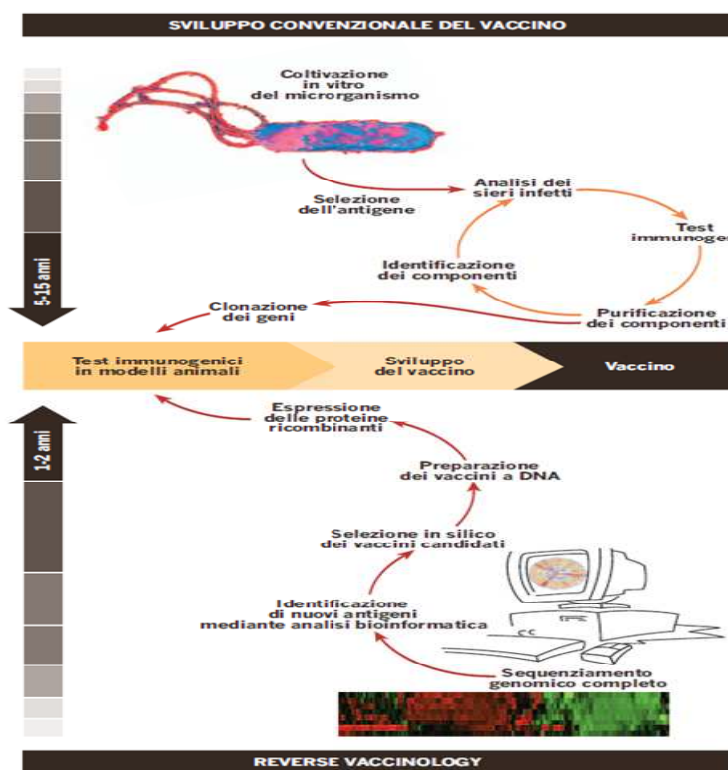


Figura 28. Comparazione tra i diversi approcci di studio e sviluppo della reverse vaccinology e della vaccinologia tradizionale.
Fonte: Vaccini e nuove tecnologie. VACCINAZIONE newsletter dal mondo dei vaccini, n. 9 Anno 2006

La *reverse vaccinology* rappresenta un nuovo approccio basato sulle conoscenze apportate dalla genomica. Sviluppata in Italia verso la fine degli anni '90 ha permesso di sperimentare e produrre vaccini partendo dalle informazioni fornite dal sequenziamento del genoma di alcuni microrganismi patogeni. ¹

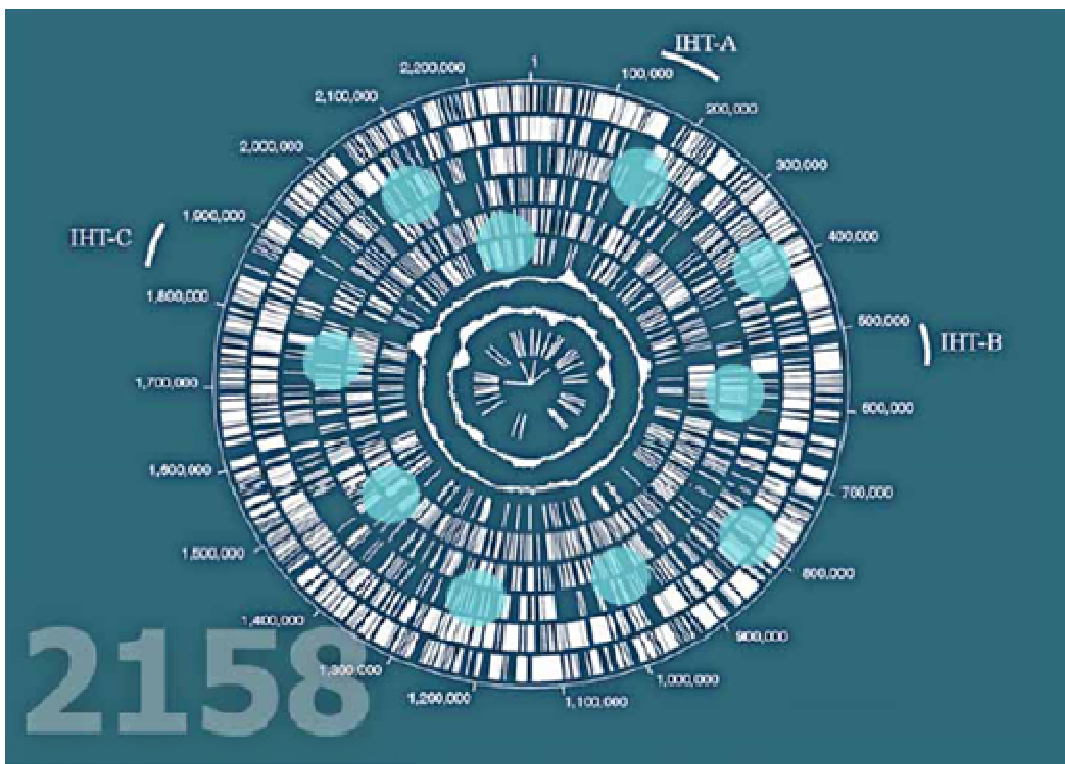
Le migliaia di geni identificati nel genoma vengono sottoposti ad una complessa analisi bioinformatica per identificare e selezionare le possibili proteine ed i relativi geni codificanti, che potrebbero avere la capacità di stimolare il sistema immunitario. ² In

¹ Donati C., Rappuoli R. Reverse vaccinology in the 21st century: Improvements over the original design. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2013.1285(1):115-132

² Delany I., Rappuoli R. and Seib K.L. Vaccines, Reverse Vaccinology, and Bacterial Pathogenesis. *Cold*

generare il processo di selezione identifica poche centinaia di geni utili che vengono clonati per produrre le proteine da essi codificate. Queste proteine saranno a loro volta valutate per le loro caratteristiche immunogeniche in vitro o in modelli animali, per verificare la loro capacità di suscitare una risposta immunologica. Da questa seconda selezione vengono isolati un ridotto numero di antigeni candidati da sottoporre a ulteriore analisi che, potenzialmente, potrebbero essere utilizzati per il vaccino.

Il primo vaccino sviluppato con questa strategia è stato quello contro il meningococco B (*Neisseria meningitidis* sierotipo B), le cui innumerevoli varianti pongono problemi dal punto di vista della sicurezza (Figure 29 e 30).^{3 4}



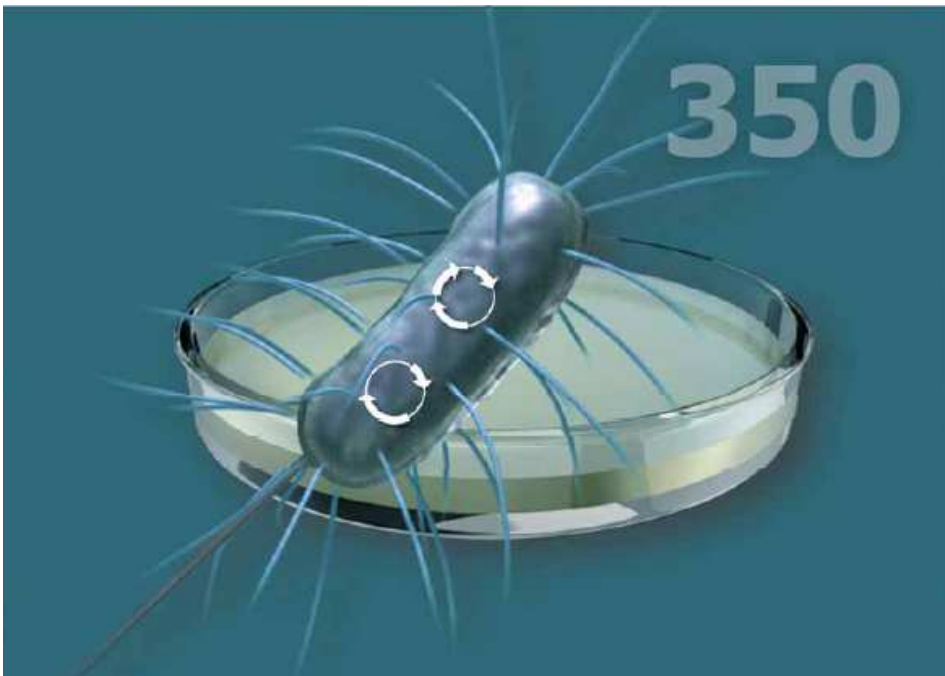
Il DNA del meningococco gruppo B è stato tutto sequenziato e i suoi geni sono stati identificati con analisi di bioinformatica.
 Risultato:
 2158 geni che codificano altrettante proteine

Figura 29. Sintesi del processo di produzione per il vaccino contro il meningococco B
 Fonte: Applicazione della Reverse Vaccinology per lo sviluppo del vaccino per il meningococco B. Marzia Monica Giuliani
http://www.dissal.unige.it/jmla/images/stories/Convegno_Mal_Invasive/Giuliani.pdf

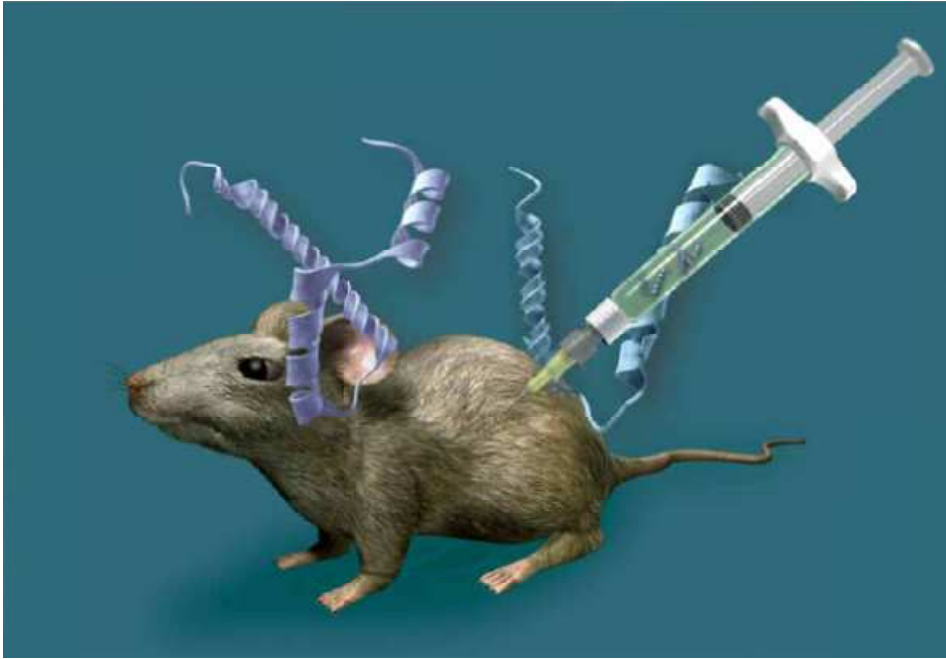
Spring Harb Perspect Med 2013;3:a012476
 3 Tettelin H, Saunders N.J., Heidelberg J. et al. Complete genome sequence of *Neisseria meningitidis* serogroup B strain MC58. *Science*. 2000;287:1809-1815.
 4 Rappuoli R., Mandl C.W., Black S. and De Gregorio E. Vaccines for the twenty-first century society. *Nature Reviews Immunology*. 2011; 11(12): 865-872



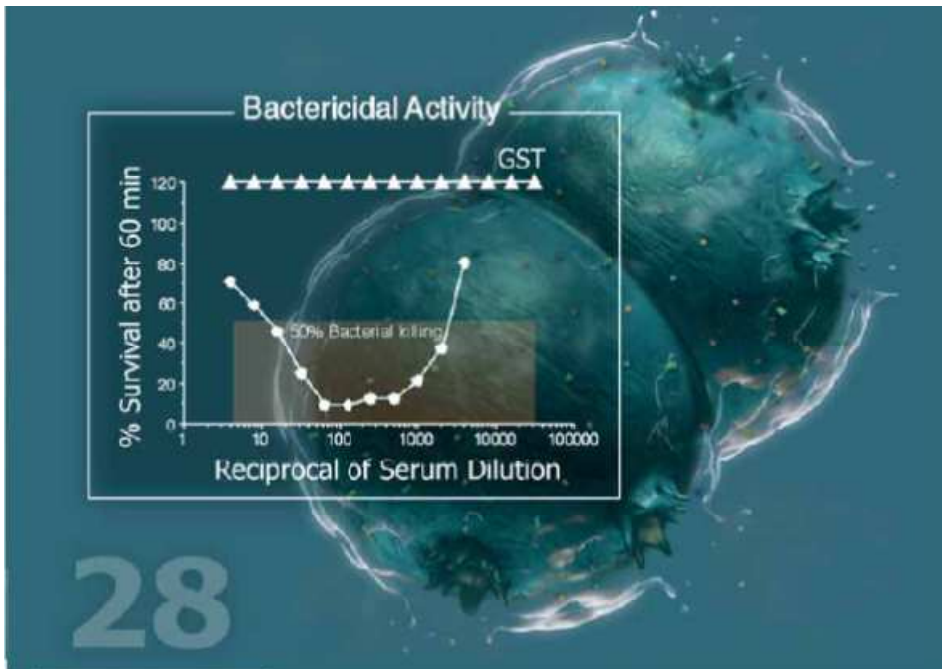
L'analisi bioinformatica ha identificato 570 geni che codificano per proteine che potrebbero essere coinvolte nella risposta immunitario dell'organismo ospite: è necessaria una verifica



I 570 geni inseriti in plasmidi sono introdotti nel batterio *Escherichia coli*, per la produzione delle corrispondenti proteine. Il processo ha permesso la produzione di 350 proteine



Ogni proteina viene iniettata in topi per verificare quali fanno parte delle superficie del meningococco e attivano la produzione di anticorpi. Sono stati trovati anticorpi che reagiscono verso gli antigeni di 91 proteine



Delle 91 proteine solo 29 sono collocate sulla superficie del meningococco e stimolano la produzione di anticorpi in grado di uccidere il batterio (proteggere dal batterio)contrastare il batterio



Figura 30. Fasi del processo di produzione per il vaccino contro il meningococco B.

Fonte: Applicazione della Reverse Vaccinology per lo sviluppo del vaccino per il meningococco B. Marzia Monica Giuliani
http://www.dissal.unige.it/jmla/images/stories/Convegno_Mal_Invasive/Giuliani.pdf

Il diverso approccio

La disponibilità del genoma completo di virus, batteri (*Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *Chlamydia pneumoniae*), parassiti (*Plasmodium falciparum*), sta permettendo l'identificazione di nuovi antigeni che potranno contribuire allo sviluppo di vaccini sicuri ed efficaci.



Vantaggi

- Sviluppare vaccini verso agenti patogeni per i quali non è possibile un approccio tradizionale
- Ottenere preparati più sicuri selezionando antigeni che subiscono meno variazioni nell'evoluzione da un ceppo all'altro.
- Riduzione dei tempi di studio e sviluppo.

Un esempio è rappresentato dalla *Neisseria meningitidis* dove cinquanta anni di studi su questo batterio hanno permesso di identificare solo una dozzina di proteine presenti sulla superficie, che potevano essere utili per lo sviluppo di un vaccino. Nel 1995 sono iniziati gli studi di sequenziamento dell'intero genoma del batterio che in 18 mesi ha evidenziato circa 90 antigeni come possibili candidati per un vaccino.

VACCINOLOGIA STRUTTURALE

La vaccinologia strutturale unisce le conoscenze della genomica e le analisi bioinformatiche della reverse vaccinology, applicandole ad un approccio strutturale. Come nella reverse vaccinology, dal sequenziamento del genoma di un patogeno vengono individuate alcune proteine come possibili candidati per lo sviluppo di un vaccino.

La selezione viene effettuata in base alla struttura tridimensionale delle proteine e all'analisi bioinformatica della capacità antigenica. Le strutture delle proteine in 3D sono analizzate con metodi di biologia computazionale per identificare i potenziali epitopi della proteina. Gli epitopi identificati, sintetizzati chimicamente, costituiranno i componenti del vaccino.

Al momento è allo studio un potenziale vaccino per il batterio *Burkholderia pseudomallei*, responsabile della melioidosi, malattia spesso letale, endemica nelle zone tropicali del Sud-Est asiatico e del Nord-Australia, particolarmente contagiosa nella stagione delle piogge e nei periodi di coltivazione delle risaie. 5

Questo nuovo modello di studio (Figura 31) apre la possibilità ad una progettazione e produzione di vaccini con costi minori e con un dimezzamento dei tempi. Inoltre questi nuovi vaccini godranno di elevata stabilità, che darà il vantaggio di poterli trasportare per lunghi viaggi e conservarli anche in ambienti con condizioni climatiche difficili.

5 Lassaux P., Peri C., Ferrer-Navarro M. et al. A structure-based strategy for epitope discovery in *Burkholderia pseudomallei* OppA antigen. *Structure*. 2013 Jan 8;21(1):167-75.

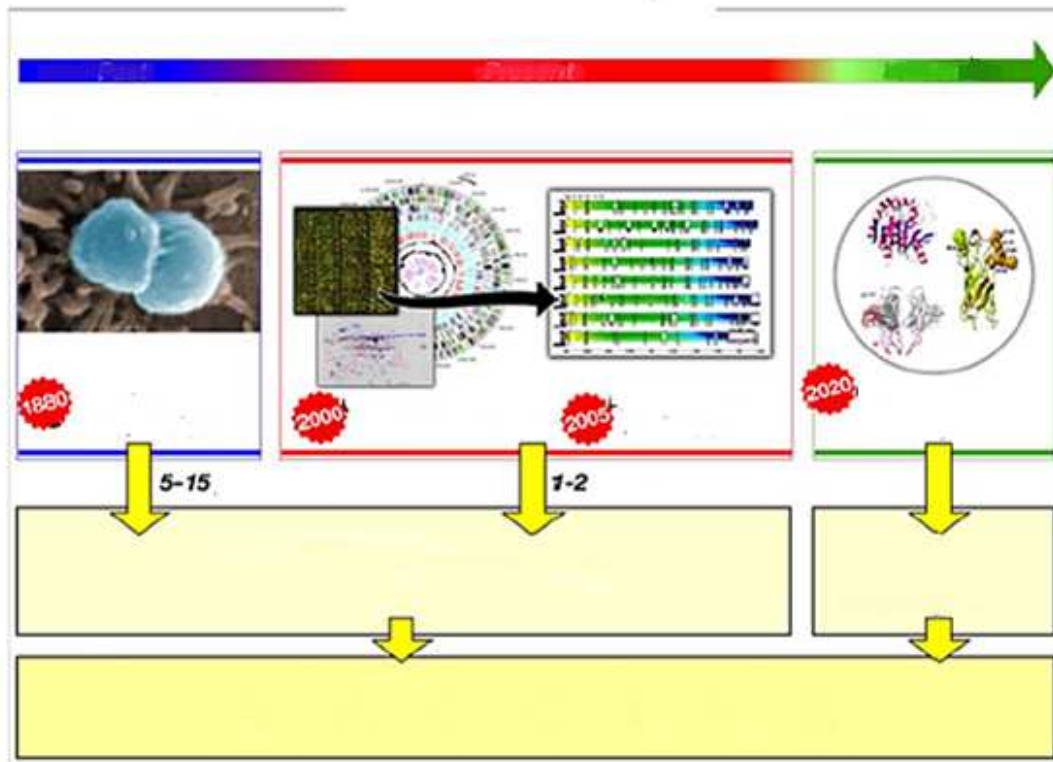


Figura 31. Sviluppo della vaccinologia.

Fonte: modificata da Serruto D, Rappuoli R. Post-genomic vaccine development. FEBS Lett. 2006;580(12):2985-92.

BIBLIOGRAFIA

Pubblicazioni

- Berti, F., Adamo, R. Recent mechanistic insights on glycoconjugate vaccines and future perspectives ACS Chemical Biology. 2013; 8 (8):1653-1663.
- Delany I., Rappuoli R. and Seib K.L. Vaccines, Reverse Vaccinology, and Bacterial Pathogenesis. Cold Spring Harb Perspect Med 2013;3:a012476.
- Donati C., Rappuoli R. Reverse vaccinology in the 21st century: Improvements over the original design. Annals of the New York Academy of Sciences. 2013.1285(1):115-132.
- Gómez E, Zoth SC, Berinstein A. Plant-based vaccines for potential human application: a review. Hum Vaccin. 2009. 5(11):738-44.
- Lambert L.C., Fauci A.S. Influenza vaccines for the future. N Engl J Med. 2010; 18;363(21):2036-44.
- Lassaux P., Peri C., Ferrer-Navarro M. et al. A structure-based strategy for epitope discovery in Burkholderia pseudomallei OppA antigen. Structure. 2013 Jan 8;21(1):167-75.
- Lollini P.L., Cavallo F., Nanni P. et al. Vaccines for tumour prevention. Nature reviews. Cancer. 2006; 6(3): 204-16.
- Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. Vaccine. 2001;19:2688-2691.
- Rappuoli R., Mandl C.W., Black S. and De Gregorio E. Vaccines for the twenty-first century society. Nature Reviews Immunology. 2011; 11(12): 865-872
- Scarselli M., Giuliani M.M., Adu-Bobie J., et al. The impact of genomics on vaccine design. Trends Biotechnol. 2005 Feb;23(2):84-91.
- Serruto D., Rappuoli R. Post-genomic vaccine development. FEBS Lett. 2006;580(12):2985-92.
- Tettelin H. Saunders N.J., Heidelberg J. et al. Complete genome sequence of Neisseria meningitidis serogroup B strain MC58. Science. 2000;287:1809-1815.
- Treanor J. Weathering the Influenza Vaccine Crisis N Engl J Med 2004; 351:2037-2040.

Vaccini e nuove tecnologie. VACCINAZIONE newsletter dal mondo dei vaccini, n. 9
Anno 2006

Libri

Calabrò M.I. Compendio di biotecnologie farmaceutiche. 2008. Ed. Edises, Napoli.

Crommelin D.J., Sindelar R.D. Biotecnologie farmaceutiche. 2000 Ed. Zanichelli, Bologna.

Glick B.R., Pasternak J.J. Biotecnologia molecolare. Principi e applicazioni del DNA ricombinante. 1999. Ed. Zanichelli, Bologna.

Janeway C.A., Travers P., Walport M., Shlomchik M. Immunobiology. 2005. Ed. Garland Science, New York. Kreuzer H., Massey A. Recombinant DNA and Biotechnology. 2010. ASM Press Washington, D.C.

Parham P. The immune system. 2005. Ed. Garland Science, New York.

Rappuoli R., Vozza L. I vaccini dell'era globale. 2013. Ed. Zanichelli, Bologna.

Siti web

Applicazione della Reverse Vaccinology per lo sviluppo del vaccino per il meningococco
B. Marzia Monica Giuliani
http://www.dissal.unige.it/jmla/images/stories/Convegno_Mal_Invasive/Giuliani.pdf

Approfondimento in tema di Tecniche alternative agli OGM in agricoltura

L'AGRICOLTURA SOSTENIBILE, POSSIBILE ALTERNATIVA ALL'AGRICOLTURA CONVENZIONALE E ALLE AGRO BIOTECNOLOGIE?

Dott.ssa Laura Casorri¹

Dott.ssa Eva Masciarelli¹

¹ INAIL - Settore Ricerca Certificazione e Verifica, DIPIA, Via Alessandria 220/E, 00198 Roma.

Bioteologie e agricoltura

Il diffondersi delle moderne bioteologie e l'impiego degli Organismi Geneticamente Modificati (OGM) in agricoltura e nell'alimentazione ha determinato, negli ultimi anni, un intenso ed acceso dibattito che ha coinvolto il mondo scientifico e l'opinione pubblica.

La problematica è molto ampia, e non è facile riassumere un fenomeno così complesso e correlato a numerosi ambiti delle attività umane.

I consumatori e gli agricoltori europei, soprattutto italiani, hanno manifestato un atteggiamento di opposizione verso gli OGM esprimendo preoccupazioni sulla conservazione delle piante, sulla biodiversità vegetale e animale, sull'ambiente e sulla salute umana e degli animali.



Il mondo scientifico stesso sembra non essere ancora giunto ad un'opinione comune. Alcuni sostengono che la diffusione e lo sviluppo di nuove bioteologie applicate all'agricoltura costituisca un

modo per incrementare il livello produttivo delle piante con effetti trascurabili sull'ambiente e sulla salute umana e degli animali, poiché le produzioni biotech sono più controllate.

Altri si oppongono decisamente in quanto sostengono che l'agricoltura europea abbia un ruolo fondamentale nella tutela e nella conservazione della biodiversità, dell'ambiente e del paesaggio rurale e nel mantenere la memoria storica di un determinato territorio e che l'introduzione degli OGM porterebbe alla scomparsa di tutto questo.

In parte la causa è dovuta a conoscenze superficiali in materia di OGM, ma in Italia dipende anche dalle specifiche caratteristiche del sistema agro-alimentare orientato soprattutto verso produzioni tipiche e di elevata qualità, dalla difesa del territorio e salvaguardia del paesaggio e dall'eccessiva frammentazione delle aziende agricole

italiane che rende difficile la separazione adeguata delle coltivazioni geneticamente modificate da quelle convenzionali e biologiche.



A causa del blocco delle sperimentazioni ed dei regolamentazioni stringenti, ormai gli OGM non sono in grado di garantire un futuro agricolo sostenibile, come richiesto in tutto il mondo anche attraverso le nuove normative in tema di agricoltura.

In Europa, ad esempio, la Direttiva 2009/128/CE suggerisce che un approccio sostenibile all'uso de pesticidi in agricoltura è ormai una scelta obbligata dettata da

precise esigenze di sopravvivenza e che la biodiversità rappresenta un patrimonio che deve essere salvaguardato e tutelato. La sostenibilità ormai non può prescindere dalla conoscenza integrata di problematiche produttive, ambientali, energetiche e sociali all'interno di un sistema produttivo complesso e multifunzionale quale l'agroecosistema, che produce beni alimentari, industriali, ambientali, culturali, energetici e servizi per i cittadini.

La gestione sostenibile degli agroecosistemi richiederà inizialmente una riorganizzazione dei modelli agricoli imponendo un'inversione di rotta, un ritorno alla biodiversità che l'uomo ha ottenuto nel tempo in termini di varietà e tecniche culturali, mediato però dalle moderne conoscenze, (tecnologie digitali, informatica, biotecnologie e nanotecnologie), per poter riattingere al patrimonio storico delle varietà tradizionali che costituiscono una ricchezza dal punto di vista genetico. Il reperimento e la caratterizzazione di queste risorse genetiche è importante per ottenere, attraverso miglioramento genetico, colture adatte ad un sistema di agricoltura sostenibile (più produttive, con maggior resistenza ai patogeni ed alle caratteristiche ambientali anche locali, e con particolari proprietà nutritive).

L'impiego delle tecniche tradizionali abbinate alle biotecnologie potrebbero permettere una drastica riduzione dei tempi di sviluppo delle nuove varietà in modo da contribuire a migliorare la sostenibilità dell'agricoltura perché meglio si adattano ai territori di origine. Inoltre sarà necessario sviluppare o recuperare tecniche colturali e rotazioni adatte ai singoli contesti agricoli al fine di limitare il consumo di risorse.

La nuova sfida è quindi quella di impiegare le agrobiotecnologie per supportare lo sviluppo dell'agricoltura sostenibile, e contemporaneamente garantire il mantenimento della biodiversità in termini di prodotti, patrimonio genetico e memoria storica di un territorio, con tutte le sue implicazioni culturali, etiche e sociali.



L'AGRICOLTURA DALLA RIVOLUZIONE VERDE AD OGGI

L'agricoltura attuale è figlia della Rivoluzione verde che, negli anni '40 (nel 1944 la Rockefeller Foundation fondò un Istituto per incrementare la produttività agricola delle fattorie messicane), ha incrementato le ricerche sui pesticidi e sulle varietà geneticamente selezionate, con la finalità di combattere la fame nel mondo.



L'agricoltura convenzionale, basata su un metodo



di coltivazione generalmente intensivo, utilizza infatti prodotti chimici per la fertilizzazione e la difesa delle piante che possono comportare il ritrovamento di residui chimici nei prodotti (accettabili solo al di sotto dei limiti di legge) e problemi ambientali legati ad alcune pratiche. Le tecniche

colturali convenzionali, più invasive ed aggressive, l'estrema semplificazione della biocenosi (monocolture, allevamenti senza terra, impiego continuativo dello stesso principio attivo, ecc.) e l'insufficiente riciclo di sostanza organica, hanno intaccato l'equilibrio dell'agroecosistema in modo ormai insostenibile.



L'inquinamento delle acque interne (bacini lacustri, fiumi, falde freatiche) e l'eutrofizzazione delle acque marine può essere considerata una conseguenza diretta di tali tecniche colturali.

D'altra parte anche le agrobiotecnologie, che propongono un impiego controllato dei pesticidi, sono da sempre oggetto, soprattutto nel nostro paese, di un acceso dibattito tra opinione pubblica, mondo della ricerca e istituzioni.



Al fine di colmare quel divario che si è venuto a formare tra le esigenze dei produttori e quelle dei consumatori, garantendo allo stesso tempo anche la tutela dell'ambiente, sarebbe necessario trovare un'alternativa sia alle forme di agricoltura convenzionali, per ridurre l'impatto ambientale

derivante dall'uso degli agrofarmaci, sia alle agrobiotecnologie.

Questa alternativa sembra essere rappresentata oggi dalle forme di agricoltura sostenibile, come proposto infatti dalla nuova normativa europea (Direttiva 2009/128/CE e Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio), sull'utilizzo sostenibile dei fitofarmaci, che ha lo scopo di ridurre i rischi e l'impatto dei pesticidi sulla salute umana (operatori agricoli e consumatori) e sull'ambiente e di promuovere lo sviluppo e l'introduzione della difesa integrata e di metodi e tecniche alternative che limitino significativamente l'uso dei pesticidi.

Oggi l'agricoltura si divide in convenzionale (circa il 90%) e non-convenzionale che è in forte crescita (più del 20% nel 2010). La principale differenza è la presenza o l'assenza durante le fasi di coltivazione dei concimi chimici e dei pesticidi di sintesi e dal divieto della coltivazione di OGM (Organismi Geneticamente Modificati).

L'agricoltura non-convenzionale include l'agricoltura biologica, la biodinamica e l'agro-omeopatia tutte caratterizzate dalla tutela della fertilità del suolo, dall'uso delle risorse non rinnovabili, oltre che dalla biodiversità agricola e naturale attraverso l'impiego di tecniche agronomiche rispettose dell'ambiente, dei cicli naturali e del benessere animale. Il metodo di coltivazione incide fortemente sulla qualità del prodotto finale e i prodotti da agricoltura non-convenzionale sono considerati dai consumatori più sicuri e più saporiti.

In questi ultimi anni inoltre la FAO ha proposto delle linee guida per riuscire a produrre in modo sostenibile più cibo per la popolazione mondiale in continua crescita che sono state raccolte nella pubblicazione *"Save and Grow" Food And Agriculture Organization Of The United Nations Rome, 2011* curata dalla Divisione FAO Produzione vegetale e protezione delle piante. Questo nuovo approccio è rivolto soprattutto ai piccoli contadini dei paesi in via di sviluppo (circa 2,5 miliardi di persone, famiglie rurali a basso reddito) bisognosi di economizzare i costi di produzione, realizzare floridi sistemi



agro-alimentari, massimizzare le rese ed investire i risparmi nella salute e nella scolarizzazione.

Nel passato la Rivoluzione verde ha permesso di produrre cibo per la popolazione mondiale che tra il 1960 ed il 2000 era raddoppiata (da 3 a 6 miliardi di individui), salvando dalla carestia un miliardo di persone. Oggi però la produzione intensiva non riesce a soddisfare le esigenze alimentari (la produzione deve crescere del 70% nel mondo, e

del 100% nei paesi in via di sviluppo) ed ambientali del nuovo millennio.

La FAO propone l'impiego di pratiche agronomiche che permettano una migliore gestione del suolo, preservandolo dagli effetti negativi dell'aratura profonda. La copertura organica del suolo viene mantenuta effettuando una lavorazione minima del terreno, i residui delle coltivazioni sono lasciati sui campi e si applica la rotazione delle colture alternando quelle cerealicole con leguminose che arricchiscono il terreno.

Altre tecniche suggerite dalla Fao e dai suoi partner nella pubblicazione *"Save and Grow"* sono l'irrigazione di precisione, per produrre di più con meno acqua, il dosaggio più preciso dei fertilizzanti, per raddoppiare i



nutrienti assorbiti dalle piante e la gestione integrata delle infestazioni parassitarie. In questo modo si possono incrementare le rese produttive anche di sei volte, come dimostrato dai test effettuati in Africa australe.

L'AGRICOLTURA CONVENZIONALE

L'agricoltura convenzionale è una forma di agricoltura che viene praticata, a partire dagli anni 50, nei Paesi ad economia di mercato, Italia compresa, dove massicci investimenti di capitali e di mezzi tecnici che hanno determinato il passaggio da un regime estensivo ad uno intensivo, incrementando la produttività mediante l'impiego della meccanizzazione, della chimica e del miglioramento genetico. Il sistema agricolo tradizionale è stato sostituito, grazie al progresso tecnologico e biotecnologico, da metodi colturali più efficienti che hanno però determinato una serie di squilibri ecologici e reso instabili gli agrosistemi.



Numerosi sono gli aspetti critici di questa trasformazione e differente è l'impatto che ognuno di essi ha avuto nei vari contesti. Decenni di coltivazione intensiva hanno però degradato terre inizialmente fertili, esaurito le falde acquifere, determinato inasprimenti di infestazioni parassitarie, eroso la biodiversità,

inquinato l'aria, il suolo e l'acqua.

La meccanizzazione ha un impatto rilevante poiché produce effetti positivi, che si riscontrano a breve termine (incremento della produttività, miglioramento della fertilità dei terreni argillosi, distribuzione di concimi e ammendanti, ambiente ospitale

per le radici delle piante agrarie, riduzione delle piante infestanti) ed effetti negativi, che si manifestano invece a lungo termine (riduzione della sostanza organica e degradazione della fertilità fisica e chimica, predisposizione dei terreni declivi all'erosione, alterazione della composizione della flora infestante).

Inoltre le siepi, le consociazioni, i tradizionali impianti idraulico-agrari, essendo di intralcio alla meccanizzazione, che richiede appezzamenti di forma regolare, privi di ostacoli, sono stati eliminati dagli appezzamenti coltivati, determinando una sostanziale semplificazione degli elementi paesaggistici rurali a danno, soprattutto, della biodiversità.

Un altro aspetto problematico dell'agricoltura intensiva è la fertilizzazione minerale che, per ragioni tecniche, organizzative ed economiche ha sostituito quasi del tutto quella organica, ma predispone l'agrosistema a squilibri destabilizzanti.

L'impiego sistematico dei concimi minerali contribuisce, alla diminuzione del tenore in sostanza organica del suolo e incrementa, in relazione al ciclo dell'azoto e dello zolfo, le perdite per dilavamento, portando, nel tempo, ad un progressivo decadimento della fertilità. Questi effetti sono visibili soprattutto nei terreni abbandonati, nei quali è evidente una diminuzione della produttività del biotopo fino a situazioni estreme di desertificazione.

Le piante agrarie, sottoposte a regimi elevati di concimazioni azotate, manifestano inoltre una maggiore vulnerabilità nei confronti delle infestanti nitrofile e degli attacchi parassitari, poiché, i tessuti più teneri e più facilmente aggredibili e il maggiore rigoglio vegetativo, determinano condizioni microclimatiche più favorevoli alla diffusione di alcuni organismi, soprattutto cocciniglie e funghi patogeni.



Il passaggio alla monocoltura e alla monosuccessione, reso possibile grazie alla chimica, alla meccanica e alle biotecnologie, ha determinato indubbi vantaggi economici a breve e medio termine, soprattutto in aziende di grandi dimensioni (minore diversificazione dei trattamenti e delle modalità di produzione equivale ad un forte abbattimento dei costi). La geodisinfestazione previene infatti gli effetti negativi



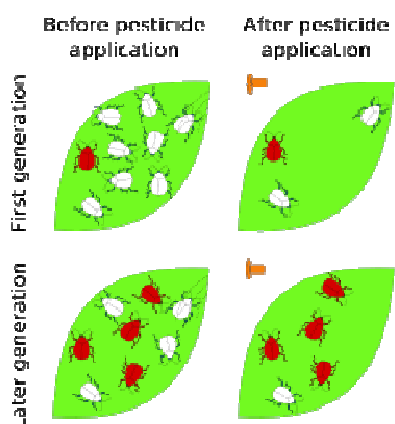
di parassiti e patogeni nel suolo, la concimazione minerale corregge il depauperamento selettivo, il diserbo chimico e i trattamenti insetticidi e antiparassitari prevengono o riducono l'impatto degli antagonisti, ma l'impiego di queste tecniche incrementa

notevolmente l'instabilità dell'agrosistema. I trattamenti chimici polivalenti riducono sensibilmente la biodiversità ostacolando o impedendo del tutto il completamento dei cicli degli organismi utili, mentre gli agrofarmaci ad elevata specificità d'azione inducono una pressione selettiva che determina fenomeni di resistenza a base genetica soprattutto in organismi ad alto potenziale riproduttivo (acari, afidi, funghi e diverse piante erbacee).

In sintesi gli effetti causati dall'agricoltura intensiva

- fine di ecosistemi agricoli tradizionali e riduzione drastica della biodiversità;
- riduzione o scomparsa delle popolazioni di organismi utili;
- aumento dell'incidenza delle popolazioni degli organismi dannosi;
- passaggio di organismi dannosi da uno stato di scarsa dannosità ad uno di alta dannosità;
- induzione di fenomeni di resistenza genetica;
- incremento progressivo del numero di trattamenti e delle dosi di principio attivo.

L'induzione della resistenza genetica è dovuta all'uso ripetuto di fitofarmaci con



elevata specificità d'azione che si comportano da agenti mutageni ed esercitano una pressione selettiva in grado di determinare la rapida propagazione di mutazioni in organismi con frequenti avvicendamenti generazionali e alto potenziale riproduttivo (funghi fitopatogeni, acari fitofagi, alcuni insetti e piante). L'induzione della resistenza è però differenziale poiché interessa prima i fitofagi e solo in seguito i loro predatori.

All'incremento progressivo dell'uso dei fitofarmaci corrisponde inoltre una crescente difficoltà di

controllo degli organismi dannosi, che ne comporta la richiesta sempre più massiccia.

La scelta delle specie e delle varietà in agricoltura intensiva è basata principalmente su criteri economici che consentono di fornire elevate produzioni unitarie e standard qualitativi richiesti dal mercato. Vengono privilegiate le cultivar selezionate e in molti casi sono abbandonate le varietà a favore degli ibridi, come nel caso del mais (scomparsa definitiva delle vecchie varietà sostituite dagli ibridi).

Generalmente in orticoltura le vecchie varietà si trovano ancora negli orti familiari, destinati all'autoconsumo, mentre in frutticoltura intensiva sono ampiamente diffuse le cultivar



e le selezioni clonali richieste dal mercato (elevate prestazioni produttive e standard merceologici di natura estetica).



L'agricoltura intensiva produce quindi effetti dannosi sulla biodiversità genetica e porta ad una progressiva e preoccupante riduzione della variabilità (uniformità genetica) ed alla definitiva perdita di un numero inestimabile di geni utili (caratteri di rusticità, resistenza alle avversità e capacità di adattamento); gli agrosistemi

divengono più instabili e vulnerabili agli eventi, dipendenti da una crescente richiesta di energia ausiliaria per il loro mantenimento e con una sempre maggiore tendenza alle calamità naturali.

LA DIRETTIVA 2009/128/CE E IL REGOLAMENTO (CE) 1107/2009

La Direttiva 2009/128/CE, che definisce *“un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi”*, riguarda quel gruppo di prodotti definiti, ai sensi del Reg. (CE) 1107/2009), *“Prodotti Fitosanitari”* e propone di ridurre i rischi e gli impatti sulla salute umana e sull'ambiente promuovendo quella che da sempre viene definita Produzione Integrata o, più recentemente, Agricoltura Integrata. Di estrema rilevanza è la regolamentazione dell'utilizzo dei prodotti fitosanitari contemporaneamente orientato verso la sostenibilità.

La Direttiva, allo scopo di promuovere un utilizzo ecosostenibile degli agrofarmaci, impone a partire dal 2014 alcuni obblighi che costituiscono la base del processo di produzione integrata (monitoraggio dei dati meteorologici e delle avversità delle colture, elaborazione dei dati di monitoraggio per i servizi di preavviso ed avvertimento, coordinamento dell'assistenza tecnica ed il controllo sui criteri obbligatori).



La Direttiva contiene inoltre una serie di indicazioni sulla gestione degli agrofarmaci che hanno lo scopo di ridurre complessivamente i quantitativi usati e di prevenire i possibili rischi per la salute dell'uomo e dell'ambiente [adozione della difesa integrata, formazione specifica degli utilizzatori (distributori e consulenti), soluzioni tecniche e attrezzature].

Gli Stati membri hanno istituito dei Piani d'azione nazionali (PAN) che prevedono le disposizioni in materia d'informazione, le misure specifiche per la tutela dell'ambiente acquatico e dell'acqua non potabile, le misure per la riduzione dell'uso dei prodotti fitosanitari o dei rischi in aree specifiche, i

provvedimenti per la manipolazione e lo stoccaggio dei prodotti fitosanitari, il trattamento dei relativi imballaggi e delle rimanenze, la promozione della difesa integrata e la messa a punto di indicatori di rischio. Inoltre, attraverso l'adozione di piani nazionali, gli Stati membri, in funzione delle loro specifiche condizioni agricole e ambientali, dovranno definire gli obiettivi quantitativi al *“fine di ridurre la dipendenza dall'utilizzo di pesticidi”* definiti *“candidati alla sostituzione”* dal Regolamento 1107/2009 (dal 1° gennaio 2014 gli utilizzatori professionali di prodotti fitosanitari dovranno adottare i principi della difesa integrata delle colture).



Al fine di tutelare i lavoratori, ridurre i costi di produzione ed ottenere colture più sane e a minor impatto ambientale è fondamentale orientare l'agricoltura verso pratiche fitoiatriche alternative o integrate che favoriscano una riduzione dei fitofarmaci.

La Direttiva stabilisce inoltre:

- la formazione degli utilizzatori professionali, dei distributori e dei tecnici;
- l'adozione di misure adeguate alla tutela dell'ambiente acquatico e delle fonti di approvvigionamento dell'acqua potabile;
- l'informazione e la sensibilizzazione della popolazione;
- l'istituzione di un sistema trasparente di notifica e sorveglianza dei progressi compiuti con relazioni sui PAN;
- la riduzione dei rischi e l'elaborazione di indicatori adatti al controllo mediante la definizione di obiettivi quantitativi.



Diversi sono gli aspetti innovativi, come la trattazione per la prima volta nel dettato normativo della figura del consulente, già da tempo operante sul territorio. La direttiva stabilisce che ne devono essere sanciti il ruolo e l'adeguatezza del livello delle conoscenze, che nel nostro Paese corrisponderà ad un opportuno titolo di studio. Anche per i distributori è previsto il possesso di un adeguato titolo di studio.

Il Regolamento 1107/2009, che abroga le Direttive CEE 79/117/CEE e 91/414, modifica i criteri relativi all'autorizzazione e all'immissione in commercio dei prodotti fitosanitari allo scopo di incrementare la protezione dell'ambiente e della salute umana e animale. Il regolamento introduce inoltre i criteri per escludere a priori le sostanze attive

identificate come pericolose per la salute dell'uomo, degli animali o dell'ambiente e presenta una lista di "sostanze attive candidate alla sostituzione".

Obiettivo di questa nuova normativa sembrerebbe essere quello di controllare parassiti, erbe infestanti e patologie delle piante e garantire la qualità, la convenienza e la sicurezza degli alimenti applicando elevati standard di sicurezza e mantenendo il giusto equilibrio tra costi e benefici.

LA DIRETTIVA 2009/128/CE IN EUROPA

L'attuazione della Direttiva 2009/128/CE sta avvenendo con modalità differenti nei diversi paesi dell'UE. In Italia si discute una proposta di piano contenente misure restrittive per le imprese agricole, mentre in Francia, Gran Bretagna e Spagna sono stati approvati dei PAN che vanno a perfezionare le misure già attuate dalla PAC (Politica Agricola Comunitaria), comprese quelle agro ambientali e la normativa in materia di tutela delle acque che hanno già permesso di formare gli agricoltori ad un approccio sostenibile. Le misure previste in questi piani si limitano ad integrare quanto già stabilito dalle norme nazionali prevedendo alcuni indicatori per valutare come migliorerà ulteriormente nel tempo l'impiego dei prodotti fitosanitari.

L'impostazione del piano britannico è opposta a quella adottata in Italia in quanto le associazioni di categoria sono state consultate sin dall'inizio per l'elaborazione del piano, mentre nel nostro Paese sono state escluse poiché il Ministero dell'Ambiente ha imposto l'estromissione delle organizzazioni professionali agricole ritenendole portatrici di interesse e incapaci di fornire un quadro realistico dei progressi e dei problemi incontrati dalle imprese agricole nell'impiego dei fitofarmaci.

Gran Bretagna e Spagna hanno inoltre rispettato rigorosamente l'obiettivo di ridurre il rischio nell'impiego di fitofarmaci attraverso misure di mitigazione e non di riduzione quantitativa nel loro uso, che sono frutto dell'evoluzione innovativa delle tecniche agronomiche e della ricerca (nuove efficaci molecole di sintesi con minor livello di tossicità).

Il piano adottato dai francesi, Ecophito (<http://agriculture.gouv.fr/Les-avancees-du-plan-par-axe>), oltre a porre degli obiettivi mirati, è supportato per la sua realizzazione da 41 milioni di euro. Si tratta di un progetto operativo, ad adesione volontaria, opportunamente finanziato per permettere di realizzare la riduzione dell'uso dei fitofarmaci attraverso azioni mirate ed incentivate. Il piano è articolato in nove assi (monitorare l'impiego di fitofarmaci; diffondere pratiche agricole e sistemi a ridotto impiego di fitofarmaci; ricerca per coordinare e accelerare l'innovazione; formare e inquadrare per un uso monitorato e sicuro; sorvegliare per trattare nel modo più corretto; tenere in debita considerazione le differenze regionali; agire sulle aree non agricole; organizzare la governance del piano e comunicare; rafforzare la sicurezza per

gli utilizzatori) sostenuti da 114 azioni. In Ecophito viene dato ampio spazio alla tecniche di coltivazione a basso impatto ambientale attraverso una rete di 1.900 imprese agricole che hanno adottato volontariamente la riduzione dei fitofarmaci impiegati. In base al principio che ricerca, dimostrazione e pratiche agricole, sono strettamente collegate, gli agricoltori esprimono i loro bisogni che vengono quindi recepiti tramite il finanziamento di progetti di ricerca mirati i cui risultati verranno poi applicati nelle imprese agricole stesse.

Il piano italiano, la cui elaborazione è stata coordinata dal Ministero dell'Ambiente, prevede una serie di adempimenti obbligatori a carico delle imprese agricole, non contempla l'intervento della ricerca nel sostenere le difficoltà che le imprese agricole incontrano nel ridurre l'uso di fitofarmaci e attribuisce i costi di tale operazione a carico delle imprese agricole stesse.

L'agricoltura italiana, paradossalmente all'avanguardia nel mondo, riguardo all'impiego corretto dei fitofarmaci, viene quindi penalizzata da questo piano di attuazione che pone le imprese italiane in una condizione di svantaggio concorrenziale rispetto a quelle inglesi, francesi e spagnole ed alle altre imprese che operano sul mercato europeo.

L'AGRICOLTURA INTEGRATA

L'agricoltura integrata, o produzione integrata, prevede un sistema agricolo di produzione a basso impatto ambientale, limitando sensibilmente l'impiego dei mezzi tecnici per tutelare l'ambiente e la salute dei consumatori:

- riduzione dell'uso di prodotti chimici di sintesi (agrofarmaci e concimi);
- conservazione della fertilità del suolo;
- avvicendamento colturale;
- sovescio delle colture;
- prevenzione dei fenomeni erosivi;
- uso razionale delle risorse idriche;
- conservazione e incremento della biodiversità;
- divieto di impiego di Organismi Geneticamente Modificati (OGM) e loro derivati.

In sintesi la sicurezza alimentare e la qualità del prodotto finale dipendono dalla garanzia dell'origine delle produzioni, e dalla riduzione dei residui di prodotti chimici.



La fertilizzazione

Viene effettuata seguendo criteri conservativi, secondo i quali deve essere sfruttato,



nei limiti del possibile, il ciclo della sostanza organica, utilizzando tecniche che limitano la mineralizzazione e che aggiungono al suolo materia organica, integrando eventualmente i fabbisogni delle colture con la concimazione chimica. Le dosi, i tempi e la tecnica di distribuzione del concime chimico devono essere controllati per prevenire i fenomeni di dilavamento e inquinamento delle falde acquifere.

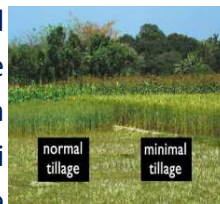


La lavorazione del terreno

Le lavorazioni del terreno devono essere effettuate prevenendo la degradazione della struttura del terreno e l'erosione. Senza escludere le lavorazioni tradizionali, sono considerate ottimali le tecniche conservative del minimum tillage (minima), del sod seeding (non lavorazione del suolo), l'inerbimento, spesso imposte dai disciplinari di produzione integrata, in caso di terreni declivi oltre certe pendenze, per prevenire l'erosione e il dissesto idrogeologico.

Il controllo delle infestanti

Il controllo delle piante infestanti deve essere effettuato limitando il diserbo chimico e favorendo metodi alternativi come le false semine, le rotazioni colturali, il diserbo meccanico, ecc. In caso sia necessario intervenire con prodotti chimici vengono utilizzati principi attivi a basso impatto, poco persistenti, per evitare l'inquinamento del suolo e delle falde.



La difesa delle colture

La difesa delle colture, basata esclusivamente sulla lotta integrata, consiste nell'impiego razionale dei mezzi di difesa biologici, chimici,

biotecnici e agronomici.

La lotta integrata utilizza la lotta biologica che, attraverso il monitoraggio delle popolazioni dei fitofagi e dell'andamento delle infestazioni, consente di intervenire solo al di sopra della soglia di intervento, secondo i criteri della lotta guidata.

La lotta biologica è una modalità di difesa dai parassiti che impiega esclusivamente mezzi biologici ed agronomici e fisici. I mezzi biologici sono gli insetti entomofagi, predatori o parassiti di altri insetti, i feromoni, messaggeri chimici emessi dagli insetti e

riproducibili in laboratorio che determinano stimolazioni e risposte precise e ripetibili in individui della stessa specie e i microrganismi patogeni, virus e batteri, patogeni per specifici insetti. In questo tipo di difesa non vengono impiegate sostanze tossiche per l'uomo.

I mezzi agronomici corrispondono alla scelta di varietà rustiche più resistenti, consociazioni, rotazioni ed lavorazioni mirate, irrigazioni, concimazioni, potature e densità d'impianto e di semina.

I mezzi fisici riguardano la sterilizzazione dei terreni con il calore, la distruzione dei focolai di inoculo e/o infezione, la protezione dalle avversità meteorologiche, la solarizzazione del terreno, l'impiego del tessuto non tessuto, l'utilizzo di trappole cromotropiche, e la raccolta manuale o meccanica degli insetti. Sono impiegati anche le biotecnologie (tecnica del maschio sterile, confusione sessuale, ecc.) e i mezzi biotecnici (trappole per monitoraggio e cattura massale, mediante feromoni e altri attrattivi, reti anti-insetto, ecc.).

Per quanto concerne i prodotti chimici, i principi attivi di origine biologica sono preferibili a quelli di sintesi, purchè siano a basso spettro d'azione o ad elevata selettività, a bassa persistenza e a basso rischio di induzione di fenomeni di resistenza.

La normativa vigente

La normativa e le linee guida che regolano l'agricoltura integrata sono ad oggi di carattere regionale, in assenza di una regolamentazione nazionale, o europea.

La gestione delle produzioni, le norme ed i controlli hanno una valenza territoriale o



associazionistica, tanto che i disciplinari di produzione integrata vengono definiti dalle regioni o da altri enti locali, oppure da associazioni di produttori e possono assumere caratteristiche differenti a seconda del contesto. I "prodotti integrati" vengono di frequente distribuiti con marchi privati di tipo commerciale.

La Legge 3 febbraio 2011, n. 4 "Disposizioni in materia di etichettatura e di qualità dei prodotti alimentari", all'art. 2 regola il "Sistema di Qualità Nazionale di Produzione integrata" (SQNPI).

La produzione integrata e l'agricoltura sostenibile



L'agricoltura integrata può essere considerata un compromesso tra l'agricoltura convenzionale e quella biologica.

Per alcuni aspetti viene ritenuta la modalità più evoluta per concretizzare l'agricoltura sostenibile:

- ottimizza le risorse e i mezzi tecnici disponibili permettendo di ottenere una produzione che risponde alla richiesta nazionale ed internazionale;
- consente di produrre cibi sani e sicuri, preservando e salvaguardando le risorse ambientali;



- rispetta le normative nazionali e comunitarie;
- è coerente con le linee guida indicate dai disciplinari e con i progressi ottenuti mediante sistemi di autodiagnosi delle aziende agricole.

L'AGRICOLTURA SOSTENIBILE

Il concetto di agricoltura sostenibile è stato elaborato all'inizio degli anni Novanta, quando Stati Uniti ed Europa, dopo aver verificato i danni causati dal modello agricolo convenzionale, hanno cercato di definire i principi guida destinati a supportare un cambiamento dell'agricoltura verso forme più rispettose nei confronti dell'ambiente.

“L'agricoltura sostenibile è un modello di produzione economicamente vantaggioso per gli agricoltori, che contribuisce a migliorare la qualità dell'ambiente, della vita degli agricoltori e dei consumatori, privilegiando i processi di produzione naturali, evitando il ricorso a pratiche dannose per il suolo e utilizzando fonti energetiche rinnovabili”.

Attualmente anche l'agricoltura convenzionale è stata orientata verso modalità di produzione a “basso impatto ambientale” perciò meno intensive, che non prevedono solo la riduzione delle sostanze chimiche, ma anche il ripristino e la conservazione delle fertilità fisica, chimica, biologica e la salvaguardia della biodiversità e delle varie forme di vita presenti nel campo coltivato.



E' ormai divenuta impellente, comunque, la necessità adottare modelli alternativi di agroecosistema, meno dipendenti dalle energie ausiliarie, che possano utilizzare meglio le risorse native, con un grado di autosostentamento elevato, nel rispetto dei criteri di sostenibilità in tutta la filiera agricola. Questi modelli si possono identificare nel concetto, ormai

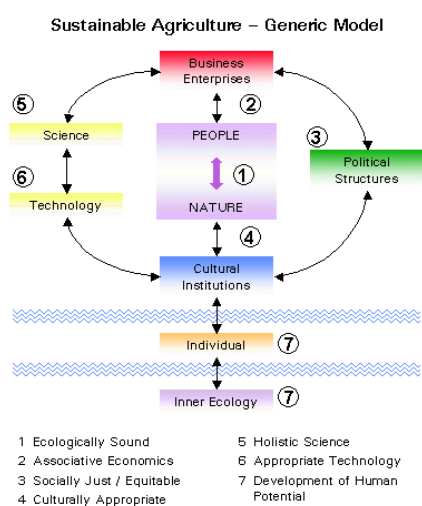
unanimamente accettato, di agricoltura ecocompatibile o sostenibile (Sustainable Agriculture), con l'obiettivo polivalente di preservare l'ambiente e produrre derrate alimentari sane, senza alcun contaminante.

L'alternativa rappresentata dall'agricoltura sostenibile è riconducibile ad una concezione più ampia di sostenibilità in termini sociali, ambientali ed economici.

Il concetto sostenibile è impostato sull'utilizzo di tecniche agricole in grado di rispettare l'ambiente, la biodiversità e la naturale capacità di assorbimento dei rifiuti da parte del nostro pianeta essendo:

- economicamente vantaggioso per gli agricoltori;
- rispettoso dell'ambiente;
- socialmente equo, poiché contribuisce a migliorare la qualità della vita degli agricoltori e della società.

Per agricoltura sostenibile si intende anche la capacità dell'intera produzione agroalimentare mondiale di far fronte alla domanda globale, non solo nei paesi industrializzati ma anche in quelli in via di sviluppo, in cui è una realtà il problema della



fame.

Infatti secondo l'American Society of Agronomy, per far sì che l'agricoltura sia sostenibile deve:

- soddisfare il bisogno primario del cibo;
- favorire la convenienza economica delle operazioni legate alla produzione agricola;
- sostenere la qualità dell'ambiente e delle risorse naturali da cui dipende l'intero comparto dell'agricoltura;
- migliorare la qualità di vita degli agricoltori e dell'intera società;
- fare uso sapiente delle risorse a disposizione,

integrando, laddove possibile, cicli biologici naturali.

Praticare l'agricoltura sostenibile significa dunque privilegiare quei processi naturali che consentono di preservare la "risorsa ambiente", utilizzando fonti energetiche

rinnovabili ed evitando il ricorso a pratiche dannose per il suolo (lavorazioni intensive) e l'impiego di sostanze chimiche (pesticidi, ormoni, ecc.).



Tra questi due possibilità si inseriscono tuttavia un serie di varianti che, discostandosi dal modello convenzionale, sono indirizzate a limitare l'impiego di sostanze chimiche.

Anche Italia, negli ultimi 50 anni, l'ecosistema agricolo ha manifestato i segni di un profondo degrado, con ripercussioni negative sugli altri ecosistemi. Attualmente i modelli agricoli più diffusi, che mettono in pratica i principi e le tecniche sostenibili, sono le produzioni integrate, l'agricoltura biologica e quella biodinamica. Nella pratica questa idea è stata tradotta con lo sviluppo tecnico e legislativo di due particolari forme di agricoltura: quella integrata o ecocompatibile e quella biologica.

L'agricoltura integrata è un sistema di produzione che privilegia tecniche colturali di tipo agronomico e di lotta guidata considerando come ultima risorsa l'impiego di prodotti chimici.

La lotta guidata è un'evoluzione del concetto di lotta a calendario e consiste nella gestione della difesa dei vegetali dalle avversità basata sulla "soglia d'intervento" (si interviene quando il danno è inferiore al costo dell'intervento calcolato come numero di fitofagi sulla pianta), mediante l'uso di tecniche fitoiatriche alternative e/o integrative alla lotta chimica.

La lotta biologica sfrutta gli antagonismi naturali fra insetti, contribuendo alla conservazione di tali antagonismi (*Bacillus thuringensis* contro le larve dei lepidotteri; *Phytoseiulus persimilis* contro il ragnetto rosso; *Chrysoperla cornea* contro alcuni afidi; *Rodolia cardinalis* contro *Icerya purchasi*).



Infine l'agricoltura eco-compatibile include tutti quei sistemi di produzione volti a ridurre l'impatto ambientale ottenendo prodotti finali a basso o nullo contenuto in residui.

Particolare è invece la biodinamica che considera l'agricoltura un artificio creato dall'uomo; non si lavora direttamente sulla componente fisica, ma si interagisce con la componente di flusso individuabile, ad esempio con l'elettromagnetismo dei fenomeni vitali. L'agricoltura biodinamica, capostipite dell'agricoltura organica, similmente all'agricoltura biologica, presuppone non solo un'azienda autosufficiente, ma anche inserita nei ritmi cosmici, considerando la Terra come un grande organismo vivente, del quale bisogna conoscere le leggi per

rispettarne e promuoverne la vita. Il modello biodinamico prevede specifici calendari per le varie attività agricole. Nella fertilizzazione del suolo e la difesa da infestanti e patogeni sono impiegati preparati particolari ottenuti da combinazioni di sostanze derivanti dal regno animale, vegetale e minerale (macerato di ortica aficida, stimolante; farina di roccia di basalto rivitalizzante; cornoletame e letami di varia maturazione). Scarso è l'uso di sostanze chimiche.



L'AGRICOLTURA BIOLOGICA

L'agricoltura biologica è un modello di agricoltura sostenibile in grado di favorire le risorse rinnovabili e il riciclo, in alcuni casi, dei nutrienti presenti nei prodotti di rifiuto. In questo modo si cerca di rispettare i meccanismi naturali dell'ambiente in totale assenza di manipolazioni genetiche; il controllo delle malattie e degli insetti nocivi

viene effettuato riducendo o eliminando l'impiego dei fitofarmaci di sintesi, di erbicidi, fertilizzanti, ormoni della crescita, antibiotici e si fa ricorso ad una serie di tecniche che contribuiscono al mantenimento degli ecosistemi e riducono l'inquinamento.

La storia

L'agricoltura biologica nasce insieme ad altri modelli agricoli già agli inizi del secolo scorso, supportata da principi filosofici e culturali, prima ancora che tecnico-scientifici, che considerano fondamentali il rapporto tra agricoltura e ambiente e il rispetto degli equilibri naturali, e non le strategie di massimizzazione delle rese di produzione:

1. l'agricoltura biodinamica, nasce su ispirazione del tedesco Rudolf Steiner, e propone un modello agricolo nel quale l'azienda viene considerata come un organismo vivente autosufficiente;
2. la "organic farming" (agricoltura organica), fondata su metodi organici, viene elaborata in Inghilterra da Sir Howard, che si ispira all'agricoltura indiana e cinese che consentono di mantenere un perfetto equilibrio fra il bisogno di concime delle colture e i naturali processi di recupero della fertilità;
3. l'agricoltura biologica viene invece sviluppata in Svizzera da Rusch e Müller, i quali insieme stabiliscono un modello agricolo che presuppone l'utilizzazione ottimale delle risorse rinnovabili.



L'agricoltura biologica è rimasto un sistema di produzione di nicchia per molto tempo, in particolare durante e dopo le due guerre mondiali, quando la priorità impellente dell'Europa era rendersi produttivamente autosufficiente e soddisfare il fabbisogno immediato della popolazione mediante la massimizzazione delle rese di produzione.

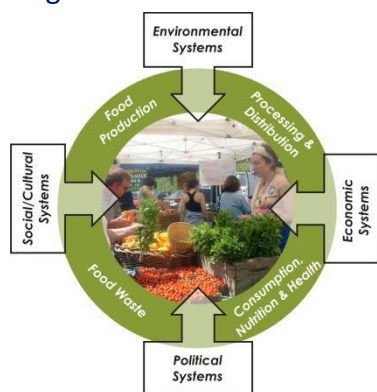


Tra la fine degli anni Sessanta e gli anni Settanta il cambiamento della sensibilità e delle esigenze collettive e la maggiore attenzione verso la tutela dell'ambiente, fanno riscoprire l'agricoltura biologica come soluzione possibile.

Nascono quindi associazioni di consumatori e produttori che valorizzando le tematiche ecologiche, definiscono disciplinari e norme da applicare alle produzioni biologiche.

Attraverso la fusione delle più grandi organizzazioni di tutto il mondo viene fondata nel 1972 l'IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) per iniziativa di organizzazioni che operano a livello mondiale nell'ambito di certificazioni, produzione, ricerca, formazione e promozione dell'agricoltura biologica, ancora oggi punto di riferimento internazionale per l'agricoltura biologica.

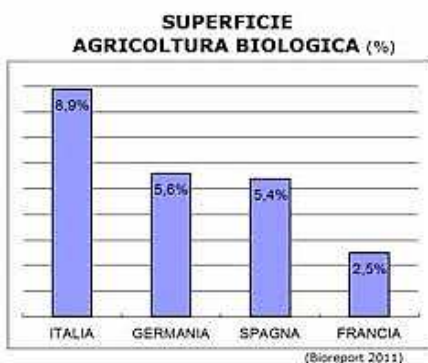
Negli anni Ottanta il modello biologico continua a propagarsi non solo in Europa, ma in tutti i Paesi industrializzati, con conseguente incremento di associazioni e norme di produzione.



Il crescente interesse dei consumatori, motivati dal poter scegliere prodotti sani e rispettosi dell'ambiente, determina il progressivo riconoscimento dell'agricoltura biologica da parte dei governi.

La confusione dovuta all'eccessiva eterogeneità dei disciplinari di produzione e delle denominazioni dei prodotti (naturali, biologici, di qualità) ha penalizzato però inizialmente la collocazione sul mercato dei prodotti dell'agricoltura biologica.

Per questo motivo, nel 1991 il Consiglio Europeo dei ministri dell'agricoltura ha adottato il Regolamento (CEE) n. 2092/91 sull'agricoltura biologica e sulla relativa etichettatura dei prodotti agricoli ed alimentari che ha stabilito definitivamente i metodi di produzione e ha assegnato una collocazione precisa ai prodotti biologici vegetali, mentre le disposizioni sui prodotti di origine animale sono state introdotte successivamente.



Con questo Regolamento l'agricoltura biologica è

stata ufficialmente riconosciuta e sono stati stabiliti gli standard minimi comuni per l'UE, è cresciuta la fiducia dei consumatori ed è stata data la possibilità agli Stati Membri e alle organizzazioni private di adottare norme più severe.

Successivamente l'IFOAM (Basic Standard of Organic Agriculture and Food Processing), nel 1998, ha fissato rigorose norme volontarie di produzione, esclusive per ciascuna coltura e per ogni processo di trasformazione degli alimenti, alle quali devono conformarsi i produttori biologici. Ha inoltre dato inizio al processo di certificazione per il settore No Food riguardante le colture tessili ed energetiche.

La commissione del Codex Alimentarius, inoltre, nel 1999 ha adottato le linee guida inerenti la produzione, la trasformazione, l'etichettatura e la commercializzazione dei prodotti provenienti da agricoltura biologica.

Sempre nel 1999 viene promosso dalla FAO un programma nei Paesi in via di sviluppo riguardante l'agricoltura biologica e, dopo anni di attesa, viene emanato il Regolamento 1804/99 che integra il Regolamento 2092/91 in materia di produzioni biologiche animali.

Il Regolamento CE 2092/91 nel tempo è stato comunque sottoposto a numerose modificazioni per consentirne l'aggiornamento coerentemente agli sviluppi tecnico scientifici e alle esigenze del mercato dei prodotti biologici ed è ormai stato abrogato dal Regolamento CE 834/2007 del Consiglio del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici.



I principi

“L'agricoltura biologica è un sistema globale di produzione agricola, sia vegetale che animale, che privilegia le pratiche di gestione piuttosto che il ricorso a fattori di produzione di origine esterna. Di conseguenza i metodi di produzione biologici e meccanici vengono impiegati al posto di prodotti chimici di sintesi” (dal Codex Alimentarius).

Gli obiettivi perseguiti dall'agricoltura biologica prevedono:

- l'incremento della biodiversità nell'agroecosistema;
- l'aumento dell'attività biologica dei suoli;
- la conservazione della fertilità dei suoli a lungo termine;
- il riciclaggio dei rifiuti di origine vegetale ed animale restituendo elementi nutritivi al suolo e limitando il più possibile lo sfruttamento di risorse non rinnovabili;
- l'impiego delle risorse rinnovabili presenti nei sistemi agricoli locali;

- la promozione di una corretta fruizione dei suoli, delle acque e dell'atmosfera, riducendo al minimo l'inquinamento proveniente da coltivazioni ed allevamenti;
- la massima cura, nella manipolazione dei prodotti agricoli, verso la conservazione dell'integrità biologica e qualitativa del prodotto;
- l'essere attuata in un'azienda agricola già esistente solo dopo un periodo di conversione, che può variare, a seconda delle caratteristiche specifiche di ciascuna azienda (storia, tipologia di allevamento o colture).



La gestione di una azienda biologica prevede un approccio completamente diverso rispetto a quello convenzionale, poiché l'imprenditore agricolo deve ottimizzare le scelte colturali valutando attentamente l'agroecosistema e il territorio nel quale si trova l'azienda e verificando la presenza di strutture protettive naturali (aree di rifugio e siepi), utilissime ai fini dell'attività agricola.

Altri aspetti importanti da tenere in considerazione sono:

- il "sistema clima" rispetto alle esigenze delle specie che si vogliono coltivare;
- il "sistema suolo", i tipi di terreno e le caratterizzazioni pedologiche;
- il mantenimento dell'equilibrio tipico di ogni biocenosi (flora e fauna tipiche dell'agroecosistema: organismi nocivi, nemici naturali, piante utili, prede alternative degli insetti utili e piante sulle quali si possano sviluppare), anche attraverso l'incremento di piante utili;
- il rispetto degli elementi di naturalità, quali la vegetazione spontanea ed altre componenti del paesaggio rurale funzionali all'approccio biologico;
- la scelta di colture più adeguate ai valori relativi degli indici climatici e alle caratteristiche podologiche del territorio.

In sintesi la gestione degli interventi agronomici in un'azienda agricola biologica o in fase di conversione è finalizzata al miglioramento delle interazioni del sistema pianta-suolo-ambiente attraverso:

- la scelta del materiale di propagazione;
- la gestione del suolo;
- la fertilizzazione;
- il controllo dei parassiti;
- il controllo delle infestanti.

Il materiale di propagazione

Il materiale di propagazione e le sementi devono provenire da agricoltura biologica e non essere stati prodotti da organismi geneticamente modificati (O.G.M.).



Eccezionalmente, nell'impossibilità di reperire sul mercato materiale proveniente da agricoltura biologica, è consentito utilizzare sementi e materiale di propagazione vegetativo non biologico, previa richiesta di deroga da inoltrare all'Ente Nazionale delle Sementi Elette (ENSE).

Per le piantine da orto non sono invece previste proroghe, e devono necessariamente essere certificate biologiche.

La scelta varietale deve corrispondere ai fattori ambientali e pedologici dell'azienda, dando priorità alle varietà naturalmente resistenti agli stress abiotici e biotici tipici del suo ambiente naturale.

Gli Stati Membri possiedono comunque un database on-line per facilitare l'acquisto delle sementi nel quale i fornitori possono inserire sementi prodotte biologicamente e tuberi-seme disponibili per l'acquisto.

La gestione del suolo

Il suolo è deputato allo sviluppo delle biomasse, è l'habitat di numerose forme di vita (piante, microrganismi, animali, ecc.), è sede di importanti reazioni che permettono la produzione di nuova materia organica, ed ha capacità filtrante e tamponante. Un suolo "sano" e un elevato livello di qualità ambientale assicurano una vita vigorosa a piante, animali e quindi all'uomo.



Le tecniche di produzione biologiche hanno la capacità di tutelare il suolo da fenomeni di erosione e desertificazione, escludendo l'impiego di sostanze inquinanti e incrementandone della fertilità.

Specificamente nell'azienda biologica è necessario:

- evitare il dilavamento di elementi solubili in falda o negli strati profondi del suolo con irrigazioni contenute e con la somministrazione dei fertilizzanti in periodi dell'anno non piovosi;
- salvaguardare organismi e microrganismi del suolo e le loro attività;
- praticare le rotazioni colturali che favoriscono il mantenimento della fertilità chimico-fisica del suolo, consentono di sfruttare in modo più razionale e meno intensivo i nutrienti del suolo e impediscono la proliferazione dei parassiti e delle infestanti;
- introdurre negli avvicendamenti o come colture consociate, le leguminose, anche da sovescio, che rappresentano una fonte di azoto elettiva;
- preservare il suolo dalle erosioni con una più intensa copertura della superficie agricola e con lavorazioni superficiali;

- rafforzare il contenuto di sostanza organica nel suolo ricorrendo al riciclo dei residui colturali e di matrici organiche provenienti da allevamenti locali (letame e pollina) o da cicli produttivi agroindustriali (farina di panelli di semi oleosi, guscio di cacao, radichette di malto, ecc.).



La fertilizzazione

La fertilizzazione viene effettuata rigenerando il contenuto di sostanza organica nel suolo con residui organici di origine animale e vegetale, per mantenere la sua fertilità naturale, ed eseguendo le lavorazioni senza alterarne il profilo.

Rilevanti sono anche la scelta di colture adeguate, gli avvicendamenti e la conservazione o l'impianto di siepi ed alberature lungo i margini dei campi coltivati.

E' importante considerare:

- il tipo di coltura e le sue particolari esigenze trofiche;
- la reperibilità dei prodotti in azienda o in ambito locale;
- la presenza della microflora e la sua attività nel suolo, (più bassa e limitata è l'attività microbiologica, più stabile e matura deve essere la sostanza organica da aggiungere al suolo);
- la qualità della sostanza organica evitando l'apporto di residui inquinanti (sostanza organica di sintesi o contenente metalli pesanti).

Particolari carenze di elementi nutritivi o specifiche esigenze trofiche della coltura possono essere soddisfatte ricorrendo a fonti specifiche autorizzate dal regolamento:

azoto - viene considerato concime organico se l'azoto è sotto forma organica (protidica) e non minerale (nitrati, urea, ammoniaca) che i microrganismi del suolo sono in grado di mineralizzare (ossa, zoccoli, corna, peli); è maggiormente richiesto dalle colture ortive;

potassio – viene in genere addizionato con le letamazioni, ma si possono utilizzare anche borlande di barbabietola, sale grezzo di potassio (kainite) o solfato di potassio o polvere di rocce, sostanze molto solubili, da manipolare con particolare attenzione;

fosforo – è determinante il valore di pH del terreno; nei terreni calcarei, nei quali il fosforo non è disponibile, si può distribuire lo zolfo o, in casi estremi, il fosfato di alluminio calcico.





Il controllo delle infestanti

In agricoltura biologica le infestanti, superato il periodo critico di interferenza con la coltura, rappresentano una risorsa grazie al loro apporto in sostanza organica nei suoli e nei periodi piovosi costituiscono inoltre una protezione contro i fenomeni erosivi. Sul periodo di interferenza

invece si interviene con azioni preventive o sistemi diretti.

Le azioni preventive consistono nell'incremento massimo della competitività della coltura verso le infestanti mediante il suo insediamento veloce ed omogeneo sul suolo, che si realizza tenendo conto dell'epoca, delle modalità di semina o trapianto, della scelta delle cultivar (tardive o precoci), delle rotazioni e delle lavorazioni del terreno.

I sistemi diretti riguardano il controllo diretto delle infestanti favorendo il loro sviluppo prima di procedere alla semina o al trapianto della coltura (falsa semina), mediante lavorazione del terreno seguita irrigazione; le infestanti sono poi eliminate prima della semina o del trapianto.

Altri sistemi di controllo diretto sono le erpicature, le rincalzature del terreno sulla parte basale delle piante, le sarchiature, le pratiche di sfalcio e di spazzolatura del terreno con spazzole rotanti.



Altre tecniche utilizzate per bloccare la crescita delle infestanti sono la pacciamatura (copertura interfilare con residui colturali secchi o film sintetici neri che impediscono alla luce di filtrare) e la solarizzazione (copertura del suolo con film plastici trasparenti per devitalizzare i semi innalzando la temperatura del suolo).

La difesa delle colture

E' basata essenzialmente sulla prevenzione (interventi indiretti); i metodi diretti sono utilizzati solo in condizioni estreme, quando si rischiano gravi danni economici.

Interventi indiretti

Si previene l'infestazione delle colture sviluppando condizioni ambientali ostili allo sviluppo di patogeni e parassiti.



Gli interventi possono essere di tipo agronomico (appropriate pratiche di fertilizzazione, inerbimento e diserbo, rotazione, consociazione, densità di semina, regimazione delle acque, irrigazione, lavorazione del terreno e potatura definiscono un ambiente ostile per il parassita) o di tipo genetico (per portainnesti, mazze, piantine e sementi sono scelte specie e varietà più resistenti ai patogeni).



Un'efficace strategia di difesa è conservare l'equilibrio nell'agroecosistema in modo da garantire le migliori condizioni per la riproduzione e la diffusione degli antagonisti naturali.

Le tecniche agronomiche applicabili:

- la scelta di specie e varietà adeguate;
- la pianificazione di rotazioni colturali;
- le fertilizzazioni equilibrate;
- l'inerbimento controllato;
- la corretta densità di semina;
- le colture intercalari e le consociazioni (coltivare in fasi successive o simultaneamente piante diverse, l'una molesta ai parassiti dell'altra);
- le adeguate lavorazioni del terreno;
- la conservazione e il ripristino degli habitat naturali dell'entomofauna utile con siepi ed alberature, che ripristinano il paesaggio rurale, ospitano i predatori naturali dei parassiti e costituiscono una barriera ai possibili inquinamenti;
- l'eliminazione della flora infestante con il fuoco o gli interventi meccanici.



Interventi diretti

Gli interventi diretti sono applicabili solo se motivati da una situazione di pericolo o da un possibile danno economico consistente. A questo scopo è fondamentale eseguire il monitoraggio dei parassiti con trappole cromotropiche e a feromone, per identificare le specifiche soglie di intervento.

I prodotti autorizzati per la difesa, di natura organica o minerale, sono indicati dalla normativa vigente; non sono ammessi tutti i composti chimici (antiparassitari e fitoregolatori) di sintesi, puri o miscelati con i prodotti autorizzati.



La normativa europea

Gli operatori che lavorano nel settore dell'agricoltura e della trasformazione biologica devono prima di tutto rispettare le norme riguardanti regolamentazione di produzione, trasformazione, commercializzazione, etichettatura e controllo dei prodotti agricoli.

Per quanto riguarda la produzione biologica gli specifici riferimenti normativi a livello europeo sono i seguenti:

Regolamento del Consiglio

Regolamento del Consiglio (CE) n. 834/2007 del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e alle modalità di etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il Regolamento (CEE) n. 2092/91.

Questo regolamento costituisce il quadro giuridico di riferimento per tutti i livelli di produzione, distribuzione, controllo ed etichettatura dei prodotti biologici che possono essere offerti e commercializzati nell'UE. Esso determina il continuo sviluppo della produzione biologica fornendo obiettivi e principi chiaramente definiti. Le linee guida generali in materia di produzione, controllo ed etichettatura sono state stabilite dal Regolamento del Consiglio e pertanto possono essere modificate soltanto dal Consiglio Europeo dei ministri dell'agricoltura. Il precedente Regolamento (CEE) n. 2092/91 è contemporaneamente abrogato.

L'applicazione della nuova normativa in materia di etichettatura e l'uso obbligatorio del logo biologico UE sono stati rinviati al 1° luglio 2010 secondo un emendamento al Regolamento del Consiglio.

Il Regolamento del Consiglio si applica ai seguenti prodotti agricoli, compresa l'acquacoltura e il lievito:

- prodotti vivi o non trasformati
- alimenti trasformati
- alimenti per animali
- sementi e materiali di moltiplicazione vegetativa

Nel campo di applicazione del presente regolamento è inclusa anche la raccolta di piante selvatiche e di alghe marine

Non sono inclusi nel campo di applicazione:

- prodotti provenienti dalla caccia e dalla pesca di animali selvatici.

Regolamenti della Commissione

- Regolamento (CE) n. 889/2008 della Commissione del 5 settembre 2008 che riporta le norme dettagliate di produzione, etichettatura e controllo incluso il suo primo emendamento alle norme di produzione per il lievito biologico Primo Regolamento modificativo, che stabilisce nuove regole di produzione per la produzione di lievito biologico.

In esso sono disciplinati tutti i livelli di produzione vegetale ed animale, dalla fase di coltivazione e allevamento alla trasformazione, alla distribuzione e al controllo degli alimenti biologici.

Tra gli allegati si possono trovare:

- i prodotti consentiti in agricoltura biologica (fertilizzanti, ammendanti del suolo e pesticidi);

- i requisiti minimi delle dimensioni degli alloggi e degli spazi, compresi i pascoli per gli allevamenti biologici, a seconda delle specie animali e delle fasi di sviluppo;
- gli alimenti per animali non-biologici, additivi per mangimi e coadiuvanti tecnologici per la produzione di mangimi composti e premiscele consentiti in agricoltura biologica;
- gli ingredienti non biologici, additivi e coadiuvanti tecnologici consentiti nella produzione di alimenti biologici (compresa la produzione di lievito);
- i requisiti per il logo comunitario.

La Commissione può integrare il regolamento e gli allegati con eventuali aggiornamenti in linea con la continua evoluzione della tecnologia, della scienza e del mercato biologico.

- Regolamento (CE) n. 1254/2008 della Commissione del 15 dicembre 2008 che modifica il Regolamento (CE) n. 889/2008 recante modalità di applicazione del Regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli.

- Regolamento (CE) n. 1235/2008 della Commissione dell'8 dicembre 2008 che riporta norme dettagliate in materia di importazione di prodotti biologici provenienti da paesi terzi. Garantisce la possibilità di importare prodotti biologici da paesi terzi che non hanno ancora stipulato accordi bilaterali di riconoscimento. Un elenco di paesi terzi riconosciuti è riportato nell'Allegato III.

Poiché le condizioni di produzione nei paesi terzi sono in genere molto diverse da quelle dell'Europa, spesso non è possibile applicare esattamente le stesse regole per la produzione o il controllo. Deve quindi essere possibile consentire l'applicazione di regole simili che si adattino in linea di massima agli obiettivi e ai principi della legislazione biologica. Gli organismi di controllo autorizzati dalla Commissione Europea e dagli Stati Membri possono effettuare l'ispezione in loco secondo specifiche Linee Guida.

Secondo l'attuale normativa l'uso del marchio biologico UE è obbligatorio, ma può essere affiancato da marchi nazionali o privati e dall'indicazione del luogo di provenienza dei prodotti. Il marchio biologico è solo per i prodotti alimentari costituiti almeno per il 95% da ingredienti biologici, ma nella composizione dei prodotti non biologici possono essere indicati gli eventuali ingredienti biologici.

E' comunque vietato l'uso di organismi geneticamente modificati e deve essere indicata espressamente la presenza accidentale di OGM in misura non superiore allo 0,9%.

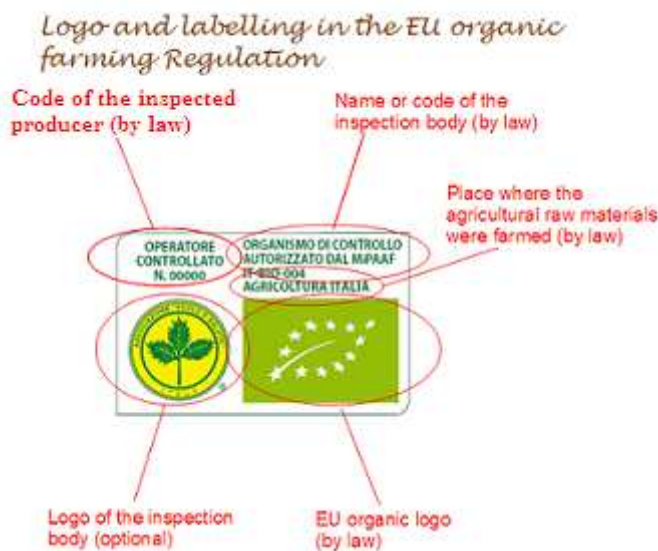
Nella nuova normativa comunque l'elenco delle sostanze autorizzate in agricoltura biologica è rimasto invariato, mentre sono state aggiunte ulteriori disposizioni sull'acquacoltura, sulla vitivinicoltura, sulle alghe e sui lieviti bio.

Per garantire un'applicazione uniforme della legislazione UE è stato istituito il Comitato permanente dell'agricoltura biologica formato da rappresentanti degli Stati Membri e presieduto da un rappresentante della Commissione.

La Commissione Europea si avvale inoltre della collaborazione del Comitato consultivo per l'"Agricoltura Biologica" (IFOAM, BEUC, COPA/COCEGA, COFALEC ecc..) e di un gruppo di esperti, per garantire lo scambio di esperienze e di pareri necessario al continuo aggiornamento della normativa biologica e promuovere campagne informative e promozionali.

Gli Stati Membri e la Commissione europea si avvalgono del database dell'OFIS nel quale sono registrati:

- le autorizzazioni date dai paesi membri per la commercializzazione dei prodotti importati da paesi terzi;
- le autorizzazioni per l'utilizzo temporaneo di ingredienti di origine agricola convenzionale che non possono essere prodotti biologicamente in quantità sufficienti;
- l'elenco degli organismi o delle autorità di controllo.



La normativa nazionale

Con il Decreto del Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali n.18354 del 27 novembre 2009, sono state stabilite in Italia le “Disposizioni per l'attuazione dei Regolamenti (CE) n. 834/2007, n. 889/2008, n. 1235/2008 e successive modifiche riguardanti la produzione biologica e l'etichettatura dei prodotti biologici”.

Le Istituzioni coinvolte sono il Ministero delle Politiche Agricole e Forestali (MIPAF) che rappresenta autorità pubblica di riferimento responsabile della realizzazione e della sorveglianza del sistema, le Regioni che hanno competenza in materia e trasferiscono al Ministero l'elenco degli operatori e gli Organismi di controllo che esercitano l'attività di sorveglianza sulle aziende ed emettono certificati.

Le Amministrazioni centrali (Ministero delle Politiche Agricole e Forestali, della Salute, dello Sviluppo Economico e degli Affari Esteri, Regioni e Province) garantiscono l'applicazione dei sistemi di controllo sull'agricoltura biologica attraverso il coordinamento (aspetti tecnici, amministrativi e sanzionatori) e la vigilanza dell'operato degli Organismi di controllo privati presenti su tutto il territorio nazionale, individuati da un Comitato nazionale che ne valuta la competenza in termini di esperienza, affidabilità, obiettività e di possibilità di risorse, personale e attrezzature di natura tecnico-amministrativa.

Gli organismi di controllo verificano che il metodo e la produzione siano conformi alla normativa vigente.

L'operato degli organismi di controllo consiste in un sopralluogo per verificare il rispetto delle normative e la tenuta dei registri. In presenza di sospette violazioni, vengono prelevati campioni da fare analizzare presso i laboratori dell'ARPAT o presso un laboratorio accreditato dal SINAL (Sistema Nazionale per l'Accreditamento di Laboratori).

Coerentemente ai disciplinari IFOAM, gli organismi associativi italiani hanno inoltre approvato gli IOS (Italian Organic Standard) per disciplinare la produzione, la lavorazione, la trasformazione, il condizionamento e la commercializzazione dei prodotti biologici a livello nazionale.

L'etichettatura dei prodotti biologici

Sull'etichetta dei prodotti biologici devono riportare:

- la dicitura “Da agricoltura biologica”;
- l'autorizzazione ministeriale;
- il codice della nazione
- la sigla dell'organismo di controllo;
- il codice dell'azienda;
- la dicitura F (prodotto fresco) oppure T (prodotto trasformato);
- il codice di autorizzazione alla stampa di etichette;

- il logo comunitario introdotto dal Regolamento CEE n° 331/2000 (facoltativo).

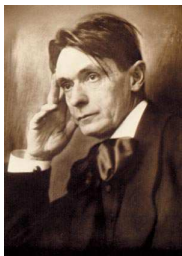
L'etichettatura dei prodotti biologici è regolata dall' articolo 5 del Regolamento europeo che non può comunque prescindere dalla normativa inerente le etichette dei prodotti alimentari.

Un prodotto biologico può essere commercializzato se, conformemente alla normativa vigente risponde a determinati requisiti:

- è stato ottenuto da agricoltura biologica, cioè nel rispetto di tutte le norme di produzione e controllo;
- non è stato trattato con sostanze non ammesse;
- non è stato trattato con sostanze ionizzanti;
- non è stato ottenuto attraverso l'impiego di OGM o derivati.

In etichetta deve essere riportato il contenuto di ingredienti provenienti da agricoltura biologica presenti nel prodotto commerciale secondo tre possibili modalità:

- etichetta con il logo comunitario e la dicitura "da Agricoltura Biologica"; il prodotto presenta almeno il 95% di ingredienti biologici, mentre il rimanente 5% è costituito da ingredienti difficilmente disponibili o disponibili in scarsa quantità in agricoltura biologica;
- etichetta nella quale non è riportato il logo comunitario, i prodotti provenienti da agricoltura biologica sono indicati nell'elenco degli ingredienti con un asterisco e se ne deve specificare l'esatta percentuale presente (almeno il 70%);
- etichetta senza logo comunitario con la dicitura "prodotto in conversione da agricoltura biologica" (proviene da aziende in fase di conversione).



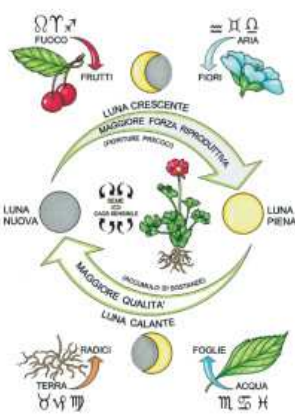
Le disposizioni ministeriali stabiliscono che sull'etichetta devono comparire il codice di identificazione dell'organismo di controllo, l'azienda produttrice e il numero progressivo dell'etichetta, il nome per esteso del controllore, e in caso, il marchio depositato dell'organismo di controllo ed il numero della corrispondente

autorizzazione ministeriale.

I prodotti biologici devono essere condizionati e trasportati impacchettati fino al punto di vendita, a meno che il trasporto avvenga tra un produttore e un altro operatore entrambi osservanti il regime di controllo previsto dalla normativa e i prodotti siano accompagnati da un documento comprovante tali informazioni.

L'AGRICOLTURA BIODINAMICA

L'agricoltura biodinamica, precorritrice dell'agricoltura organica, nasce nel 1924 in seguito ad una serie di conferenze tenute dallo scienziato e filosofo Rudolf Steiner per contrapporre ai problemi causati dall'emergente agricoltura industriale una nuova



concezione dell'azienda agricola di tipo "olistico" in rapporto con l'ambiente circostante, con la Terra intera, con il cosmo, i pianeti e le costellazioni.

Oggi l'agricoltura biodinamica è ampiamente diffusa e praticata in numerosi Paesi, Italia compresa, ed ha al suo attivo aziende, centri di ricerca e scuole di formazione.

Il metodo biodinamico, il primo e più diffuso metodo culturale biologico o organico, concepisce i fenomeni naturali come un insieme organico tenuto insieme da una complessa rete di relazioni tra le diverse componenti del

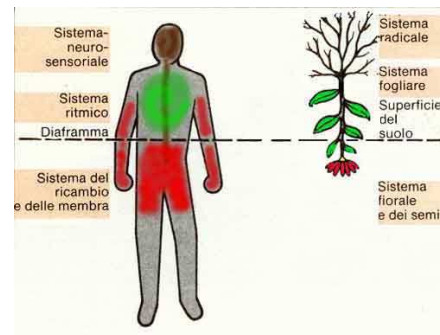
mondo naturale (sostanze, microrganismi, organismi complessi, ritmi del pianeta e del cosmo), secondo una visione dei fenomeni non meccanicistica, ma basata sull'uso dei sensi.

Viene anche rivolta una grande attenzione all'essere umano, alla cura della sua salute e della corretta alimentazione, della sua crescita spirituale e della sua vita di relazione. Partendo da questi presupposti, l'azienda agricola, le piante, il sistema humus-terreno, il compost, gli animali, il pianeta, il sistema planetario, vengono quindi considerati organismi viventi che, per essere sani, devono seguire i ritmi naturali e stabilire solide relazioni tra loro e con l'ambiente esterno.

L'agricoltore coltiva la terra utilizzando tecniche sostenibili, ma l'effettivo scopo della biodinamica è, secondo alcuni principi ben definiti, quello di incrementare e preservare la fertilità della terra curando in particolar modo l'humus, rinnovare e ottimizzare la qualità delle sementi, in modo che le piante possano far parte in maniera equilibrata del sistema in cui sono inserite, coltivare piante e animali sani, dotati del massimo sviluppo delle loro caratteristiche peculiari e produrre alimenti che stimolino il metabolismo per favorire un sano ed armonioso sviluppo fisico-animico e spirituale nell'uomo.

In agricoltura biodinamica sono utilizzati i cosiddetti "preparati", miscele di sostanze di origine animale, vegetale e minerale, riconosciute dalla normativa prevista per l'agricoltura biologica, che servono ad aumentare l'humus del terreno, e quindi a migliorare il raccolto. Le rare patologie delle colture e degli animali di allevamento e gli squilibri ambientali sono sanati senza ricorrere alla chimica di sintesi, ma con preparati naturali a base di sostanze vegetali adeguatamente trattate per difendere, regolare e rinvigorire piante, animali e il terreno stesso.

In sintesi l'agricoltura biodinamica, per inserire le colture agricole all'interno di un più ampio sistema di vita, impiega strumenti che appartengono alla





natura stessa (preparati biodinamici, rotazioni agricole, compostaggio, lavorazioni non distruttive del terreno, concimazione di qualità attraverso tecniche particolari, concimazione con composti biodinamici, calendario lunare o planetario per semine e operazioni per le colture).

I preparati per le coltivazioni biodinamiche
I preparati sono prodotti partendo dal

principio che ogni sostanza è formata da forza vitale e materia e se la sostanza è diluita, ha maggiore effetto sugli organismi che ne vengono in contatto, come nell'omeopatia.

I preparati biodinamici, che vengono infatti utilizzati in piccole quantità, possono essere da spruzzo o da cumulo.

I preparati da spruzzo sono il "cornoletame", a base di letame di vacca, e il "cornosilice", a base di quarzo macinato, entrambi contenuti in un corno di vacca che, una volta riempito, viene posto sotto terra per circa sei mesi, per poi essere subito utilizzato o conservato, anche per molto tempo. Prima di essere utilizzati questi preparati vengono però "dinamizzati", cioè mescolati a lungo e in un modo particolare. Il cornoletame si spruzza sulla terra, potenzia l'humus e promuove la nutrizione e lo sviluppo delle piante. Il cornosilice viene spruzzato direttamente sulle piante, le rende vigorose e capaci di produrre frutti buoni e sani e ne potenzia il processo fotosintetico.

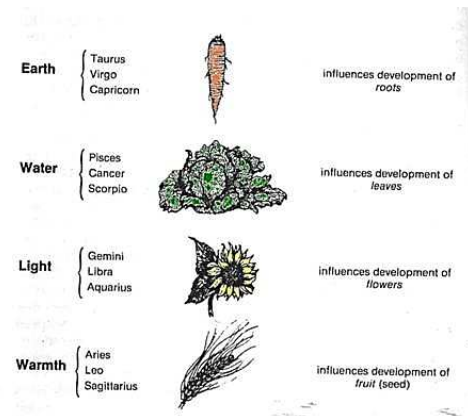
"Curare le piante con altre piante" è uno dei principi base della biodinamica. Coltivare una pianta officinale per riutilizzarla nella stessa azienda è un esempio di ciclo chiuso che può far aumentare l'effetto terapeutico. Vengono utilizzati decotti, tisane, infusi, macerati e oli essenziali da somministrare alle piante previa diluizione in acqua e dinamizzazione.

I preparati da cumulo vengono aggiunti al materiale che si deve compostare. Sono sei e si preparano da alcune erbe officinali (*Matricaria camomilla*, *Achillea millefolium*, *Quercus robur*, *Urtica dioica*, *Valeriana officinalis*, *Taraxacum officinalis*), ognuna delle quali viene lasciata macerare e compostare in contenitori formati da parti del corpo di alcuni animali.

Le rotazioni agricole

In molte parti d'Europa la rotazione è una pratica agricola abbastanza recente, introdotta circa 100 anni fa in seguito alla coltivazione della patata e di altri tuberi, è necessaria per mantenere la fertilità del terreno.

L'alternarsi di colture diverse fa sì che ogni coltura determini, sullo stesso terreno, variazioni di natura fisica, chimica e biologica che avranno influenza sulle colture successive.



Un'azienda biodinamica che vuole fare orticoltura deve stabilire una rotazione che preveda il rientro di una specifica coltura sullo stesso campo non prima di cinque anni, mentre un'azienda cerealicola può impostare una rotazione quadriennale, sempre alternando colture con diverso apparato radicale e considerando gli apporti di sostanza organica che le colture lasciano nel terreno alla fine del loro ciclo naturale (prato di leguminose o

graminacee).

In biodinamica la rotazione deve essere realizzata, durante tutto l'anno, considerando quale forza o fenomeno dominante si manifesta nella pianta che dobbiamo coltivare o quale organo dovrà maggiormente svilupparsi rispetto agli altri, secondo lo schema:

calore - luce - acqua - terra - calore - luce - acqua - terra
 | | | | | | | | | |
 frutto - fiore - foglia - radice - frutto - fiore - foglia - radice

Le forze di calore hanno infatti una relazione con i processi di fruttificazione, quelle di luce con la fioritura, quelle di acqua con i processi chimici della foglia, e quelle di terra con le radici.

Seguendo il più possibile questo schema è possibile prevenire le malattie, conservare nel tempo la fertilità del suolo, e mantenere più costanti le produzioni.



Il calendario lunare o planetario per le semine

In biodinamica si tiene conto che la Terra, essendo parte dell'Universo, è soggetta alle sue leggi e alle influenze cosmiche. Grazie al Sole è possibile la vita, grazie alla sua luce può avvenire la fotosintesi, mentre l'alternarsi del giorno e della notte e delle stagioni, determinano il ritmo vitale della Terra.



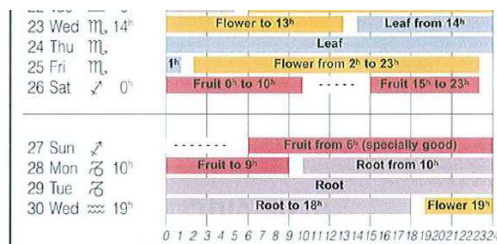
**CERTIFIED
BIODYNAMIC®**

La Luna governa i liquidi e quindi il flusso delle maree, e ancora oggi moltissimi contadini seminano, potano e travasano seguendo i suoi movimenti.

Steiner parla degli influssi dei pianeti sulla Terra, ma nella pratica agricola biodinamica l'agricoltore si limita ad utilizzare il calendario delle semine basato sugli studi inerenti l'influenza della Luna in agricoltura della tedesca Maria Thun, la quale ha osservato che la pianta sviluppa più o meno ognuna delle sue parti, (radice, foglia, fiore, frutto) secondo la posizione della Luna al momento della semina.

Seguendo il passaggio della Luna attraverso lo zodiaco, formato da segni di fuoco, terra aria ed acqua, Maria Thun ha osservato che la pianta

sviluppa maggiormente una sua parte quando la luna transita in certi segni, secondo lo schema:



Key
 Fruit best
 Flower best
 Leaf avoid
 Root avoid
 ----- avoid
 June 2010

Radice-Terra, Foglia-Acqua,
Fiore-Aria, Frutto-Fuoco

Quindi, quando la Luna transita nei segni di fuoco l'agricoltore biodinamico seminerà piante da frutto, quando transita in segni di terra seminerà piante per la produzione di radici e tuberi, quando transita in segni d'aria seminerà piante da fiore e quando transita in segni di acqua seminerà ortaggi a foglia.

Le organizzazioni della biodinamica in Italia e nel mondo

L'Associazione per l'Agricoltura biodinamica in Italia, ufficialmente istituita nel 1947, è la più antica organizzazione del settore ed ha conseguito il riconoscimento dello Stato italiano con DPR n°1172 del 16/12/1982. Il marchio tutela i prodotti e i consumatori e certifica l'avvenuta produzione secondo i disciplinari biodinamici.

Le aziende effettivamente biodinamiche sono comunque certificate dalla Demeter Italia, ma ne esistono molte altre che producono biodinamicamente anche se certificate solo per il biologico.

Il marchio Demeter è presente in tutto il mondo e la Demeter International, federazione formata dalle Demeter di 19 paesi, ha il compito di armonizzare i

disciplinari di produzione e la comune politica di marchio e di fornire assistenza tecnica e commerciale ai paesi dove non ci sono Demeter autonome.

L'AGRICOLTURA ORGANICA

All'inizio del secolo scorso il botanico inglese Sir Albert Howard, dopo aver trascorso oltre vent'anni in India ad osservare i metodi di coltura dei contadini locali, per trovare sistemi efficaci contro le malattie delle piante, arrivò a rivalutare i sistemi agricoli tradizionali, ed elaborò il concetto alternativo di agricoltura organica.

I punti salienti dell'agricoltura organica sono:

- la salute del suolo come prerogativa per ottenere un buon raccolto;
- il metodo "Indore" che consiste nel restituire al suolo, dopo il raccolto, secondo la "legge del ritorno", tutti gli scarti di materia organica per mantenerlo in condizioni ottimali. Sir Howard formula anche un particolare fertilizzante contenente sostanza



organica animale e vegetale, per ristabilire nel suolo l'equilibrio tra i suoi costituenti e fornire alle piante coltivate il giusto apporto di nutrienti;

- il rispetto per la natura, in quanto Sir Howard parla di "agricoltura naturale", considerando fondamentale il rispetto dell'armonia e delle leggi della natura, durante lo svolgimento delle pratiche agricole.

Gli insegnamenti e le idee di Sir Howard, sono state divulgate in Inghilterra da Lady Eve Balfour, che nel testo "The living soil", pubblicato nel 1943



definisce l'approccio alternativo all'agricoltura convenzionale mediante la nuova disciplina che viene definita "agricoltura organica", perché considera fondamentali sia il ruolo dei singoli organismi che interagiscono nel contesto agricolo, sia le sostanze organiche necessarie a mantenere in salute piante ed animali.

Il lavoro di Lady Balfour ha rappresentato il punto di riferimento per un gruppo di agricoltori, scienziati e nutrizionisti che nel 1947 ha fondato la Soil Association che attualmente si occupa di promuovere e certificare i prodotti provenienti da agricoltura organica, anche se oggi il termine "organico" nei paesi anglosassoni è considerato sinonimo di Agricoltura biologica.

L'AGRICOLTURA NATURALE

L'agricoltura naturale nasce negli anni '40, su idea dell'agronomo giapponese Masanobu Fukuoka, che la definisce "*natural farming*".

Si può definire come l'agricoltura del non fare, in quanto consiste nel lasciare che il sistema agricolo-ambientale, si sviluppi secondo natura senza potature, concimazioni, cura colturale o trattamenti fitosanitari, lotte antiparassitarie, lavorazioni del terreno, limitando l'intervento dell'agricoltore solo alla semina e al raccolto.

Il terreno non viene arato e la germinazione dei semi, preventivamente mescolati con argilla e fertilizzante (si riduce il numero di semi necessari), si verifica in superficie.



Per restituire al terreno la maggior parte di quello che ha prodotto, l'agricoltore deve raccogliere solamente i frutti e lasciare sul suolo i resti della coltivazione che vengono utilizzati per pacciamare.

Il suolo, che, per ridurre l'erosione superficiale, deve rimanere sempre inerbito con piante fissatrici di azoto poco invadenti (sovescio), si possono seminare direttamente cereali, ortaggi o piantare alberi da frutto. Nelle infestazioni di insetti dannosi è impiegata la lotta biologica.

LA PERMACULTURA

La permacultura (inizialmente permacoltura, dall'inglese *permanent agriculture*, cioè agricoltura permanente evolutasi poi in permacultura, da *permanent culture*, cioè cultura permanente) nasce nel 1978 in Australia, come modello di agricoltura sostenibile elaborato da Bill Mollison e David Holmgren.

“La permacultura non è una serie di teorie o metodi, ma una maniera di pensare” (Bill Mollison), non orientata al profitto, ma basata su fondamenti etici:

- prendersi cura della terra;
- prendersi cura della gente;
- condividere le risorse.

Si può definire una pratica integrata di progettazione e conservazione consapevole ed etica di ecosistemi produttivi che ha come obiettivo l'integrazione dei cicli naturali e della vita dell'uomo, attraverso la realizzazione di insediamenti umani in un ambiente sostenibile ed equilibrato, il più possibile somigliante ad un ecosistema naturale, con abbondanza di alimenti, fibre ed energia.

Negli stanziamenti umani, similmente a ciò che accade negli ecosistemi, ogni componente ha il compito di svolgere più di una funzione (il lombrico arca la terra, digerisce e rende disponibile la materia organica per le piante, è cibo per uccelli e altri

animali) ed esistono più modi in cui può avvenire un fenomeno (l'acqua entra nel sistema attraverso la pioggia, l'umidità della notte, i ruscelli, e le faglie sotterranee).

In permacultura l'approccio olistico all'agricoltura consente di conciliare le attività e i bisogni umani con quelli della natura, instaurando un equilibrio fra l'ambiente naturale e l'ambiente antropizzato nel rispetto dei principi della biodiversità e dell'utilizzo delle energie rinnovabili.



In permacultura quindi, la progettazione, le pratiche agricole, la gestione dell'ambiente, l'economia e le dinamiche sociali devono poter realizzare i massimi benefici con il minimo impiego di spazio e di energia, in un sistema produttivo in grado di automantenersi e rinnovarsi con una bassa richiesta energetica e che duri nel tempo.

Dalla permacultura inglese, in particolare da Rob Hopkins, nascono le *transition*

towns (città di transizione).

L'AGRICOLTURA SINERGICA

È un metodo di coltivazione sviluppato dall'agricoltore e permacultrice spagnola Emilia Hazelip basandosi sui principi elaborati dall'agronomo giapponese Masanobu Fukuoka e confermati dagli studi microbiologici di Alan Smith (dipartimento agricolo del New South Wales). Secondo Fukuoka la terra fa crescere le piante e contemporaneamente le piante creano suolo fertile attraverso i propri "essudati radicali", i residui organici che lasciano e la loro attività chimica, insieme a microrganismi, batteri, funghi e lombrichi.

Con questo tipo di coltivazione viene restituita alla terra più energia di quanta ne viene presa, favorendo il processo di autofertilità del suolo.

La preparazione delle aiuole e la pacciamatura vegetale

La preparazione del terreno viene effettuata favorendo l'interazione naturale tra le radici delle piante ed i microrganismi del terreno, senza concimazioni, né aratura (tranne in caso di terreni compressi, non arenati, in prima preparazione).

Vengono preparate delle aiuole rialzate (bancali di 30/50 cm, larghe 120 cm o più se si prevede l'uso di mezzi meccanici e lunghe preferibilmente non più di 5/6 m), a sezione trapezoidale con i lati scoscesi ed un piano dove poter seminare, separate da passaggi di almeno 50 cm per non calpestare la parte coltivata; i bancali sono forniti di impianti

di irrigazione a goccia e di strutture di sostegno dei rampicanti (archi di ferro incrociati lunghi 6 metri infilati nel terreno).

I bancali sono pacciamati con paglia e residui vegetali in modo omogeneo e coprente,



che non lasci mai la terra nuda, l'estate per evitare l'eccessiva evaporazione dell'acqua e quindi essiccazione del terreno e l'inverno per proteggere dalle gelate. La pacciamatura inoltre consente all'acqua piovana di arrivare al terreno in piccoli spruzzi o per gocciolamento, evitando di dilavare gli elementi nutritivi e di compattarlo mentre la sua decomposizione

costante contribuisce alla formazione dell'humus; solo all'inizio della primavera può essere utile aprirla un po' per favorire il riscaldamento del terreno da parte del sole.

La coltivazione

La semina ed i trapianti vengono eseguiti spostando la pacciamatura e poi ripristinandola, disponendo le piante in maniera da arricchirsi vicendevolmente. In ogni aiuola infatti devono essere presenti leguminose (azoto-fissatrici che incrementano il contenuto di azoto disponibile), liliacee, piante aromatiche e fiori (repellenti verso gli insetti dannosi), alternate a piante di altre famiglie in modo da avere in ogni bancala radici a tutte le profondità e con capacità diverse. Alternando specie diverse si impedisce anche l'attacco massivo dei parassiti. Alla fine del ciclo vitale le piante non vengono estirpate, tranne quelle con la parte ipogea commestibile (patate, carote, cipolle ecc.), ma sono lasciate nel terreno dove le radici, degradandosi in maniera naturale, liberano i nutrienti, formando humus e favorendo le radici delle piante nelle semine successive.

GLI ECOVILLAGGI

Gli ecovillaggi sono comunità basate sul modello sostenibile (economico, sociale ed ecologico), nelle quali si sperimentano modi di vita alternativi a quelli stabiliti dall'attuale sistema socio-economico, per dimostrare che è possibile vivere, e convivere con una migliore qualità della vita, non condizionati dalle dinamiche di consumo e globalizzazione. Gli ecovillaggi sono in sintesi laboratori di ricerca e sperimentazione nei quali si cerca di rispondere all'attuale disgregazione del tessuto familiare, culturale e sociale.

I principi di base secondo l'ecologo ed agronomo australiano David Holmgren (principale teorico) sono:

- adesione volontaria dei partecipanti e condivisione dei principi fondanti;

- nuclei abitativi progettati per ridurre al minimo l'impatto ambientale;
- uso di energie rinnovabili;
- autosufficienza alimentare basata su permacultura o altre forme di agricoltura biologica.

L'ecovillaggio si basa quindi sui principi della sostenibilità:

ambientale: vengono utilizzate fonti energetiche rinnovabili ed ogni intervento è effettuato per ridurre al minimo l'impatto sull'ambiente. Gli alimenti sono per lo più prodotti con i metodi della permacultura o altre forme di agricoltura biologica;

sociale: l'ecovillaggio ha dimensioni che permettono ai suoi abitanti di conoscersi e relazionarsi e avere una "voce" all'interno della comunità;

economica: si tende all'autosufficienza, in modo da soddisfare il più possibile ogni esigenza, dai bisogni sostanziali (casa, cibo, lavoro) a quelli di altra natura (svago, espressione di sé, educazione, bisogni affettivi).

BIBLIOGRAFIA

- Carpenter-Boggs, et al., Effects of Biodynamic Preparations on Compost Development. *Biological Agriculture and Horticulture*, Vol.17: 313-328, 2000.
- Carpenter-Boggs et. al, Biodynamic preparations: Short-term effects on crops, soils, and weed populations. *American Journal of Alternative Agriculture*, Vol. 15, n. 3, 2000.
- Celli Giorgio, Presentazione in Guida al riconoscimento degli organismi utili in agricoltura, Bologna, Centro Servizi Avanzati per l'Agricoltura (Centrale Ortofrutticola di Cesena) e dell'Osservatorio agroambientale di Cesena, pag. 9, 1991.
- Chalker-Scott Linda, "The Myth of Biodynamic Agriculture", *Master Gardener Magazine* 2004.
- Chapman Jenny L., Reiss Michael, *Ecologia. Principi e applicazioni*, A. Suvero (trad. e rev.), Zanichelli, 1994. ISBN 8808-09800-1.
- Cianciullo Antonio. Clima e pesticidi, le api sono dimezzate. Strage alveari, frutta a rischio in *Tecnologia & Scienze*. *la Repubblica.it*, 22-05-2007.
- Daclon Corrado Maria, Una nuova gestione del territorio rurale in *Agricoltura*, *Rivista del Ministero Politiche Agricole e Forestali*, n. 301, 2000.
- Decreto legislativo 17 Marzo 1995 n. 220 *Gazzetta Ufficiale* n. 129 del 5 Giugno 1995.
- Decreto del Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali n.18354 del 27 novembre 2009, Disposizioni per l'attuazione dei Regolamenti (CE) n. 834/2007, n.889/2008 e n.1235/2008 e successive modifiche riguardanti la produzione biologica e l'etichettatura dei prodotti biologici. *Supplemento ordinario* n.24 della *Gazzetta Ufficiale Serie generale* n.31 del 8-2-2010.
- Decreto del Presidente della Repubblica 16 dicembre 1982 n. 1172 pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* n. 112 del 26 aprile 1983.
- Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* 24.11.2009 L 309/71.
- Diver, "Community Supported Agriculture", 1999.

- Draghetti Alfonso, Principi di fisiologia dell'azienda agricola, Ist. Edit. Agricolo, Bologna 1948.
- Fanelli Daniele, Polemica verde, L'Espresso, anno LII, n. 34, 30 agosto pag. 37, 2007.
- Ferrari Mario, Marcon Elena, Menta Andrea, Lotta biologica, Bologna, Edagricole, 1995. ISBN 88-206-3959-9
- Ferrari Mario et al, Ecologia agraria, 2, Milano, Edagricole Scolastico, 2003. ISBN 88-529-0028-4
- Fukuoka Masanobu, La rivoluzione del filo di paglia. Un'introduzione all'agricoltura naturale, Quaderni d'Ontignano, Libreria Editrice Fiorentina, 1980 pag. 80.
- Garofalo Francesco, Lezioni di agricoltura biologica, Ancona, 1981.
- Giardini Luigi. Agronomia generale, 3, Bologna, Pàtron, 1986.
- Kirchmann Holger, "Biological dynamic farming--an occult form of alternative agriculture?" J. Agric. Environ. Ethics. Volume 7, Issue 2, pp 173-187, 1994.
- Minerva Daniela, Bio non fa miracoli, L'Espresso, anno LII, n. 34, 30 agosto pag. 32, 2007.
- National Research Council, Alternative Agriculture, National Academy Press, Washington, 1989.
- Nicolini Luigi, Agricoltura e dibattito ecologico, La Nuova Italia, Firenze, 1978.
- Pfeiffer Ehrenfried, La fécondité de la terre. Méthode pour conserver ou rétablir la fertilité du sol, Triades, Paris, 1979.
- Pimentel David, Hall C.W. (editors), Food and natural resources, Academic Press, San Diego, 1989.
- Reeve Jennifer R., Carpenter-Boggs L., Reganold John P., York Alan L., McGourty Glenn and McCloskey Leo P., Soil and Winegrape Quality in Biodynamically and Organically Managed Vineyards Am. J. Enol. Vitic vol. 56 no. 4 367-376, December 2005
- Reganold, J. P., Palmer, A. S., Lockhart, J. C., and Macgregor, A. N. Soil, quality and financial performance of biodynamic and conventional farms in New Zealand. Science 260 (5106): 344-349, 1993.
- Regolamento (CEE) n. 2092/91 del Consiglio, del 24 giugno 1991, relativo al metodo di produzione biologico di prodotti agricoli e alla indicazione di tale metodo sui

prodotti agricoli e sulle derrate alimentari, Gazzetta ufficiale n. L 198 del 22/07/1991.

Regolamento (CE) n. 331/2000 della Commissione del 17 dicembre 1999, che modifica l'allegato V del regolamento (CEE) n. 2092/91 del Consiglio relativo al

metodo di produzione biologico di prodotti agricoli e all'indicazione di tale metodo sui prodotti agricoli e sulle derrate alimentari, Gazzetta Ufficiale delle Comunità Europee n. L 48 del 19 febbraio 2000.

Regolamento (CE) N. 834/2007 del Consiglio del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il Regolamento (CEE) n. 2092/91, Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea L 189/1 20 Luglio 2007.

Regolamento (CE) n. 889/2008 della Commissione del 5 settembre 2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli, Gazzetta Ufficiale L 250 del 18.9.2008.

Regolamento (CE) n. 1254/2008 della Commissione del 15 dicembre 2008 che modifica il regolamento (CE) n. 889/2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli, Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea L 337/80 del 16.12.2008

Regolamento (CE) n. 1235/2008 della Commissione dell'8 dicembre 2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio per quanto riguarda il regime di importazione di prodotti biologici dai paesi terzi, Gazzetta ufficiale dell'Unione europea L 334/25 del 12.12.2008.

Regolamento (CE) N. 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea 24.11.2009 L 309/1.

Saltini Antonio L'orto dell'Eden Edagricole, 1988. ISBN 88-206-3038-9

Saltini Antonio, Storia delle scienze agrarie, 4 voll., Edagricole, Bologna, 1984-89.

Saltini Antonio, Le agricolture "biologiche", avanguardia o devianza del progresso agronomico? Estr. da Rivista di storia dell'agricoltura, n° 2, 1995.

www.ecovillaggi.it

www.ense.it

www.permacultura.it

Finito di stampare nel mese di xxxx 2013
da xxxx