



Presenza di microalghe tossiche nei mari italiani: gestione delle fioriture negli ambienti marino- costieri in relazione a balneazione e altre attività ricreative

Maura Manganelli

Istituto Superiore di Sanità, Dip. Ambiente e Salute

Vibo Valentia 19 maggio 2017

Normativa acque di balneazione

Decreto 30 marzo 2010 del Ministero della Salute (D. Lgs. 30 maggio 2008 n. 116, recepimento Direttiva 2006/7/CE) – controlli effettuati dalle ARPA

Allegato A: valori limite di Enterococchi intestinali e *Escherichia coli*, indicatori di contaminazione fecale (acque marine ed acque interne) – rappresentativi di **organismi patogeni** – dati consolidati – soglie condivise a livello europeo

Allegato B: Procedure per la gestione del rischio associato alle proliferazioni di **cianobatteri** nelle acque di balneazione (acque interne) – soglie non condivise (OMS)

Allegato C: linee guida per la gestione del rischio associato alle fioriture di ***Ostreopsis ovata*** nelle coste italiane (acque marine) - soglie non condivise (OMS)

Allegato D: procedure di campionamento

Allegato E: criteri e modalità per la definizione dei **profili** delle acque di balneazione

Gestione del rischio associato alle fioriture di *Ostreopsis ovata* nelle coste italiane

- La presenza e/o la fioritura di specie potenzialmente tossiche (*Alexandrium* spp., *Dinophysis* spp., *Pseudo-nitzschia* spp., *Fibrocapsa japonica*, ecc.) sono state ripetutamente segnalate lungo le coste italiane.
- Ad eccezione del caso di *O. cf. ovata* non ci sono evidenze di associazione tra esposizione in attività di balneazione ed effetti sanitari. Le altre specie di alghe tossiche sono associate ad un'esposizione di tipo orale, per ingestione e sono dannose per l'accumulo attraverso la rete trofica.
- Il controllo di quelle specie è regolato dalle normative sui prodotti ittici destinati al consumo umano

Dalle vecchie alle nuove linee guida

In seguito agli episodi di intossicazione di Genova, nel 2007 sono state redatte le linee guida per la gestione del rischio di esposizione a *O. ovata* - D.M. 30 marzo 2010 sulla balneazione.

3 fasi: routine, allerta, emergenza, un solo valore soglia per definire la fase di emergenza > **10.000 cell/L**

Da allora, numerose pubblicazioni scientifiche e osservazioni anche in altri Paesi mediterranei hanno reso disponibili maggiori dati

APROCCIO = Valutazione del rischio (dati tossicologici e scenari di esposizione)

**LINEE GUIDA = Combinazione di valori soglia e condizioni metereologiche
(esposizione)**

Monitoraggio ambientale + Sorveglianza Sanitaria

Ostreopsis cf. ovata

RAPPORTI ISTISAN 14|19

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

Ostreopsis cf. ovata:
linee guida per la gestione delle fioriture
negli ambienti marino-costieri in relazione a
balneazione e altre attività ricreative

A cura di
E. Funari, M. Manganelli ed E. Testai

Adriana Zingone, Patrizia Ciminiello, Antonella Penna, Cecilia Totti, Patrizia Borrello, Nicola Ungaro, Emanuela Spada, Irene Di Girolamo, Erika Magaletti, Anna Milandri, Marinella Pompei, Manuela Ercolessi, Rosella Bertolotto, Gabriela Scanu, Gioia Benedettini, Aurelia Tubaro, Silvio Sosa, Marco Pelin, Francesco Regoli, Marco Baldini, Paolo Durando, Rossella Barone, Rossella Pistocchi, Liana Gramaccioni.

<http://www.iss.it/publ/index.php?lang=1&id=2839&tipo=5>



Contents lists available at ScienceDirect

Harmful Algae

journal homepage: www.elsevier.com/locate/hal



Ostreospis cf. *ovata* blooms in coastal water: Italian guidelines to assess and manage the risk associated to bathing waters and recreational activities



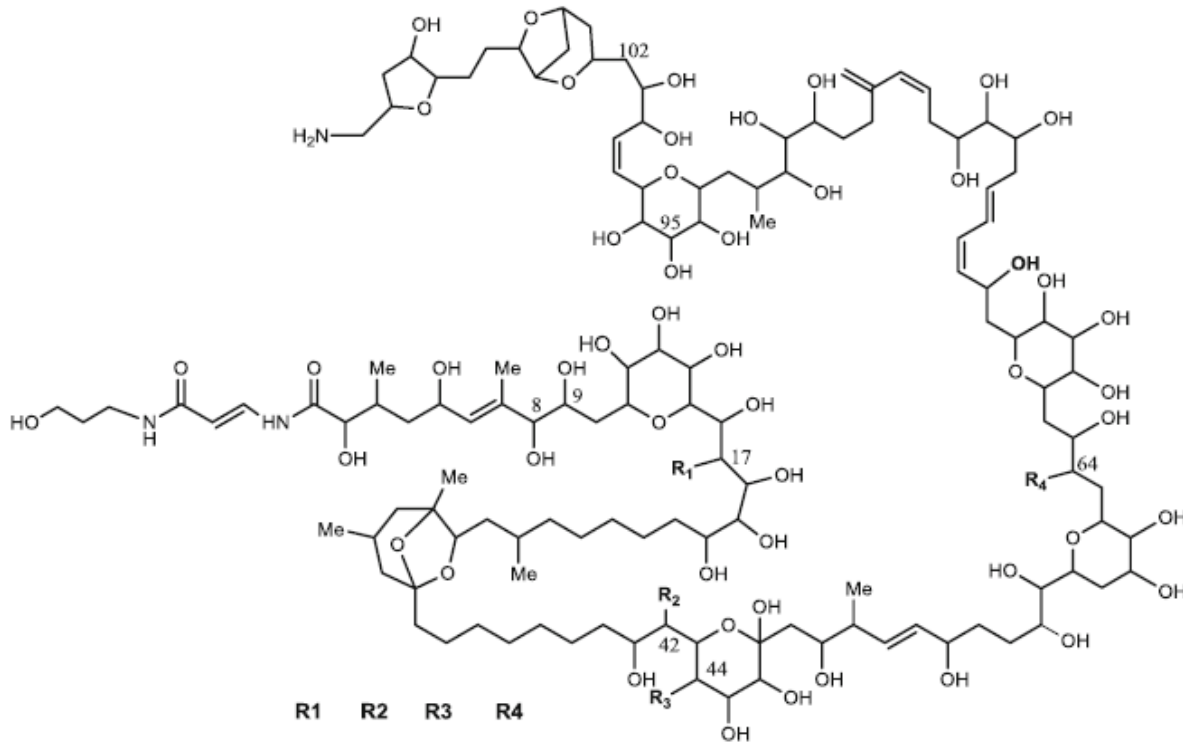
Enzo Funari, Maura Manganelli*, Emanuela Testai

Istituto Superiore di Sanità, Dept. of Environment and Primary Prevention, Viale Regina Elena 299, 00161 Rome, Italy

Tossine

Palitossina

Coelenterato *Palythoa toxica* e altri organismi tropicali



	R1	R2	R3	R4
Palytoxin	OH	H	OH	OH
Ovatoxin-a	H	OH	H	H

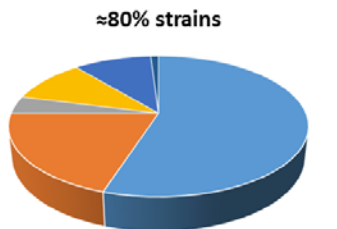
Ovatossina – a/g

Palitossina isobarica

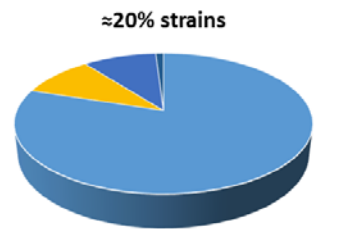
Varianti di OVTX in *O. cf. ovata*

Ceppi diversi (da varie regioni) presentano concentrazioni relative differenti

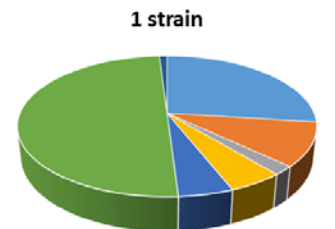
- ≈80% OVTX-a (≈55%), OVTX-b, OVTX-d + -e, OVTX-c, PLTX
- ≈20% OVTX-a (≈80%), OVTX-d + -e, PLTX
- 1 ceppo OVTX-f (≈50%), OVTX-a, OVTX-b, OVTX-d + -e, OVTX-c, PLTX (Portonovo, Marche)
- 1 ceppo OVTX-b (≈80%) (Villefranche)



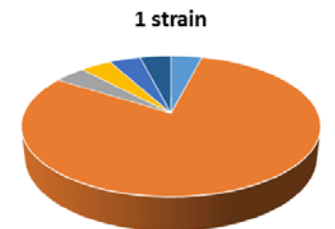
■ OVTX-a ■ OVTX-b ■ PVTX-c ■ OVTX-d
■ OVTX-e ■ OVTX-f ■ PLTX



■ OVTX-a ■ OVTX-b ■ PVTX-c ■ OVTX-d
■ OVTX-e ■ OVTX-f ■ PLTX



■ OVTX-a ■ OVTX-b ■ PVTX-c ■ OVTX-d
■ OVTX-e ■ OVTX-f ■ PLTX



■ OVTX-a ■ OVTX-b ■ PVTX-c ■ OVTX-d
■ OVTX-e ■ OVTX-f ■ PLTX

Profilo tossicologico PLTX

- la tossicità acuta della PLTX dipende molto (3 ordini di grandezza!) dalla via di esposizione: i.p.>>orale (Pelin et al. 2015). LOAEL orale 200 µg/kg bw (Ito e Yasumoto, 2009)
- nessuno studio sulla tossicità per inalazione;
- effetto irritativo sulla zona di contatto; molto citotossica su cheratociti, a concentrazioni picomolari (Pelin et al 2013);
- Solo uno studio sulla citotossicità di OVTX su cheratociti; < PLTX, ma tossica a concentrazioni nanomolari (Pelin et al. 2016)

Vie di esposizione durante le attività di balneazione e ricreative

- ❑ Via cutanea/oculare contatto con la pelle o mucose con tossine disciolte in acqua o attaccate a coralli negli acquari, o con cellule – ***irritazioni locali***

- ❑ Via inalatoria aerosol contenente frammenti di cellule o tossine
Irritazione delle prime vie aeree, tosse, rinorrea, difficoltà respiratorie, dolori muscolari ed articolari, irritazione a carico delle mucose oculari e della cute e febbre. I sintomi si sono risolti per lo più spontaneamente in 24-72 ore e in meno di 12 ore a seguito di somministrazione di farmaci anti-infiammatori non steroidei.

- ❑ Via orale ingestione accidentale di acqua contenente cellule tossiche
 ingestione di prodotti ittici contaminati – ***in paesi tropicali effetti letali, nel Mediterraneo non si conoscono casi simili***

Categorie a rischio

Nuotatori: contatto, ingestione, esposizione ad aerosol generato dalla loro attività

Snorkeler o subacquei: ingestione e aerosol

Persone che sostano o che praticano attività (ricreative o lavoro) sulla spiaggia:
aerosol

Coloro che praticano sport acquatici (tutti i tipi di esposizione); persone che puliscono coralli negli acquari (via dermica e inalazione); pescatori che maneggiano/puliscono le reti (via dermica)

Effetti sulla salute

Casi più severi di morte, nelle aree tropicali, in seguito ad ingestione di prodotti ittici contaminati

Nel Mediterraneo, nonostante si siano verificati casi di accumulo di tossine in organismi eduli, nessun caso grave è stato segnalato in seguito ad ingestione.

Diversi casi associati ad inalazione di aerosol sono stati segnalati in varie zone: irritazione delle vie aeree superiori, occhi e pelle, e effetti sistemici (febbre, nausea e vomito).

Year	Location	Affected people (n)	<i>Ostreopsis</i> (cells L ⁻¹)	Reference
1998	NW Med (Spain)	-	2×10 ⁵	Vila et al. 2008
1998, 2000, 2001	Tirrenian (Italy)	~100	-	Sansoni et al. 2003
2001, 2003, 2004	S Adriatic (Italy)	28	-	Gallitelli et al. 2005
2004	NW Med (Spain)	74 (estimated~200)	2×10 ⁴	Vila et al. 2008, Álvarez et al. 2005
2005, 2006	Ligurian (Italy)	228, 19	-	Brescianini et al. 2006, Durando et al. 2007
2006	NW Med (Spain)	37	2×10 ³	Álvarez 2006
2006-2009	NW Med (France)	47	>3×10 ⁴	Tichadou et al. 2010
2006	SW Med (Spain)	57	1×10 ³	Barroso García et al. 2008
2009	SW Med (Algeria)	150-200	8×10 ⁴	Illoul et al. 2012
2010	Adriatic (Croatia)	7	4×10 ⁴	Pfannkuchen et al. 2012
2013	NW Med (Spain)	13	5×10 ⁴	This study

Intossicazioni in concomitanza di fioriture di *O.* *cf. ovata* dal 2007 in Italia

Regione	Anno	Concentrazione (cell/L)	Intossicazione umana
Puglia	2007	36400 (colonna); 1.7 milioni (fondo)	Si (80 casi)
	2008	5 milioni	Si*
	2009	7.5 milioni	No*
	2010	4.6 milioni	No
	2011	1 milione	Si
Marche	2007	641.000	No
	2008	5 milioni	Si*
	2009	3.9 milioni	Si*
	2010	7 milioni	No*
Liguria	2010	10.2 milioni	No*

(*) Adozione di misure per la tutela della salute

Baldini et al. 2014. Rapporti ISTISAN 14/19

Valutazione del rischio

Definizione degli scenari di esposizione

ORALE

CONTATTO

INALAZIONE

Dati sulla tossicità di
PLTX e Ost-D (analoghi
di OVTX)

Analisi dei dati disponibili sulle densità delle
fioriture e sui concomitanti casi di intossicazione
umana

Definizione delle soglie

Esposizione orale

- ❑ ingestione accidentale di acqua di mare contaminata
- ❑ ingestione di prodotti ittici contaminati

Pochi dati sperimentali disponibili per esposizione orale a PLTX e Ostreocina-D (Ost-D) (altro analogo di PLTX)

Vari casi di intossicazione dopo consumo di prodotti ittici contaminati con PLTX; PLTX trovata in molte specie diverse (pesci, ricci di mare, molluschi, ecc.); pochi studi in cui è verificata la presenza di PLTX nel cibo (Pelin et al. 2015).

Esposizione orale

EFSA (European Food Safety Authority)

$$\text{PLTX} + \text{Ost-D} = \text{PLTXeq}$$

partendo dalla dose più bassa testata in uno studio di tossicità acuta per via orale (LOAEL 200 µg/kg peso corporeo Ito & Yasumoto, 2009) e utilizzando un fattore di incertezza di 1000 (10 per variabilità interspecifica x 10 variabilità intraspecifica x 10 per altri fattori di incertezza – somministrazione e LOAEL)

Acute Reference Dose = 0,2 µg/kg pc

adulto 60 kg pc



12 µg PLTXeq

bambino 10 kg pc



2 µg PLTXeq

Determinazione della soglia per l'esposizione orale

Attività di balneazione = ingestione accidentale fino a 100 mL di acqua (WHO, 2003).

PLTXeq intracellulare in campioni naturali e in colture monoclonali
0,01 - 75 pg/cell

Nel caso peggiore:

adulti	100 mL	NO	> 12 µg PLTXeq = 160.000 cell
bambini	100 mL	NO	> 2 µg PLTXeq = 30.000 cell

Quindi non più di **300.000 cell/L**.

Incertezza dei fattori ambientali, possibile aumento di densità non monitorato, ecc. questo valore è abbassato a

100.000 cell/L

Esposizione

Contatto

Inalazione

Contatto con la pelle o mucose con acqua di mare contaminata

Inalazione di aerosol contenente frammenti di cellule e/o tossine

Mancanza di dati tossicologici sperimentali sull'esposizione per inalazione e per contatto

Esposizione

Contatto

Inalazione

- ✓ **Dati sulle densità delle fioriture di *O. cf. ovata*, dalle attività di monitoraggio lungo le coste italiane (basate sulle precedenti linee guida) e francesi**
- ✓ **Dati sul numero di casi accertati di effetti sulla salute umana riportati in relazione agli episodi di fioriture (che in Italia hanno permesso una definizione di 'caso')**
- ✓ **Altri dati disponibili su effetti specifici cutanei e respiratori derivati da contatto con coralli da acquario e/o aerosol a seguito di operazioni di pulizia di acquari (Tartaglione et al., 2016)**

Soglia per l'esposizione per Contatto e Inalazione

Analisi dei casi di intossicazione e degli eventi infiammatori umani riportati congiuntamente ai dati sulla presenza di fioriture di *O. cf. ovata* e delle densità

❑ Irritazione oculare/cutanea solo con densità > 30.000 cell/L

(implicazioni per i pescatori professionali e amatoriali che maneggiano reti)

❑ Effetti avversi di tipo respiratorio dopo esposizione ad aerosol durante fioriture con densità cellulari > 30.000 cell/L e con specifiche condizioni meteo-marine, favorevoli alla formazione di aerosol

Linee guida: monitoraggio ambientale

1/2

Selezione delle aree a rischio da monitorare con ispezioni visive e campionamento dell'acqua.

In base alla densità misurata si identificano tre fasi:

Routine – campionamento quindicinale
1) ≤ 10.000 cell/L
2) 10.000-30.000 cell/L in
condizioni meteorologiche che non favoriscono la fioritura

Nessuna azione

Allerta -
1) 10.000-30.000 cell/L in
condizioni che favoriscono la fioritura
Possible infiammazione di pelle e occhi
2) 30.000-100.000 cell/L no
formazione di aerosol

Informazione al pubblico, ai pescatori professionisti e amatoriali; scoraggiare attività ricreative che generino aerosol

Attivare il Sistema di Sorveglianza Sindromica

Aumentare la frequenza di campionamento

Allertare le autorità sanitarie

Determinare le tossine nei prodotti ittici

Linee guida: monitoraggio ambientale 2/2

Emergenza -

1) > 30.000 cell/L in condizioni che favoriscono la formazione di aerosol

2) > 100.000 cell/L

3) aggregati di *O. cf. ovata* galleggianti in superficie

Rischio di effetti sistemici

«caso» confermato di intossicazione causato da *O. cf.*

ovata

Tutte le attività della fase di Allerta

La balneazione dovrebbe essere proibita

**Fasi del piano di sorveglianza e azioni da intraprendere
nelle aree ad elevato e medio rischio di fioritura di *Ostreopsis cf. ovata***

Fasi del piano *	Livelli di rischio sanitario	Attività previste	Misure di gestione
FASE DI ROUTINE			
1. Densità in colonna d'acqua ≤10.000 cell/L Indipendentemente da condizioni meteorologiche	Trascurabile	<ul style="list-style-type: none"> • Osservazioni e/o monitoraggio di routine mensile 	Nessuna
2. Densità in colonna d'acqua 10.000-30.000 cell/L Periodo prolungato con sufficiente idrodinamismo e temperature molto inferiori a quelle di fioritura**			
FASE DI ALLERTA			
1. Densità in colonna d'acqua 10.000-30.000 cell/L Periodo prolungato con scarso idrodinamismo e temperature ottimali di fioritura**	Trascurabile	<ul style="list-style-type: none"> • Intensificazione monitoraggio • Valutazione estensione dell'area interessata • Sorveglianza sanitaria • Osservazione stato di salute degli organismi acquatici eduli 	Il Sindaco comunica a Ministero della Salute e Ministero dell'Ambiente le misure per informare il cittadino e prevenire esposizioni pericolose
2. Densità in colonna d'acqua 30.000-100.000 cell/L Condizioni meteo sfavorevoli a formazione di aerosol e spruzzi	<i>Contatto e inalazione:</i> possibili sintomi e/o segni locali e sistemici lievi	<ul style="list-style-type: none"> • Analisi chimica di tossine in prodotti ittici e acqua • Informazioni ad autorità sanitarie 	
FASE DI EMERGENZA			
1. Densità in colonna d'acqua >30.000 cell/L Condizioni meteo-marine favorevoli alla formazione di aerosol e spruzzi d'acqua	<i>Contatto:</i> possibili sintomi e/o segni locali. <i>Inalazione:</i> possibili sintomi e/o segni locali, disturbi respiratori, effetti sistemici	<ul style="list-style-type: none"> • Attività svolte in Fase di allerta • Analisi tossine in aerosol • Pulizia battigia in caso di mareggiata 	Il Sindaco comunica a Ministero della Salute e Ministero dell'Ambiente le misure per informare il cittadino e prevenire esposizioni pericolose, indicando le misure di prevenzione adottate e le eventuali azioni intraprese (cartellonistica, bollettini, segnaletica, pubblicazioni sui portali nazionali e regionali; eventuali ordinanze sindacali di divieto)
2. Densità in colonna d'acqua >100.000 cell/L indipendentemente dalle condizioni meteorologiche	<i>Ingestione:</i> possibili sintomi e/o segni locali da contatto; rischio di effetti sistemici		
3. Presenza di materiale denso in superficie			
4. Segnalazioni di tipo sanitario associabili all'esposizione durante la fioritura			

* definite in base al numero di cellule di *O. cf. ovata* e delle condizioni ambientali e meteorologiche

** le temperature variano a seconda della regione interessata

Soglie e fasi in altri paesi

Francia: dal 2007 French National Health Agency (Direction General de la Sante'), ha indicato una soglia a 4000 cell/L di "attenzione" e 30.000 cell/L di allerta (Tichadou et al.,2010). Una Commissione di Esperti stabilisce le attività da intraprendere.

Dopo due anni le soglie sono state portate a 30.000 e 100.000 cell/L.

Spagna: Catalan Water Agency (ACA), che collabora con Institut de Ciències del Mar (ICM Consejo Superior de Investigaciones Cientificas, CSIC) ha stabilito 100.000 cells g⁻¹ of macroalgae (fresh weight) o 10.000 cell/L in acqua di mare in un sito di riferimento.

Linee guida: sorveglianza sanitaria

Possibilità di coinvolgere varie categorie di lavoratori nel sistema di sorveglianza integrato

bagnini, i pescatori, le scuole di nuoto e immersione, i farmacisti, il personale addetto ai campionamenti dell'acqua, dall'altro i Dipartimenti di Prevenzione delle ASL, i medici di medicina generale e pediatri di famiglia, i farmacisti sul territorio nonché il personale sanitario dei Pronto soccorsi degli ospedali.

Informatione e formazione degli operatori coinvolti (bagnini, scuole sub, farmacisti, medici di famiglia, ecc.) e informazione al pubblico



Riconoscimento di sintomi potenzialmente correlati all'esposizione a tossine prodotte da *O. cf. ovata* (casi sospetti)



Segnalazione di caso sospetto a Numero Verde/ASL



Indirizzo del caso sospetto a strutture sanitarie (Guardia Medica, ASL, Pronto Soccorso)



Allerta alle strutture sanitarie per la sorveglianza sanitaria



Riconoscimento di caso da parte della struttura sanitaria (sorveglianza sanitaria)



Analisi dati a livello regionale



Notifica al Ministero della Salute

Rapporto alle autorità ambientali



Allerta Emergenza

Nelle aree a rischio elevato: informazione alle strutture sanitarie per la sorveglianza sanitaria



Linee guida: sorveglianza sanitaria

Possibilità di coinvolgere varie categorie di lavoratori nel sistema di sorveglianza integrato

bagnini, i pescatori, le scuole di nuoto e immersione, i farmacisti, il personale addetto ai campionamenti dell'acqua, dall'altro i Dipartimenti di Prevenzione delle ASL, i medici di medicina generale e pediatri di famiglia, i farmacisti sul territorio nonché il personale sanitario dei Pronto soccorsi degli ospedali.

Il sistema di sorveglianza sindromica in varie fasi dovrebbe raccogliere importanti informazioni epidemiologiche da collegare al campionamento ambientale e dovrebbe puntare a limitare accessi inutili agli ospedali attraverso una azione di filtro.

Informazione al pubblico

Limiti del monitoraggio:

- ✓ Elevata variabilità spaziale e temporale, improvvisi cambi di densità ed estensione dell'area interessata da fioriture
- ✓ Rappresentatività dei siti di campionamento
- ✓ tempi lunghi per i risultati analitici
- ✓ L'informazione al pubblico per proteggere la salute da esposizioni pericolose associate ad alghe o cianobatteri è uno strumento essenziale

Informazione al pubblico

Ostreopsis cf. ovata è un'alga microscopica unicellulare presente in Italia in molte acque costiere con fondali a prevalente natura rocciosa.

Quando cresce

- condizioni meteo-marine stabili (alta pressione atmosferica);
- moto ondoso ridotto (presenza di scogliere naturali o artificiali);
- temperatura dell'acqua relativamente elevata.

Come la riconosco

- pellicola brunastra dall'aspetto membranoso e gelatinoso sugli scogli e su tutto ciò che si trova sul fondo;
- presenza di aggregati brunastri (fiocchi e/o filamenti) di consistenza gelatinosa in sospensione; in superficie tali aggregati possono talvolta presentarsi sotto forma di schiume di color bruno-rossiccio;
- talvolta opalescenza dell'acqua.

Cosa può provocare

Disturbi respiratori e irritazioni oculari e cutanee sia per esposizione ad aerosol (in condizioni di forte vento dal mare o di moto ondoso forte) contenente l'alga o suoi frammenti, che per contatto diretto durante il bagno.

Devo andare all'ospedale?

Nei casi verificatesi, gli effetti riportati non sono stati mai gravi e sono scomparsi per lo più entro poche ore.

Per informazioni

rivolgersi anegli orari e consultare anche le pagine.....

Poiché la collaborazione di tutti è preziosa per il più completo e tempestivo intervento, si chiede a chi, frequentando aree di balneazione, manifesti i sintomi sopra descritti di segnalarli al Tel. (o SMS) n. e-mail

Il Sindaco

.....

Data gaps

- **Dati sperimentali scarsi e limitati alla via orale (un solo studio per dosi ripetute, più rappresentative della esposizione orale) per PLTX e non per OVTX**
- **Assenza di dati quantitativi di relazione tra esposizione reale ed effetti**