

**Giornata di studio e confronto:  
Fioriture algali di *Ostreopsis ovata* lungo le  
coste italiane**

***Ostreopsis ovata* in Liguria:  
aspetti ambientali e sanitari**

***Dott. Claudio Grillo***

**APAT – 2 aprile 2007**

# Prime osservazione in Liguria

---

- **Fine anni 90**

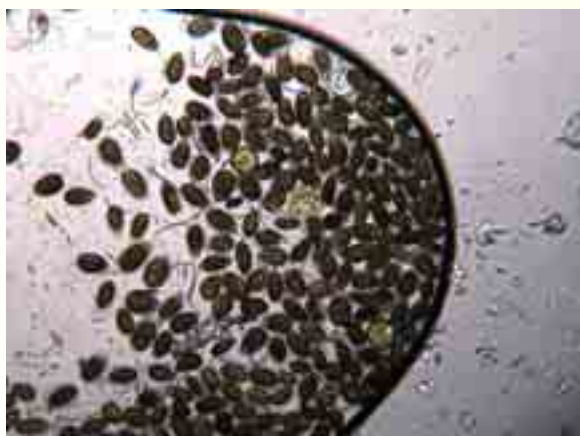
segnalazioni di sofferenza ambientale nel levante spezzino

- **Agosto 2000**

riscontro oggettivo dei fenomeni in due limitati tratti costieri (segnalazioni simili in Toscana):

- aggregati tipo “foaming” di colore marroncino in superficie; dimensioni variabili da pochi centimetri ad alcuni metri quadrati
- pellicola membranacea dello stesso colore avvolgente gran parte del substrato e dispersa in colonna d’acqua
- segni di sofferenza in numerosi organismi appartenenti a diverse cenosi animali: sessili (cirripedi, bivalvi, gasteropodi) e mobili (echinodermi, cefalopodi, piccoli pesci)
- aggregazioni superficiali formate da residui vegetali, frammenti di macrofita, strutture cirriformi appartenenti a crostacei Cirripedi, zooplancton e fitoplancton costituito prevalentemente da un dinoflagellato identificato inizialmente come *Ostreopsis sp.*
- “biofilm” epifitico costituito prevalentemente da *Ostreopsis sp.* e da diatomee (tipica l’associazione con *Coscinodiscus sp.*)

# Descrizione del fenomeno



# Prime osservazione in Liguria

---

- **Caratteristiche geomorfologiche :**

- Primo sito: substrato duro, ciottoloso, ai piedi di una falesia
- Secondo sito: substrato fango-sabbioso a costa bassa in prossimità dell'estuario di un fiume,

- **Elementi comuni :**

- scarso idrodinamismo dovuto nel primo caso alla morfologia naturale della costa (baia chiusa), e, nel secondo, alla presenza di una serie di pennelli e barriere artificiali per il contenimento dell'erosione delle spiagge
- bassa profondità dell'acqua
- condizioni meteo-marine di grande stabilità: moto ondoso estremamente ridotto, elevato irraggiamento solare
- surriscaldamento delle acque con punte di 25-26°C e assenza di termoclino

# Prime osservazione in Liguria

- Le verifiche effettuate hanno permesso di rilevare la presenza della microalga nel periodo aprile-novembre lungo tutta la fascia costiera ligure già dal 2001
- Sono stati segnalati alcuni episodi di malesseri sanitari: in particolare nell'estate del 2001 diversi bagnanti alcuni dei quali solo transitori sul lungomare, hanno accusato irritazione delle alte vie respiratorie, congiuntivite e febbre
- In quella circostanza, le condizioni meteo marine erano caratterizzate da forte vento da sud-est con intenso moto ondoso che ha portato in superficie e sulla spiaggia frammenti di macrofita e del biofilm staccatosi dal substrato e costituito dalla aggregazione di migliaia di cellule di *Ostreopsis sp.*
- L'episodio fu archiviato come una sindrome simil-influenzale di origine virale





# Identificazione *Ostreopsis ovata*

- Analisi al SEM (ARPAL Genova)

- Identificazione tramite analisi PCR di *Ostreopsis ovata* da fioriture fitoplanctoniche e (A. Penna - Centro di Biologia Ambientale dell'Uni

- Isolamento e allestimento di colture algali (ARPAL La Spezia)

- Analisi tassonomica (Istituto Talassografico CNR Messina)

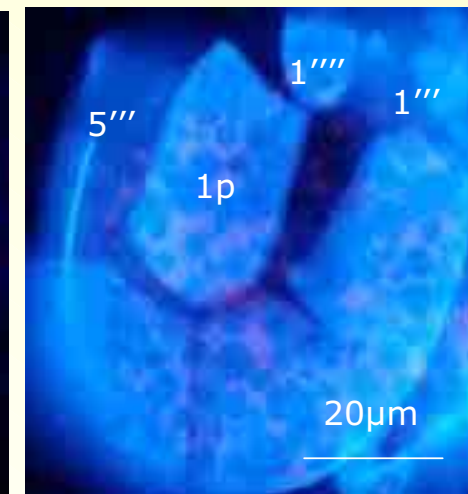
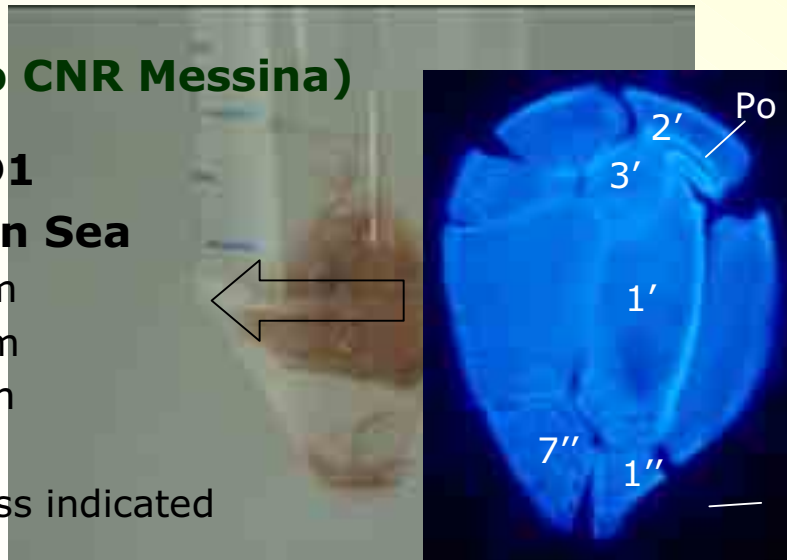
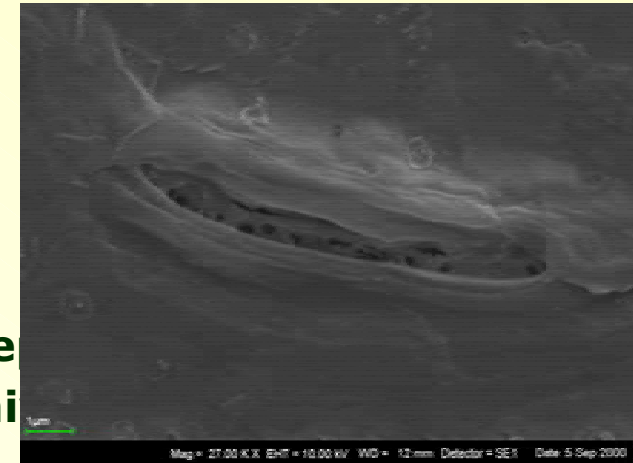
**Clone CNR D1  
from the Ligurian Sea**

W = 45-57  $\mu\text{m}$

DV = 55-65  $\mu\text{m}$

Po = 10-13  $\mu\text{m}$

Scale bars= 10  $\mu\text{m}$ , unless indicated



# Anni 2001 - 2004

---

- **agosto 2001**

segnalazione del fenomeno agli organi competenti (Ministeri, Regione, Comuni...)

- **gennaio 2002**

riunione Centro Ricerche Marine Cesenatico: ARPAL, ARPAT, ICRAM, Lab.Biologia Marina Provinciale di BARI ,Centro Ricerche Marine Cesenatico

- **marzo 2002**

riunione c/o Ministero Ambiente – Servizio Difesa Mare

- **aprile 2002**

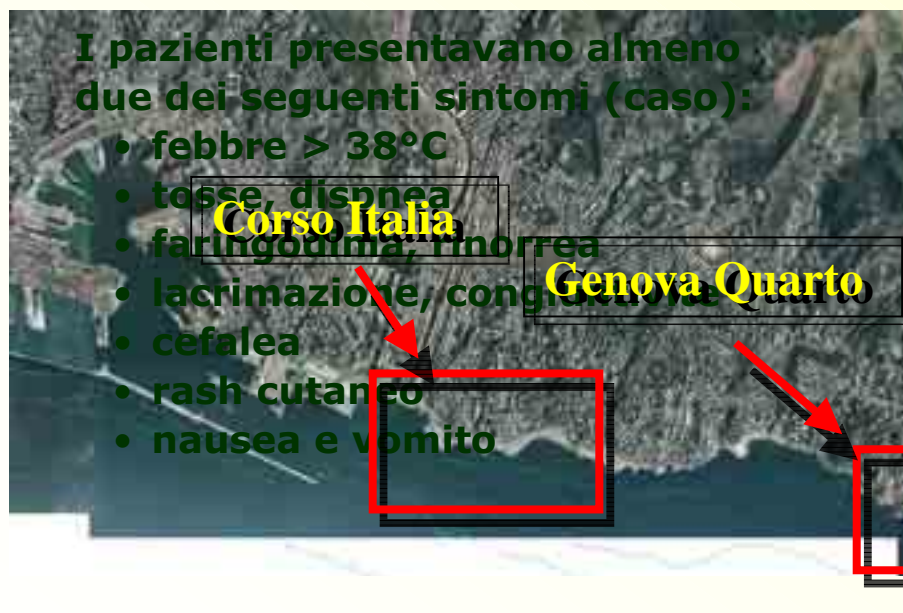
contatto con Istituto di Igiene Ambientale dell'ISS (per microbiologia)

- **negli anni successivi, 2002, 2003 e 2004**

non sono pervenute segnalazioni di fenomeni di sofferenza ambientale; in aumento le richieste di intervento per la presenza di “schiume” e materiali in sospensione. Non sempre tali segnalazioni, dopo le opportune indagini, sono risultate tuttavia ascrivibili ad alcuna proliferazione algale

# Genova, 17-18 luglio 2005

- Numerosi ricoveri contemporanei negli ospedali cittadini



...e frequentavano alcuni siti ben definiti su un tratto di circa 7 km del litorale genovese (con e senza contatto con acqua di mare):

- zona Genova Corso Italia
- zona Genova Quarto
- zona Genova Quinto

Genova Quinto

- Attivazione in pronta disponibilità del Team ARPAL da parte del 118 nella notte tra il 16 e il 17 luglio

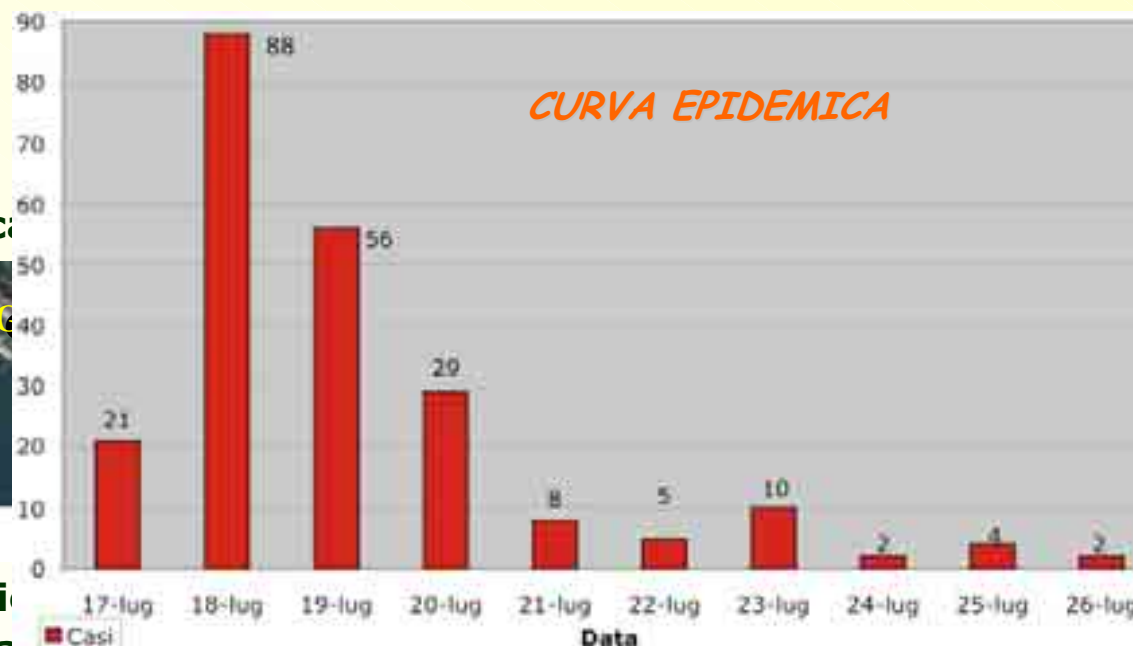
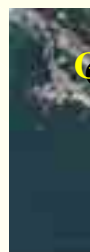


# L'evento sanitario

Dal rapporto dell'Osservatorio Epidemiologico e U.O. Igiene e Sanità Pubblica - ASL 3 Genovese sui pazienti che rispondevano alla definizione di caso, totale 225 casi assistiti:

- **131** presso l'ospedale San Martino,
- **65** presso l'ospedale Galliera,
- **29** presso l'ospedale Gaslini.

La distribuzione geografica dei casi



Fonte: G. Icardi

Caratteristiche e condizioni ambientali

- morfologia costiera frastagliata, alta, rocciosa, con piccole insenature che racchiudono spiagge a granulometria grossolana,
- condizioni meteo di stabilità con pressione atmosferica su valori medi nel periodo precedente l'evento e mare calmo o poco mosso, con temperature delle acque intorno ai 25 °C,
- debole vento di scirocco e mare mosso al momento dei primi prelievi.

# La risposta: azione integrata ASL, ARPAL, IZS

---

**ASL** – ha proceduto alle valutazioni epidemiologiche ed ai provvedimenti di sanità pubblica, che hanno portato alla interdizione temporanea della balneazione nei siti interessati.

**ARPAL** – ha proceduto a determinazioni analitiche atte a valutare e riconoscere il fenomeno e successivamente al monitoraggio dello stesso.

**IZS** – ha condotto, nei giorni successivi l'emergenza, determinazioni analitiche sui mitili stanziali e sul pescato.

# La risposta: gli interventi di ARPAL

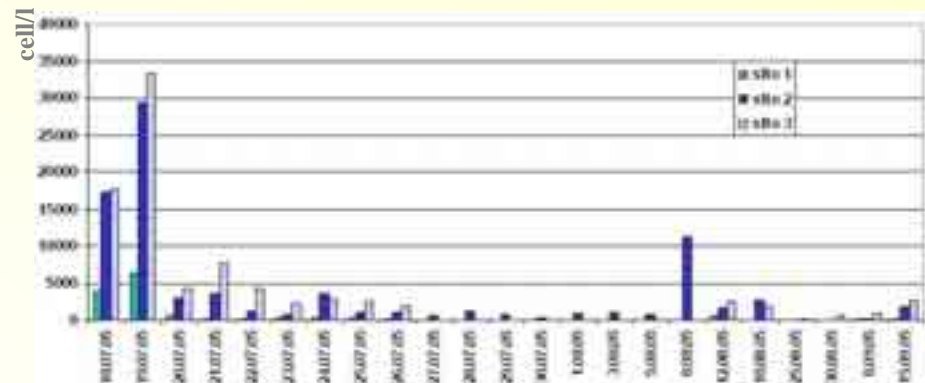
**Monitoraggio:** sopralluoghi giornalieri su tre siti del litorale con determinazione di *Ostreopsis* e di altro fitoplancton potenzialmente tossico, nutrienti, parametri fisico-chimici e batteriologici. Allestimento di colture algali.

**Collaborazione con Centri di ricerca per esami specialistici:**

- Centro Ricerche Marine di Cesenatico
- Centro di Biologia Ambientale dell'Università degli Studi di Urbino
- Dip. di Chimica delle Sostanze Naturali della Facoltà di Farmacia Università di Napoli
- Ricercatori ISS

**Risultati:**

- concentrazioni massime: 33.000 cell/l in colonna d'acqua; dalle 182.000 nei giorni immediatamente successivi all'evento alle 48.000 cell/gr di macroalga (peso umido) a fine monitoraggio
- contestualmente è stata rilevata, in concentrazioni nettamente inferiori, la presenza di altre microalghe potenzialmente tossiche (*Coolia monotis*, *Prorocentrum lima*)
- tipica l'associazione tra *Ostreopsis* e *Coscinodiscus* sp.



# La causa

---

## Dalle determinazioni condotte nella fase di emergenza...

- breve periodo intercorrente tra l'esposizione in spiaggia e l'esordio del quadro clinico,
- saggi biotossicologici negativi (assenza di inquinamento di tipo chimico),
- dosaggi dei nutrienti nella norma,
- analisi batteriologiche entro i limiti fissati per la balneazione,
- forte associazione tra la presenza massiccia di *Ostreopsis spp.* riscontrata da ARPAL e i fenomeni ambientali e sanitari,
- identità sintomatologiche con casi pregressi di intossicazione da presenza di *Ostreopsis sp.*
- identità genetica tra il ceppo isolato a Genova (luglio 2005) ed uno proveniente da La Spezia (CNR D1 - estate 2001) confermato come *O. ovata* che in vitro ha mostrato attività emolitica e produzione di palitossina (2005 A. Penna, M. Vila, S. Fraga, M.G. Giacobbe, F. Andreoni, P. Riobò, C. Vernesi),
- riscontro di palitossina in un campione ambientale prelevato a Genova (il 17 luglio 2005) determinato in LC-MS, ( E. Fattorusso, Dell'Aversano et al.),

...viene identificata una fonte comune di epidemia e quindi l'esistenza di un'esposizione puntiforme da ***Ostreopsis ovata***

- **veicolo di trasmissione = aerosol marino**
- **le vie di penetrazione = apparato respiratorio**

# Azione e comunicazione

---

- **Settembre 2005:** Regione Liguria e ARPAL presentano al Ministero della Salute una proposta di studio sul fenomeno delle fioriture di alghe tossiche connesse ai problemi sanitari.
- **Dicembre 2005:** seminario Scientifico Internazionale dedicato al tema Ostreopsis.
- **Marzo 2006:** predisposizione di materiale informativo e divulgativo in materia di alghe tossiche.
- **da Luglio 2006:** integrazione del monitoraggio marino costiero (D.Lgs 152/99, D.P.R. 470/82, L. 979/82) con un monitoraggio specifico dedicato al fenomeno delle fioriture di alghe tossiche e agli aspetti sanitari correlati.





# Genova 2005: workshop *Ostreopsis ovata*

---

Dicembre 2005  
giornata di studio

**"Ostreopsis: un problema per il Mediterraneo?"**



**Roberto Poletti**

Direttore del Centro Ricerche  
Marine di Cesenatico

**Ernesto Fattorusso**

Preside della Facoltà di Farmacia  
dell'Università di Napoli Federico II

**Takeshi Yasumoto**

esperto internazionale di  
biotossine marine

**...e con il contributo di:**

**Istituto Zooprofilattico Sperimentale, Istituto Superiore di Sanità, Università di Genova, Urbino, Bari e Napoli, ASL e ARPA**

**e numerosi studiosi provenienti da altri stati europei che si affacciano sul Mediterraneo:**

**Francia - Spagna - Grecia**



# Casi internazionali: Mediterraneo

## Spagna, analogie con Genova

Masó M., Institut de Ciències del Mar (CSIC) Barcelona

Nell'estate del 2004 nel villaggio di Lllavaneres lungo la costa Catalana si verificano casi di malessere fra i bagnanti.

Circa **200 persone** accusano difficoltà respiratorie.

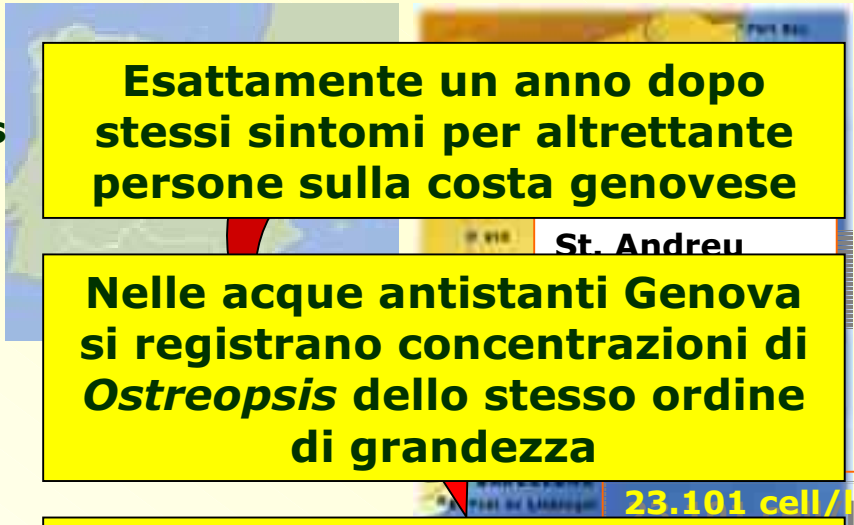
Si registrano alte concentrazioni di *Ostreopsis* nella colonna d'acqua ( **$10^4$  cell/l**).

Caratteristiche meteo-morfologiche:

- persistenza di **forte vento da mare**,
- presenza di **alti palazzi** a ridosso del litorale.

I sintomi hanno una **durata di circa 45 ore**, dopo una **incubazione di 3 ore**.

L'evento si protrae per circa **10 giorni**.



Esattamente un anno dopo  
stessi sintomi per altrettante  
persone sulla costa genovese

Nelle acque antistanti Genova  
si registrano concentrazioni di  
*Ostreopsis* dello stesso ordine  
di grandezza

Stesse condizioni meteomarine  
e presenza di barriere  
architettoniche lungo la costa

Il quadro sintomatologico è  
analogo anche per i bagnanti  
genovesi intossicati

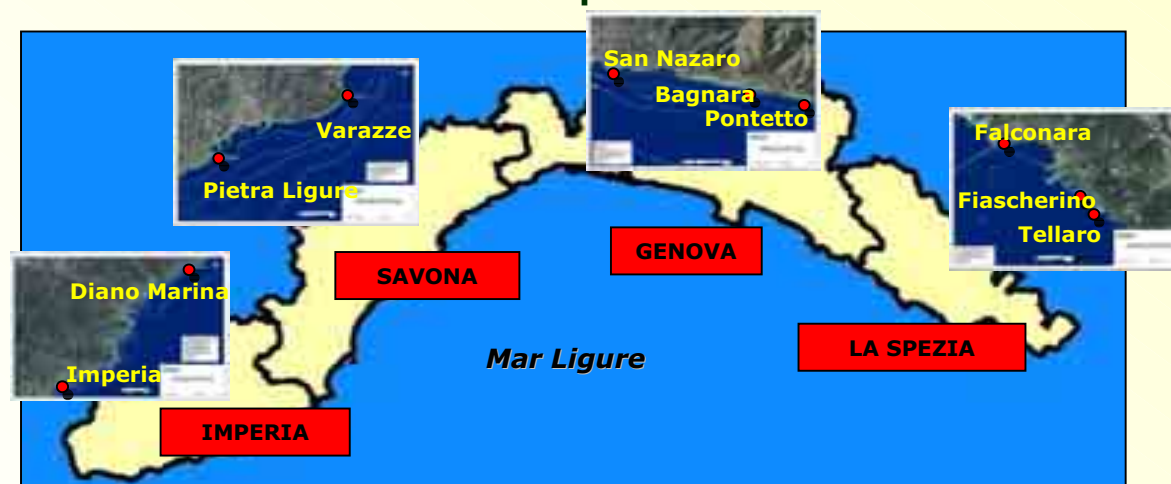
# Azione: sorveglianza, collaborazioni

---

- **ARPAL:**  
promozione e coordinamento, campionamenti in mare, analisi quali-qualitative dei campioni.
- **ASSLL** competenti per territorio:  
segnalazione dei casi di interesse sanitario ricollegabili all'esposizione ad aerosol marino.
- **Capitanerie di Porto di Genova e La Spezia – Guardia Costiera:**  
partner operativo per le sue competenze in materia di difesa e protezione dell'ambiente marino.
- **Centro Carabinieri Subacquei di Genova Voltri:**  
aspetti operativi del monitoraggio marino con operazioni di campionamento in mare.
- **Dip. di Chimica delle Sostanze Naturali, Facoltà di Farmacia (Uni. Federico II Napoli):**  
ricerca di palitossina e omologhi.
- **Centro di Biologia Ambientale (Università di Urbino):**  
identificazione per analisi di PCR di *Ostreopsis ovata* da fioriture fitoplanctoniche epifitiche miste
- **Istituto Zooprofilattico Sperimentale Liguria Piemonte e Val d'Aosta:**  
ricerca delle biotossine algali su organismi marini (echinodermi e molluschi bivalvi).
- **Osservatorio Ligure Pesca e Ambiente:**  
posizionamento di stazioni di osservazione costituite da pannelli in cemento sea friendly.

# Azione: sorveglianza, modalità attuative

- 10 siti di campionamento: 3 nella provincia di Genova (di cui uno di confronto),  
3 nella provincia di La Spezia,  
2 nella provincia di Imperia,  
2 nella provincia di Savona.



- Le attività in mare sono iniziate il 12 luglio 2006 e si sono concluse il 2 ottobre 2006.
- In ciascun sito si sono effettuati:
  - sopralluoghi in mare con riconoscimento visivo dei segnali che possono preludere alla fioritura algale,
  - prelievi di campioni d'acqua e macroalghie con determinazione quali-quantitativa di *Ostreopsis ovata*,
  - prelievi di organismi bentonici quali echinodermi e mitili per ricerca di biotossine algali.
- Le stazioni di monitoraggio sono state visitate con cadenza bimensile.

# Azione: sorveglianza, attività realizzate



- **23 stazioni** monitorate nel periodo luglio-settembre
- **227** campioni di acqua di mare
- **106** campioni di macroalghe prelevati ed analizzati per la determinazione qualitativa di *O. ovata*,
- **46** campioni di organismi marini bentonici (echinodermi e mitili) per ricerca biotossine.

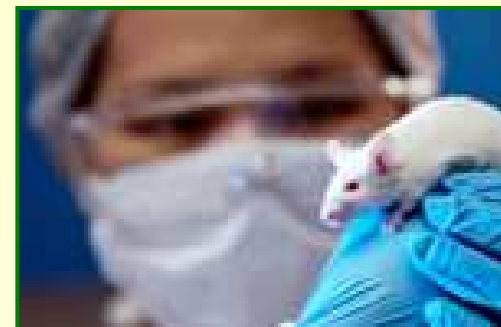


# IZS - sede di Genova

**TEST DI TOSSICITÀ** → prove biologiche su topo per la determinazione delle biotossine algali

**METODO** → metodica ufficiale prevista dalla vigente legislazione (D. M. della Salute 16/05/2002, "Tenori massimi e metodiche di analisi delle biotossine algali nei molluschi bivalvi vivi, echinodermi, tunicati e gasteropodi marini")

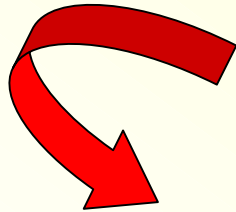
**CAMPIONAMENTO** → predisposizione di un protocollo di campionamento destinato ai Carabinieri Subacquei per il prelievo di echinodermi e mitili



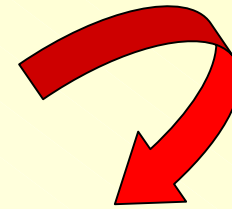
# Emergenza estate 2006 - Genova

---

Grazie alla sorveglianza specifica, a fine luglio si rileva una nuova fioritura nelle sue fasi iniziali:



**aumento rapido nei  
conteggi algali a Genova  
(Quarto, Quinto, Nervi)**



**segnalazione di alcuni casi  
di malore**



**PIANO DI  
EMERGENZA**

# Piano di emergenza

---

- **Intensificazione dei controlli nei siti a rischio**
- **Sopralluoghi e prelievi giornalieri**
- **Convocazione di un tavolo tecnico in Regione per la valutazione del rischio in considerazione di vari fattori:**
  - ✓ **condizioni meteorologiche,**
  - ✓ **numero e frequenza segnalazioni casi,**
  - ✓ **trend della concentrazione algale,**
  - ✓ **presenza di biotossine,**
  - ✓ **test di tossicità animale.**

# Provvedimenti

---

**Divieto di balneazione su un tratto di costa di circa 5 km  
per 7 gg complessivi (29 luglio – 4 agosto)**

**Risultato:  
Limitazione del numero di casi di malore segnalato  
( < 20 )**



# Emergenza estate 2006 – La Spezia



21 agosto:  
pervengono al 118 numerose segnalazioni di disturbi e malesseri di lieve entità da parte di bagnanti in varie aree costiere del Comune di Lerici

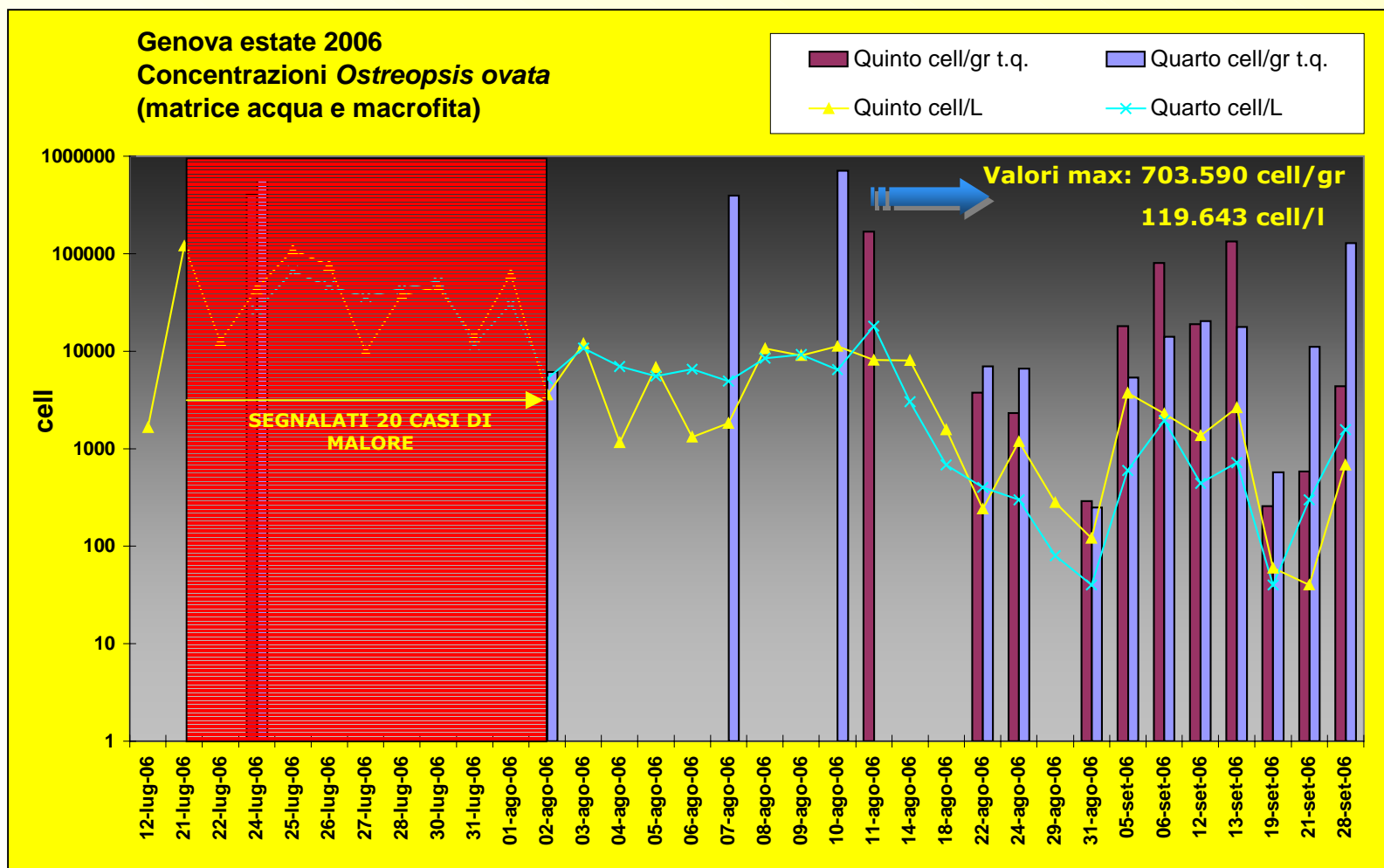
La ASL supportata dagli Enti tecnici di controllo competenti, per riti  
bilare  
ssibili

**Intensificazione del monitoraggio: cadenza giornaliera**  
**Conferma del trend in aumento delle concentrazioni di *O. ovata***

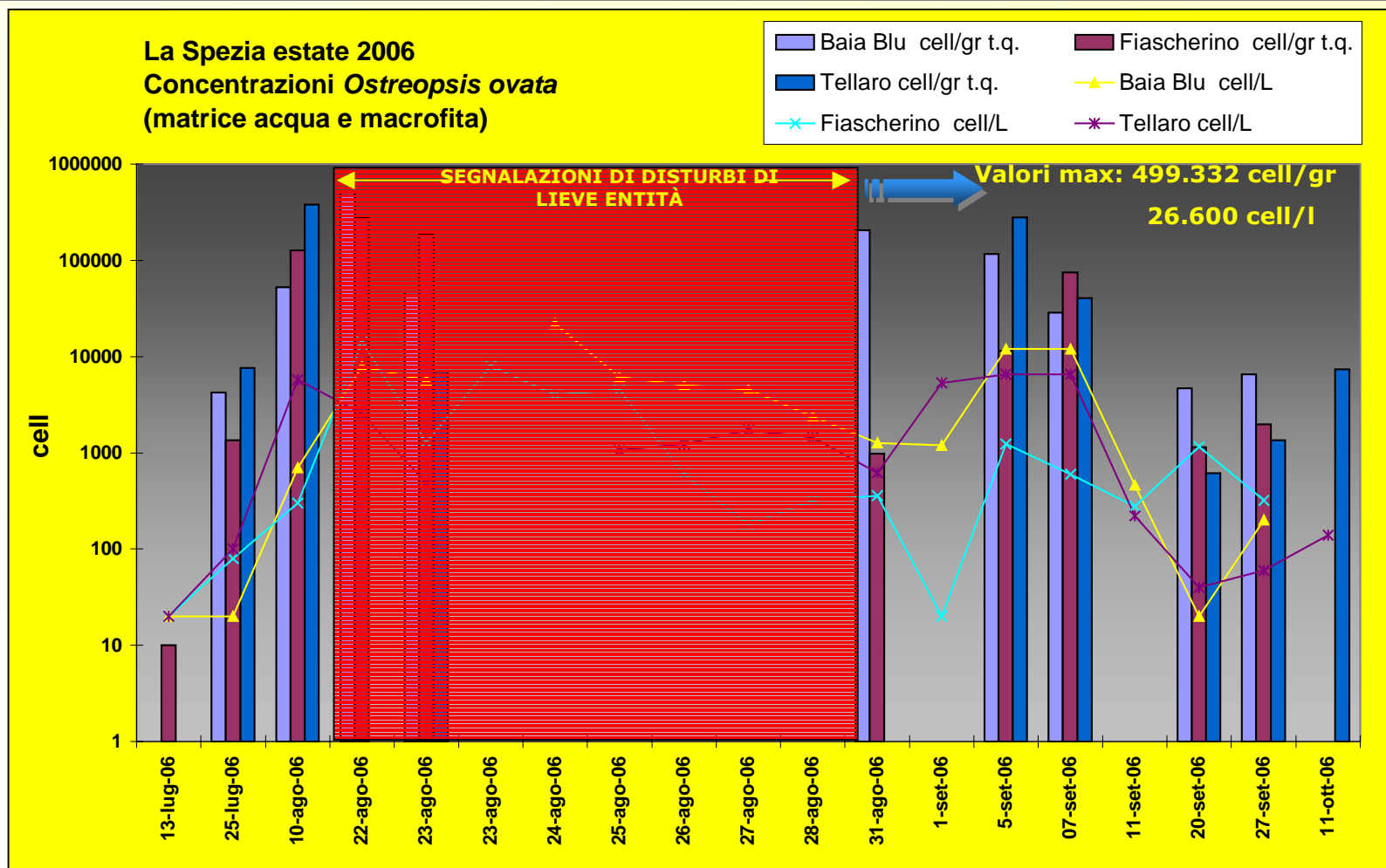
**AFFISSIONE DI COMUNICATI IN CORRISPONDENZA DI TUTTI GLI ACCESSI ALLE SPIAGGE SIA PUBBLICHE CHE PRIVATE E COMUNICATI STAMPA GIORNALIERI.**



# Genova 2006



# La Spezia 2006

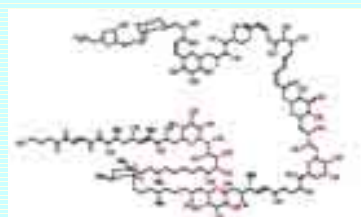


# Università di Napoli ed Urbino



L'équipe del Professore E. Fattorusso, del Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali, Facoltà di Farmacia dell'Università Federico II Napoli ha isolato omologhi della PALITOSSINA da:

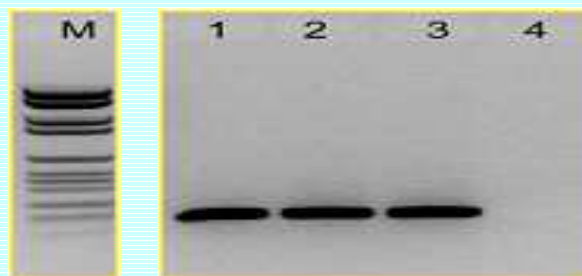
Pellet algali di campioni prelevati a Genova



Culture cellulari in vitro

fenomeno ligure del 2005 e 2006 collegato alla presenza di alte concentrazioni di *O. ovata* in mare, e più precisamente alla sua capacità di produrre tossine del gruppo delle PALITOSSINE.

Identificazione per analisi di PCR di *Ostreopsis ovata* da fioriture fitoplanctoniche epifitiche miste a cura della Dott.ssa A. Penna, del Centro di Biologia Ambientale dell'Università di Urbino.



- M) Marker 6;  
1) Genova 08/08/05 1A 1/10;  
2) Genova 08/08/05 2A 1/10;  
3) Controllo positivo DNA genomico *Ostreopsis ovata* CNR-D1 (La Spezia)  
4) Controllo negativo

# Conclusioni e proposte

---

**Studio** del ruolo di alcuni elementi come fattori regolatori del fenomeno:

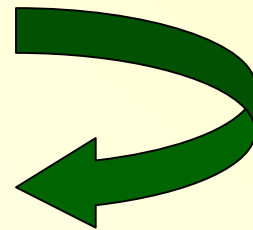
- pressione atmosferica
- temperatura
- moto ondoso
- direzione del vento
- ruolo dell'aerosol marino come possibile vettore

**Di cosa?**

- biotossine?
- frammenti di molecola?
- frammenti di alga?

**Possibili concause:**

- flora batterica contaminante
- associazione con altro fitoplancton potenzialmente tossico e/o macroalghe
- fattori antropici



# Conclusioni e proposte

---

- **Predisposizione di linee guida con protocolli tecnici comuni**
- **Formazione del personale**
- **Rete di sorveglianza epidemiologica con l'utilizzo di schede standard**
- **Sistema di pre-allerta con attivazione di un tavolo tecnico predefinito**
- **Messa a punto di una strategia di comunicazione con il pubblico e con la stampa**
- **Sistema informatico per la raccolta e l'elaborazione di dati ambientali e sanitari**
- **Razionalizzazione delle risorse e delle attività**
- ...



***GRAZIE  
PER L'ATTENZIONE***

---

