



Fase di routine

✓ sorveglianza svolta durante la stagione balneare nei punti previsti per le attività di monitoraggio base necessaria anche per l'eventuale gestione delle fasi di allerta ed emergenza

individuazione
aree a rischio

monitoraggio

predisposizione
sorveglianza
sindromica

predisposizione
comunicazione
del rischio

individuazione aree a rischio

- ✓ molti tratti del litorale costiero nazionale
- ✓ piccole insenature circondate da barriere rocciose
- ✓ specchi di acqua all'interno di frangiflutti artificiali
- ✓ presenza macroalghe
- ✓ ricambio acqua limitato
- ✓ temperature elevate
- ✓ luglio o agosto



Monitoraggio

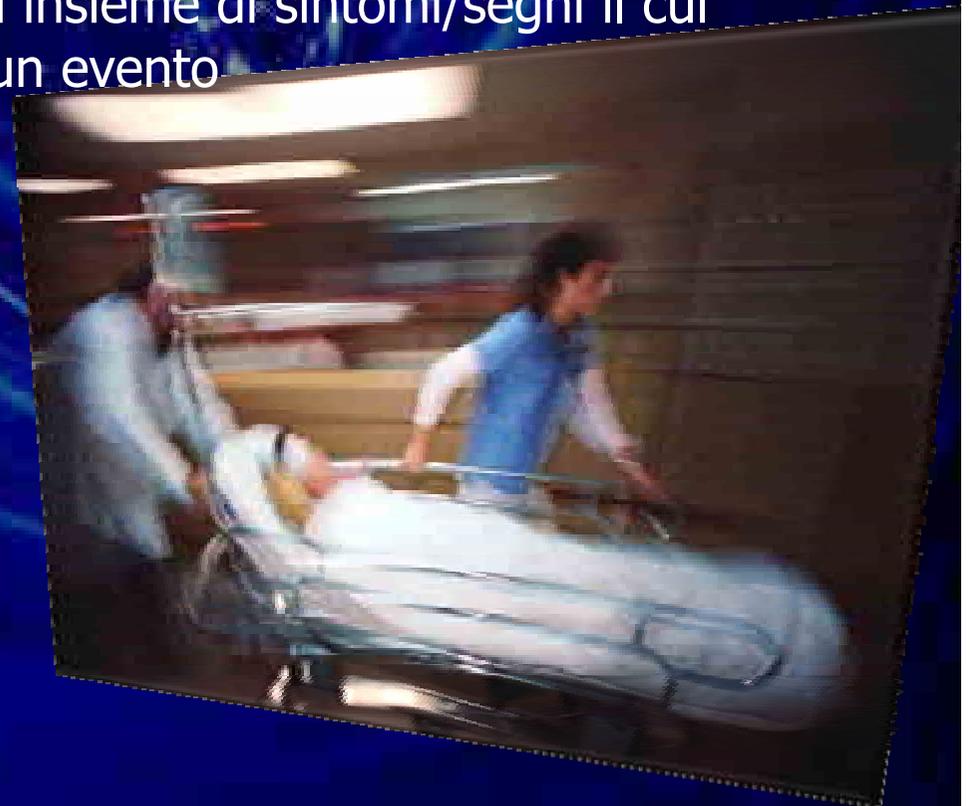
linee guida per la sorveglianza di *O. Ovata* in Italia



- ✓ descrizione sito di prelievo: profilo geomorfologico, condizioni idrodinamiche, macroalghe, condizioni meteorologiche, direzione ed intensità del vento e del moto ondoso, temperature
- ✓ prelievi nei primi metri di spiaggia sommersa, substrati rocciosi o sabbiosi e su barriere artificiali
- ✓ punti di campionamento: punti di controllo qualità acque balneazione
- ✓ parametri chimico-fisici delle acque (**macronutrienti**)
- ✓ prelievo sul fondo, in prossimità del substrato, delle macroalghe e/o altri organismi bentonici
- ✓ prelievo patina presente
- ✓ aree con profondità superiori a 1 m: retinate di fitoplancton (rete da 20 μm) lungo colonna d'acqua
- ✓ presenza schiume pigmentate rosso-marrone: campione in prossimità superficie, maggior quantità possibile di schiuma
- ✓ campioni refrigerati, conservati al buio, tempi di consegna brevi
- ✓ adozione di dispositivi di protezione individuale

Predisposizione di un piano di sorveglianza sindromica

- ✓ **sorveglianza sindromica:**
strumento di Sanità Pubblica basata non sulla diagnosi di malattia, ma su presenza di un insieme di segni e sintomi (sindrome)
- ✓ **oggetto della sorveglianza:**
sindrome, non limitata a precisa diagnosi eziologica e quadro clinico strettamente definito, ma comprensivo di insieme di sintomi/segni il cui rilevamento può definire la comparsa di un evento epidemico
- ✓ **vantaggio:**
sistemi di sorveglianza e risposta rapidi nei confronti di eventi acuti o inattesi, potenzialmente pericolosi per la salute pubblica





Predisposizione di un piano di sorveglianza sindromica

Obiettivi:

- ✓ precoce identificazione di casi potenzialmente riconducibili all'esposizione all'alga *O. ovata* e/o sua/e tossina/e
- ✓ stima incidenza sindromi irritative delle vie aeree e della mucosa congiuntivale
- ✓ acquisizione di ulteriori informazioni sulla storia naturale e sul quadro clinico riconducibile all'esposizione a *O. ovata*
- ✓ definizione popolazione a maggior rischio di quadri clinici più gravi
- ✓ creazione di una mappa delle aree a maggior rischio
- ✓ integrazione dei dati ambientali per definizione dello stato di attenzione, di allerta e di emergenza
- ✓ miglioramento coordinamento componenti coinvolte nella sorveglianza epidemiologica ambientale e in ambito umano
- ✓ attivazione delle misure preventive di Sanità Pubblica, in costante collaborazione con Regione, Comune, ASL territoriali, Ospedale

Predisposizione di un piano di comunicazione del rischio

obiettivi:

- ✓ informare correttamente *stakeholders* e popolazione interessata prima di situazioni di allerta o emergenza
- ✓ sistema di comunicazione ai cittadini che faciliti lo scambio di informazioni, con aspetti di feedback, incoraggiando anche la partecipazione nelle attività di sorveglianza (segnalazioni di presenza di fioriture, di casi clinici, spiaggiamenti di fauna ittica, ecc.)



Predisposizione di un piano di comunicazione del rischio

Alcuni target:

- ✓ operatori turistici, albergatori, commercianti, pescatori e operatori del settore (mare fonte di reddito):
 - informazioni di base di biologia marina, alghe tossiche marine e ricadute
 - lavoro svolto Autorità competenti
 - presentazione e discussione del piano operativo nei casi di emergenza
 - presentazione e verifica annuale del lavoro svolto durante i periodi critici
- ✓ cittadini, turisti e tutti coloro che utilizzano il mare a livello ricreativo
 - depliant sulla caratterizzazione del pericolo e punti di contatto
 - siti web con dati di monitoraggio del periodo balneare e azioni svolte
 - numero verde durante il periodo estivo
- ✓ istituzioni nazionali, locali, strutture tecniche di riferimento
- ✓ associazioni ambientaliste



Fase di attenzione/alerta

- ✓ situazione nella quale si ritiene elevata la probabilità di fioritura di *O. ovata*
- ✓ individuata sulla base dei risultati delle attività di routine
- ✓ progressivo aumento della densità delle popolazioni di *O. ovata*
- ✓ misurazioni o stime di incrementi delle temperature nella colonna d'acqua, valutazione situazioni meteo climatiche, scarso idrodinamismo

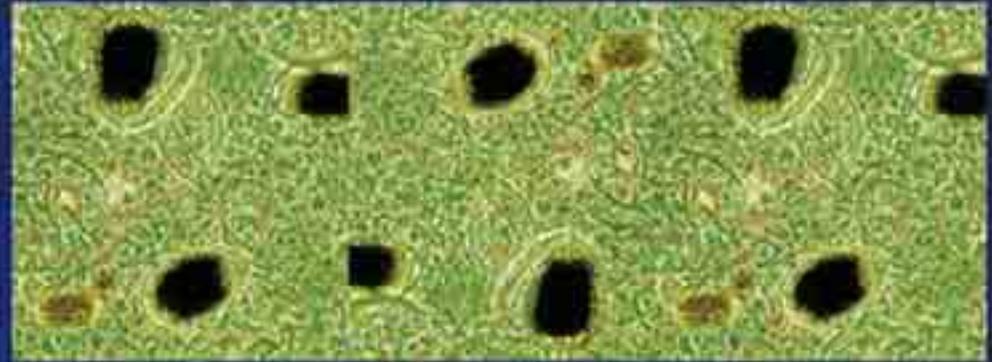
azioni:

- ✓ individuazione e caratterizzazione area costiera
- ✓ informare gli organi Regionali
- ✓ attivare istituzioni di competenza sul mare per garantire flussi informativi
- ✓ intensificare attività di monitoraggio e indagini specifiche:
 - ulteriori parametri chimico-fisici e biologici dell'acqua
 - stato dei sedimenti
 - stato di salute degli organismi acquatici
- ✓ disponibilità risultati dei test di tossicità e di caratterizzazione chimica di eventuali tossine
- ✓ verificare l'attuabilità del piano di sorveglianza sindromica



Fase di emergenza

- ✓ presente una fioritura di *O. ovata*
- ✓ iniziative e misure per il contenimento del rischio e prevenire esposizioni pericolose per la popolazione
- ✓ esperienza pregressa:
 - casi di malessere in corrispondenza di *O. ovata* a concentrazioni $\geq 10^4$ cell L⁻¹
 - aree ristrette
 - T acqua: > 22°C
 - diversi giorni di condizioni di scarso idrodinamismo in prossimità della costa
 - presenza sulla superficie dell'acqua di sospensioni di colore marroncino può essere indicatore di pellet di *O. ovata* rimosso dalle macroalghe
- ✓ particolare importanza osservazione e previsione delle condizioni meteo-marine che possono favorire la formazione di aerosol



Fase di emergenza

azioni:

- ✓ individuare, caratterizzare e circoscrivere l'area
- ✓ coordinare gli organi regionali sotto l'aspetto tecnico e scientifico
- ✓ attivare istituzioni di competenza sul mare per garantire flussi informativi
- ✓ eventuali monitoraggi straordinari
- ✓ intervento laboratori di riferimento
- ✓ corretta comunicazione del rischio
- ✓ notifica a Ministero Salute e Ministero Ambiente su emergenza e misure di gestione

alcune possibili azioni per limitare ricadute sulla salute umana:

- ✓ pulizia della battigia
- ✓ limitazione della permanenza in spiaggia soprattutto per popolazione a rischio
- ✓ limitazione raccolta/utilizzo organismi acquatici
- ✓ raccolta organismi eduli (da banco naturale) da organi competenti



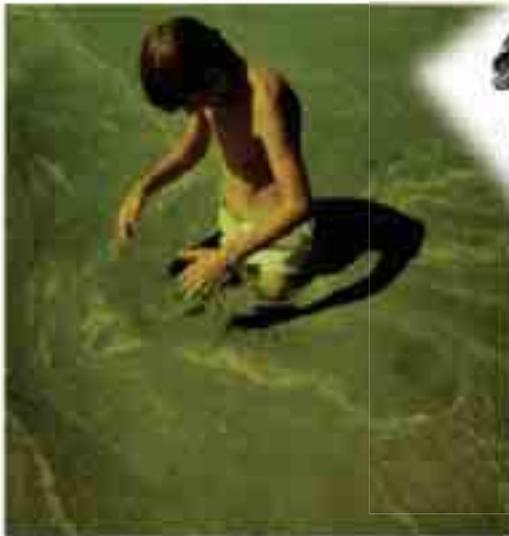
WARNING to holidaymakers - lakes in Mid Jutland!

Every summer aquatic flora of blue-green algae make an appearance in the lakes of Mid Jutland. The water becomes turbid and green with an appearance similar to vegetable soup or paint. Blue-green borders of rotting algae collect along the shore.

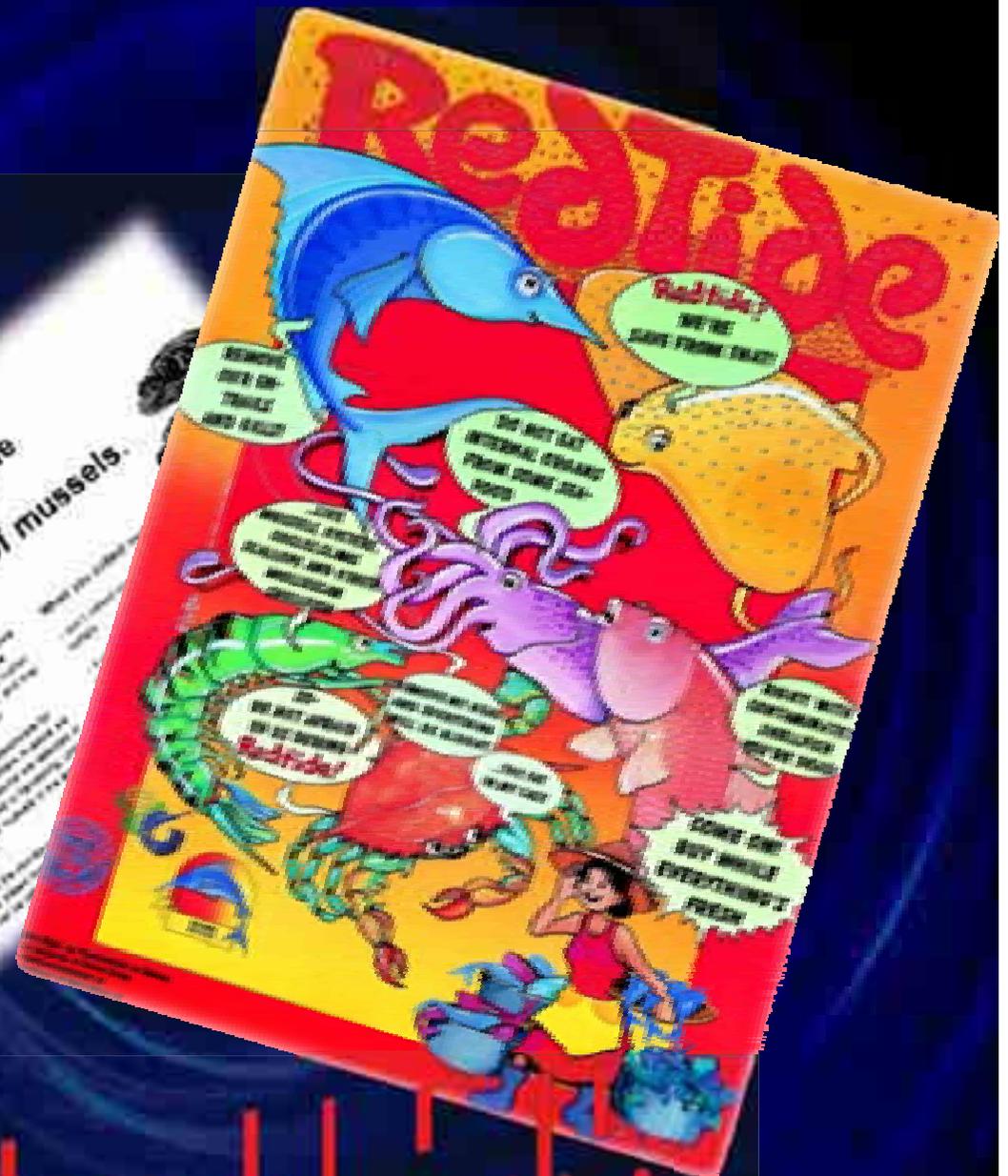
In extremely rare cases a dangerous poison may develop in connection with this algae bloom.

As it is not possible to give prior warning of this the following rules should be observed to avoid accidents:

1. Never bathe in places where the water is so cloudy that you are unable to see your feet when wading.
2. Never bathe close to areas where algae have collected on the lake.
3. Never allow small children to paddle or play in the algae which have been washed onto the shore.
4. Never allow pets to drink or dogs to bathe in lake water which is coloured green by algae.



Sometimes toxic algae appear among the algal food of mussels.



comunicazione del rischio

indicazioni operative



Campionamento e analisi di Ostreopsidaceae

1- Prelievo del campione

Acqua

- Fissare con soluzione di Lugol o formaldeide (esami microscopici)
- Conservare a $T < -20^{\circ}\text{C}$ una parte di campione tal quale (analisi chimiche)

Macroalghe

- 3 campioni (distribuiti entro 10 m) della stessa specie
- taglio alla base e raccolta in sacchetto sott'acqua
- conservazione < 48 ore: buio, temperatura ambiente
- conservazione > 48 ore: fissare il campione con formalina
- conservare a $T < -20^{\circ}\text{C}$ una parte di campione tal quale (analisi chimiche)

Altri substrati (soprattutto in mancanza di macroalghe)

- organismi bentonici (ad es. mitili) o piccole parti rocciose
- patina superficiale da substrati non asportabili
- trasferimento in laboratorio come per macroalghe



conservare una parte di campione contenente cellule vive per eventuale isolamento e coltura di Ostreopsidaceae

2- Trattamento del campione

Acqua

- ricerca e quantificazione Ostreopsidaceae secondo Utermöhl (Magaletti et al., 2001)

Macroalghe e altri substrati

- trattamento meccanico (per substrati duri) e con acqua di mare filtrata per rilascio di cellule epifitiche
- fissare con soluzione di Lugol acida o formaldeide (esami microscopici)
- sedimentazione e conteggio secondo metodica di Utermöhl.
- misure cellulari e l'analisi morfologica delle placche tecali, possibilmente in microscopia ad epifluorescenza previa colorazione con fluorocromo (Calcofluor White/Fluorescent brightener) e/o SEM

Determinazione di Peso Fresco/Umido

- asciugare la macroalga con carta da filtro e pesare
- annotare sia il volume d'acqua usato per il lavaggio della macroalga che il peso fresco dell'alga in modo da poter ricondurre il numero di cellule contate a grammo d'alga (wet weight)
- Es. densità cellulare: 50.000 cellule su un litro d'acqua utilizzato per il lavaggio dell'alga e l'alga pesa 25 g. Risultato sarà di 2.000 cellule/g alga.

Metodi per l'identificazione tassonomica di microalghe

- ✓ Avancini M., Cicero A.M., Di Girolamo I., Innamorati M., Maialetti E., Sartorio Zunini T. (eds.) **Guida al riconoscimento del plancton dei mari italiani, Vol.I-fitoplancton**, 503 pp., Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare – ICRAM, 2006. Roma
- ✓ **strutture pubbliche di ricerca e di controllo specializzate**
- ✓ **www.bentoxnet.it**
- ✓ **tecniche molecolari**
Penna A., Vila M., Fraga S., Giacobbe M.G., Andreoni F., Riobó P., Vernesi C. (2005) Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the Western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8S rDNA sequences. *Journal of Phycology* 41: 212-225



Metodi per la caratterizzazione della tossicità

Decreto Ministero Sanità 16 maggio 2002 (test chimici e biologici)

✓ Test biologici:

- aspecifici: effetti tossici dovuti alla presenza di eventuali tossine non note o non attese difficilmente identificabili con analisi chimiche
- scarsa sensibilità piuttosto bassa, riproducibilità limitata, problemi etici

✓ Metodi di identificazione alternativi, basati sulle proprietà tossicologiche delle palitossine:

▪ *test di emolisi*

- su eritrociti di topo [Bignami G.S. (1993) *Toxicon* 31(6): 817-820]
- su cellule endoteliali bovine [Schilling W.P. et al. (2007) *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 291(4): 657-667. Epub]

▪ *saggi immunologici con anticorpi monoclonali* [Bignami G.S. et al. (1992) *Toxicon*, 30(7): 687-700] [Hokama Y., (1993) *Food Addit. Contam.*, 10(1): 71-82]

▪ *saggi di alterazione morfologica sul citoscheletro con cellule da tessuti eccitabili e cellule intestinali* [Ares I.R et al. (2005), *J. Exp. Biol.*, 208: 4345-4354] [Louzao M.C et al.. (2007) *FEBS J.* in press]

✓ Metodi chimici avanzati per la caratterizzazione chimica (LC-MS-MS) in laboratori specializzati (ISS, Istituti Zooprofilattici Sperimentali, Centri di Ricerca, Istituti Universitari) [Ciminiello P. et al. (2006), *Anal. Chem.*; 78(17): 6153 – 6159]

Sorveglianza sindromica

- ✓ partecipazione allargata di una rete omogenea su territorio
- ✓ partecipazione di DEA, Ospedali di riferimento, afferenti ad centro coordinatore per analisi e elaborazione dati

- ✓ segnalazione DEA - accessi/ricoveri corrispondenti definizione di caso
CASO: presenza contemporanea di almeno 2 sintomi
 - febbre ($>38^{\circ}\text{C}$),
 - faringodinia, tosse, dispnea,
 - cefalea,
 - nausea/vomito,
 - rinorrea,
 - lacrimazione congiuntivale,
 - rash cutaneo

- ✓ SOGGETTO ESPOSTO: nelle 24 ore precedenti ha frequentato luoghi di balneazione (spiaggia, scogli, lido) o luoghi prospicienti (entro 100 metri dalla battigia)



Conclusioni e prospettive di ricerca

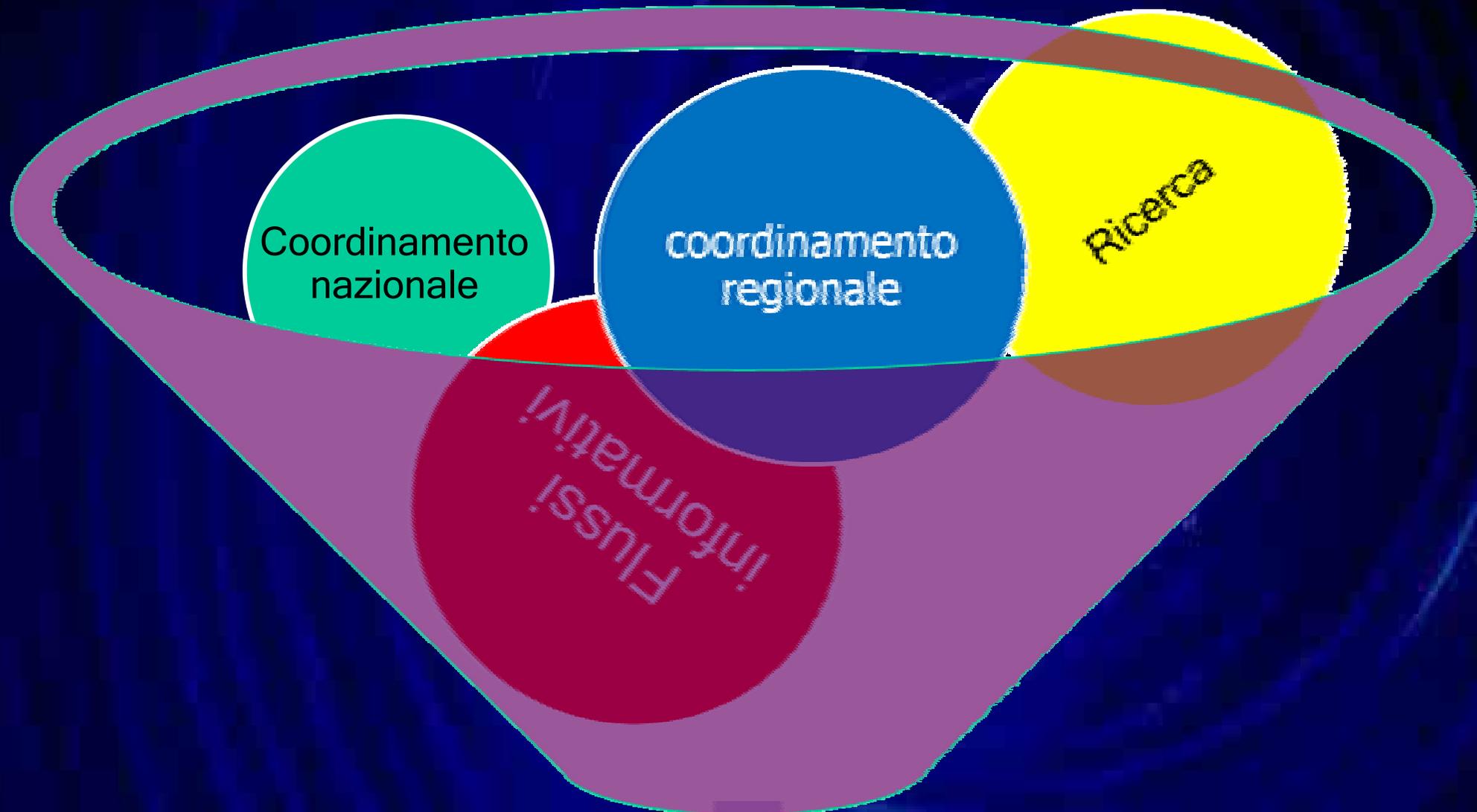


- ✓ caratterizzazione chimica delle tossine prodotte da *O. ovata*
- ✓ tossicocinetica e bioaccumulo delle tossine identificate in organismi acquatici eduli che vivono nelle aree interessate da fioriture di *O. ovata* (*altra fonte di esposizione???*)
- ✓ profilo tossicologico delle tossine prodotte da *O. ovata* e/o altri possibili organismi causali attraverso studi *in vitro* e di tipo meccanicistico
- ✓ fattori ambientali che regolano la crescita di *O. ovata* e la produzione di palitossina e/o eventuali altre tossine
- ✓ ruolo delle macroalghe e eventuali batteri simbiotici nella formazione di aerosol tossico
- ✓ ruolo della morfologia costiera e di eventuali sorgenti di nutrienti indispensabili per la crescita algale



piano nazionale di ricerche multidisciplinari

CONCLUSIONI



gestione e comunicazione del rischio