

REGIONE CAMPANIA - Giunta Regionale - Seduta del 31 dicembre 2008 - Deliberazione N. 2106 - Area Generale di Coordinamento N. 20 - Assistenza Sanitaria – **Piano di monitoraggio annuale sulla presenza di *Ostreopsis Ovata* nel litorale costiero campano - Revoca provvedimenti a tutela della salute.**

## PREMESSO

- Che le proliferazioni di microalghe in acque costiere sono note da molto tempo e sono state definite “*maree rosse*”, riferendosi alla colorazione anomala assunta dalle acque stesse, dovuta ai pigmenti delle microalghe;
- Che tale fenomeno sembra essersi intensificato negli ultimi decenni, sia nella frequenza che nella distribuzione e che tali proliferazioni sono spesso associate ad effetti dannosi sulla salute umana e sulle attività economiche, e in alcuni casi ad alterazioni ambientali e danni anche gravi all’ecosistema marino;
- Che dal punto di vista sanitario, la rilevanza del fenomeno risiede nella capacità di alcune microalghe di produrre tossine che possono accumularsi in molluschi ed in altri prodotti ittici abitualmente consumati dall’uomo;
- Che nei litorali italiani (Liguria, Lazio, Toscana, Sicilia, Puglia), nei periodi estivi degli ultimi anni (dal 2004 al 2007), si sono verificati eventi di fioriture di microalghe tossiche dovute soprattutto alla microalga bentonica *Ostreopsis ovata*;
- Che la tossina prodotta da *Ostreopsis ovata* può manifestare i suoi effetti attraverso l’inalazione o il contatto con l’acqua o l’aerosol marino, causando sintomi respiratori e dermatologici;
- Che altra forma è quella dell’intossicazione alimentare dove il vettore è rappresentato da organismi marini eduli contaminati dalla tossina, che una volta ingeriti dall’uomo causano una sindrome a sintomatologia varia e aspecifica;
- Che per poter prevenire l’impatto negativo delle fioriture di *O. ovata*, proteggere in modo efficace la salute umana e per ottimizzare il monitoraggio è infatti necessario conoscere le modalità di sviluppo delle fioriture, mettere a punto metodi e strategie di campionamento adeguate e affidabili e migliorare la capacità di interpretazione dei dati del monitoraggio.

## CONSIDERATO

- che la Stazione Zoologica “*Antonio Dohrn*” di Napoli ed il Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali dell’Università Federico II di Napoli in data 23/07/2007 segnalavano la presenza di concentrazioni particolarmente elevate di microalghe bentoniche della specie *Ostreopsis ovata*, e di quantità elevate di tossine di tipo palitossinico in campioni di organismi marini analizzati;
- che con la predetta segnalazione veniva evidenziato, altresì, che le tossine possono contaminare alimenti di origine marina e/o costituire un potenziale rischio per la salute dei bagnanti o di frequentatori delle spiagge;
- che con decreto dirigenziale n. 62 del 27 luglio 2007 dell’A.G.C. Assistenza Sanitaria veniva costituito il Gruppo di Coordinamento regionale;
- che in data 27 luglio 2007, in occasione della riunione di insediamento del predetto gruppo di coordinamento, veniva valutato favorevolmente il progetto di ricerca avente ad oggetto: “*Monitoraggio Ostreopsis Ovata litorale costiero Regione Campania*”, elaborato dall’Agenzia Regionale Protezione Ambientale della Campania (ARPAC) in collaborazione con l’Istituto Zooprofilattico del Mezzogiorno di Portici, con il Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali dell’Università Federico II e con la Stazione Zoologica “*Antonio Dohrn*” di Napoli, approvato con decreto dirigenziale n. 64 del 1 agosto;
- che l’ARPAC ha trasmesso la relazione conclusiva del progetto de quo dalla quale si evince che:
  - o lungo le coste campane, ad eccezione dei litorali sabbiosi, la microalga è diffusamente presente con concentrazione particolarmente elevate in alcuni tratti nei quali si misurano anche le maggiori concentrazioni di tossine;
  - o che le tossine si accumulano in animali utilizzati a scopo alimentare, in particolare ricci e mitili, a livelli tali da rappresentare un possibile rischio per la salute umana;

- che il predetto Gruppo di Coordinamento regionale in data 23 giugno 2008 ha valutato l'opportunità di un approfondimento del monitoraggio nelle acque costiere campane sulla diffusione della predetta microalga approvando per l'anno 2008 un nuovo progetto teso a soddisfare nuovi e più specifici interrogativi a cui rispondere sulla scorta dell'esperienza del 2007, per una maggiore tempestività e accuratezza sui rischi di tipo sanitario che le fioriture della microalga possono provocare attraverso una sorveglianza specifica del fenomeno;
- che il progetto in questione, svolto dall'ARPAC in coordinamento con la Stazione Zoologica "A.Dohrn" di Napoli, con il Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali dell'Università "Federico II" e con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale per il Mezzogiorno, è stato approvato con decreto dirigenziale n° 59 del 26/06/2008;
- che le analisi effettuate su campioni di taluni prodotti ittici (mitili e ricci di mare) prelevati in applicazione del progetto 2008, hanno evidenziato la presenza di tossina prodotta dall'ostreopsis ovata, nonché i suoi effetti tossici;
- che la Giunta Regionale, in ossequio al "*principio di precauzione*" di cui all'articolo 7 del Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, ha adottato il 1 agosto 2008 la delibera n. 1337 che prevede talune misure a tutela della salute pubblica per la gestione del rischio derivante dalla fioritura di ostreopsis ovata e dal consumo di prodotti ittici contenenti tossine prodotte dall'alga in questione;
- che nel corso della riunione del Gruppo di Coordinamento Regionale dell'8 ottobre 2008, convocato dall'A.G.C. Assistenza Sanitaria per valutare gli ulteriori esiti del progetto 2008, è stata valutata l'opportunità di predisporre un *piano di monitoraggio annuale* per contenere il rischio conseguente alla fioritura di Ostreopsis Ovata, definendo specifici protocolli per le indagini e per le idonee misure a tutela della salute;
- che gli ultimi campioni di prodotti ittici (mitili e ricci di mare) prelevati lungo le coste campane nei punti risultati a rischio, sono risultati privi di effetti tossici alle prove biologiche effettuate dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno di Portici;

#### VISTI

- le Linee Guida diramate dal Ministero della Salute nel maggio 2007 riguardanti la gestione del rischio associato alle fioriture di Ostreopsis Ovata nelle acque delle coste italiane;
- il *piano di monitoraggio annuale* elaborato dall'Agenzia Regionale Protezione Ambientale della Campania (ARPAC) sulla base dei criteri e protocolli definiti dal Gruppo di Coordinamento Regionale, allegato alla presente deliberazione e che forma parte integrante e sostanziale della stessa, il cui costo complessivo ammonta ad € 616.400,00 (euro seicentosedicimilaquattrocento/00) di cui € 270.000,00 (euro duecentosettantamila/00) per la fase d'avvio ed € 346.400,00 (euro trecentoquarantaseimilaquattrocento/00) per le attività di monitoraggio annuali;

#### RITENUTO necessario,

- prevedere la revoca, a cura dei Sindaci dei Comuni costieri, delle misure atte ad evitare la raccolta per il consumo umano di molluschi bivalvi, gasteropodi, echinodermi e crostacei selvatici nei siti rocciosi del litorale della Campania dai banchi naturali presenti entro i 100 metri dalla costa, previste dalla delibera di Giunta Regionale n. 1337/2008;
- approvare il *piano di monitoraggio annuale* per il contenimento del rischio conseguente alla fioritura di Ostreopsis Ovata unitamente al relativo piano finanziario, allegati alla presente deliberazione e che formano parte integrante e sostanziale della stessa;
- imputare la spesa di € 616.400,00 (euro seicentosedicimilaquattrocento/00) per l'avvio e per l'attuazione del *piano di monitoraggio per l'anno 2009* sulla U.P.B. 4.15.38 - Capitolo 7092 del bilancio di previsione della Regione Campania per l'anno finanziario 2008, approvato con L.R. n. 2 del 30/01/2008, che presenta per l'esercizio in corso la necessaria disponibilità in termini di competenza e di cassa;

#### PROPONE e la Giunta a voti unanimi

## DELIBERA

Per tutto quanto espresso in premessa:

- di **invitare** i Sindaci dei Comuni costieri a revocare le misure adottate in ottemperanza alla delibera di Giunta regionale n. 1337/2008 atte ad evitare la raccolta per il consumo umano di molluschi bivalvi, gasteropodi, echinodermi e crostacei selvatici nei siti rocciosi del litorale della Campania dai banchi naturali presenti entro i 100 metri dalla costa;
- di **incaricare** le AASSLL della notifica della presente provvedimento ai Comuni costieri del proprio ambito territoriale;
- di **approvare** il *piano di monitoraggio annuale* per il contenimento del rischio conseguente alla fioritura di *Ostreopsis Ovata*, unitamente al relativo piano finanziario, allegati alla presente deliberazione e che formano parte integrante e sostanziale della stessa;
- di **imputare** la spesa di € 616.400,00 (euro seicentosedicimilaquattrocento/00) per l'attuazione del *piano di monitoraggio* annuale, per il contenimento del rischio conseguente alla fioritura di *Ostreopsis Ovata*, sulla U.P.B. 4.15.38 - Capitolo 7092 del bilancio di previsione della Regione Campania per l'anno finanziario 2008, approvato con L.R. n. 2 del 30/01/2008, che presenta per l'esercizio in corso la necessaria disponibilità in termini di competenza e di cassa;
- di **inviare** il presente provvedimento all'AGC Assistenza Sanitaria – Settore Veterinario, per quanto di competenza, ed al B.U.R.C. per la pubblicazione.

Il Segretario  
*D'Elia*

Il Presidente  
*Bassolino*

# *Monitoraggio di “Ostreopsis ovata” lungo le coste della Regione Campania*

## **Introduzione**

Le proliferazioni di microalghe in acque costiere fino al raggiungimento di densità molto elevate sono note da molto tempo e sono state definite ‘maree rosse’, riferendosi alla colorazione anomala assunta dalle acque stesse, dovuta ai pigmenti delle microalghe. Tale fenomeno sembra essersi intensificato negli ultimi decenni, sia nella frequenza che nella distribuzione. Tali proliferazioni sono spesso associate ad effetti dannosi sulla salute umana e sulle attività economiche, e in alcuni casi ad alterazioni ambientali e danni anche gravi all’ecosistema marino.

Dal punto di vista sanitario, la rilevanza del fenomeno risiede nella capacità di alcune microalghe di produrre tossine che possono accumularsi in molluschi ed in altri prodotti ittici abitualmente consumati dall’uomo.

Nei litorali italiani (Liguria, Lazio, Toscana, Sicilia, Puglia), nei periodi estivi degli ultimi anni (dal 2004 al 2007), si sono verificati eventi di fioriture di microalghe tossiche dovute soprattutto alla microalga bentonica *Ostreopsis ovata*.

*Ostreopsis ovata* (Ordine Gonyaulacales, Famiglia Ostreopsidaceae), la più piccola specie del genere *Ostreopsis* (47-55  $\mu\text{m}$  x 27-35  $\mu\text{m}$ ), generalmente epifittica-bentonica, è caratterizzata da cellule fortemente appiattite lungo l’asse antero-posteriore e a forma di lacrima in vista apicale. L’epiteca e l’ipoteca hanno dimensioni simili, sono sottili e presentano numerosi pori sparsi (Fukuyo, 1981). Dal punto di vista ecologico *O. ovata* è distribuita in baie protette dell’Oceano Pacifico (Fukuyio, 1981) e nelle regioni caraibiche, ma si può ritrovare anche in zone temperate quali il mar Mediterraneo (Tognetto et al., 1995; Zingone et al 2005), soprattutto nelle aree riparate a scarso ricambio d’acqua. Gli episodi di fioriture sopra segnalati, hanno determinato l’avvio di ricerche specifiche volte ad

una migliore conoscenza della distribuzione nel tempo e nello spazio di *O. ovata*. Per poter prevenire l'impatto negativo delle fioriture di *O. ovata*, proteggere in modo efficace la salute umana e per ottimizzare il monitoraggio è infatti necessario conoscere le modalità di sviluppo delle fioriture, mettere a punto metodi e strategie di campionamento adeguate e affidabili e migliorare la capacità di interpretazione dei dati del monitoraggio.

### **Effetti osservati sulla salute umana**

Sulla base delle informazioni ad oggi raccolte, la tipologia delle intossicazioni causate da *Ostreopsis ovata* è duplice. La tossina può manifestare i suoi effetti attraverso l'inalazione o il contatto, in questo caso il vettore è l'acqua di mare o l'aerosol marino che si forma sotto l'azione del moto ondoso e viene trasportato dall'azione del vento. La tossina, al contatto con le vie respiratorie, gli occhi o la pelle causa sintomi respiratori e dermatologici (tosse, irritazione, febbre e una serie di altri sintomi).

Altra forma è quella dell'intossicazione alimentare dove il vettore è rappresentato da organismi marini eduli contaminati dalla tossina, che una volta ingeriti dall'uomo causano una sindrome a sintomatologia varia.

### **Attività di monitoraggio**

La severità delle problematiche legate alla presenza di *Ostreopsis ovata* ha portato all'emanazione di linee guida da parte del Ministero della Salute (Linee Guida Min. della Salute 24/05/2007).

Nel nostro Paese vengono svolte diverse attività di monitoraggio per il riconoscimento di specie microalgali:

- il monitoraggio messo in atto dal Ministero della Salute attraverso le Regioni, in adempimento del Regolamento CE 853/2004 nelle aree di produzione dei molluschi bivalvi;

- il monitoraggio degli organismi algali è contemplato nella Direttiva 2006/7 art 9 e art 7 messa in atto dal Decreto Legislativo n. 94 dell'11/07/2007, che all'art.1 comma 2 include l'attività sul controllo algale sulla base del DPR 470/82.
- i programmi di monitoraggio dell'ambiente marino-costiero svolti dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, in adempimento alla L.979/82, che prevedono una ricerca specifica per le microalghe bentoniche, tra cui *O. ovata*, come nuovo ed importante elemento da monitorare lungo le coste italiane a partire dal luglio 2008.

## **PIANO DI MONITORAGGIO *OSTREOPSIS OVATA***

Con decreto dirigenziale n. 62 del 27/07/2007 è stato costituito, presso l'Assessorato alla Sanità AGC Assistenza Sanitaria, il Gruppo di Coordinamento Regionale (GCR) per la gestione del rischio conseguente alla presenza di *Ostreopsis ovata*.

Il gruppo è formato da:

- Assessorato alla Sanità;
- Agenzia Regionale per la protezione ambientale Campania;
- Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II";
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno;
- Osservatorio Regionale per la Sicurezza Alimentare;
- Stazione Zoologica Anton Dorhn.

Tale Gruppo di coordinamento assolve i seguenti compiti:

- elaborazione, organizzazione, attuazione del piano di monitoraggio e di emergenza;
- miglioramento dello stato delle conoscenze sulla biologia, distribuzione e tossicità della microalga in questione e adattamento del piano a tali conoscenze;
- consulenza tecnica e supporto decisionale;
- raccordo con il Gruppo di Coordinamento Nazionale.

## Fasi del Piano

Il sistema è strutturato in tre livelli di indagine:

### **1° Livello d'indagine: Fase di routine**

Il primo livello di indagine si effettuerà nel periodo compreso tra l'inizio di giugno ed ottobre, con frequenza quindicinale, sulla matrice acqua, macroalghe e organismi marini eduli.

#### **1.1 Controlli visivi delle acque costiere sull'intero litorale campano**

Durante tutto il periodo di attività, il personale a bordo dei battelli dell'ARPAC impegnati nei controlli per la qualità delle acque di balneazione, effettuerà un controllo visivo, rilevando la presenza di schiume superficiali, opalescenza e colorazione delle acque, materiale di consistenza gelatinosa in sospensione e aggregati mucilluginosi. In presenza degli stessi, saranno effettuati prelievi da sottoporre ad analisi svolte dal Laboratorio specializzato "Progetto Mare" del Dipartimento Provinciale di Napoli dell'ARPAC.

#### **1.2 Monitoraggio delle acque superficiali di balneazione**

In 102 punti, di seguito elencati nell'[Allegato 1](#), appartenenti alla rete di monitoraggio per i controlli della qualità delle acque di balneazione ai fini del D.P.R. 470/82, saranno prelevati dall'ARPAC campioni della matrice acqua, secondo le modalità previste dallo stesso D.P.R. sopra citato. I punti di prelievo sono stati selezionati sulla base delle caratteristiche geomorfologiche della costa, sulle condizioni idrodinamiche del sito, sulla vicinanza di aree con alta frequentazione di bagnanti e sulla scorta dei risultati ottenuti in due anni di studio relativi alla distribuzione di *Ostreopsis ovata* lungo la costa regionale.

Questa attività ha lo scopo di tutelare la salute pubblica dei bagnanti, in particolare, per il rischio potenziale di esposizione ad aerosol prodotto in presenza

di alte concentrazioni nelle acque superficiali di microalghe tossiche, come già accaduto in altre Regioni italiane.

Matrice Acqua	
Piano di campionamento	Un campione a circa 30 cm dalla superficie per ogni stazione su circa 102 punti
Frequenza campionamento	Quindicinale
Parametri analizzati	Analisi di O. ovata ed altre microalghe potenzialmente tossiche
	Rilievo dei dati meteo-marini

### 1.3 Monitoraggio sulla matrice Macroalgale

I prelievi per la matrice macroalghe saranno effettuati in 32 punti, di seguito elencati nell'[Allegato 2](#), individuati sulla base delle conoscenze acquisite dalle attività svolte in due anni di studio. In tali punti, nel corso di specifiche missioni, gli operatori subacquei specializzati dell'ARPAC preleveranno campioni di macroalghe appartenenti ad un numero limitato e ben definito di specie, individuate sulla base dell'esperienza del precedente monitoraggio e definite nelle "Metodiche campionamento macroalghe" ([Allegato 4](#)).

Matrice Macroalghe	
Piano di campionamento	Nella stazione in corrispondenza di una batimetrica compresa tra 0 e 5 metri, prelevare un campione di macroalga.
Frequenza campionamento	Quindicinale
Parametri analizzati	Analisi O. ovata ed eventuali altre microalghe potenzialmente tossiche sia per il campione di acqua che di macroalga ( <a href="#">Allegato 4</a> )
	Rilievo dei dati meteo-marini
	Profili con sonda multiparametrica: O <sub>2</sub> disciolto, pH, salinità, temperatura, clorofilla "a" e torbidità

#### 1.4 Monitoraggio sulla matrice Organismi marini eduli

In sette stazioni definite nell'[Allegato 3](#), individuate sulla base delle esperienze pregresse, gli operatori subacquei specializzati dell'ARPAC preleveranno campioni di organismi marini eduli (ricci, mitili, gasteropodi, crostacei) preferendo quelli situati superficialmente, nelle modalità definite all'[Allegato 5](#); questi saranno recapitati all'IZSM di Portici per le analisi tossicologiche ([Allegato 7](#)) e successivamente, i campioni risultati positivi, saranno consegnati al Dipartimento di Chimica e delle Sostanze Naturali dell'Università di Napoli Federico II, per le analisi quali/quantitative della tossina ([Allegato 8](#)).

Matrice Organismi marini eduli	
Piano di campionamento	Nella stazione in corrispondenza di una batimetrica compresa tra 0 e 5 metri, prelevare campioni di organismi marini.
Frequenza campionamento	Quindicinale
Parametri analizzati	Test di tossicità attraverso saggi tossicologici
	Analisi quali/quantitativa della tossina accumulata in tali organismi

#### 1.5 Predisposizione di un piano di Sorveglianza sindromica

La sorveglianza sindromica è uno strumento di Sanità Pubblica, che ha recentemente trovato un sempre più diffuso impiego, basata non più sulla diagnosi di malattia, ma sulla presenza di un insieme di segni e sintomi, che costituiscono una sindrome ([Allegato 6](#)).

L'utilizzo del termine sindrome è legato all'oggetto della sorveglianza, che non può essere limitato ad una precisa diagnosi eziologica e un quadro clinico strettamente definito, ma deve comprendere un insieme di sintomi/segni, il cui rilevamento può definire la comparsa di un evento epidemico. L'istituzione di un sistema di sorveglianza sindromica *ad hoc* risulta particolarmente importante per la precoce identificazione di casi potenzialmente riconducibili

all'esposizione alla tossina dell'alga *O. ovata*, al fine di attivare prontamente le necessarie misure preventive di Sanità Pubblica, contribuendo, inoltre, alla sensibilizzazione degli operatori sanitari.

Ulteriori obiettivi di un tale sistema di sorveglianza clinico-epidemiologica sono brevemente di seguito elencati:

- stima dell'incidenza delle sindromi irritative delle alte vie aeree e della mucosa congiuntivale in presenza o assenza di esposizione ad aerosol marini;
- acquisizione di ulteriori informazioni sulla storia naturale e sul quadro clinico riconducibile all'esposizione alla tossina dell'alga *O. ovata*;
- individuazione delle caratteristiche della popolazione a maggior rischio di quadri clinici più gravi;
- integrazione dei dati ambientali per la valutazione dell'esposizione e creazione di una mappa delle aree a maggior rischio;
- integrazione dei dati ambientali per la definizione dello stato di attenzione, di allerta e di emergenza;
- miglioramento della coordinazione tra le diverse componenti coinvolte nella sorveglianza epidemiologica ambientale e in ambito umano e nella risposta rapida ad eventi epidemici legati a fenomeni di tipo microbiologico;
- attivazione delle misure preventive di Sanità Pubblica, in costante collaborazione con Comune, ASL territoriali, Ospedali.

### **1.6 Predisposizione di un piano di comunicazione del rischio**

L'Autorità competente, attraverso l'Osservatorio Regionale per la Sicurezza Alimentare (ORSA), predispone un piano di comunicazione del rischio per informare gli *stakeholders*, la popolazione interessata e gli organismi competenti sul territorio.

Tale comunicazione assume forme diverse in ragione del periodo di attività nel monitoraggio in questione: “tempo di pace” e “fase di emergenza”.

La comunicazione del rischio “*in tempo di pace*” viene effettuata attraverso una informazione preventiva, mirata alla promozione di comportamenti protettivi da adottare nella vita quotidiana ed in caso di emergenza.

La comunicazione, pertanto, verrà organizzata lungo due direttrici principali: verso l’interno e verso l’esterno.

La comunicazione interna (Servizio Sanitario), effettuata secondo mezzi consueti, ha lo scopo di diffondere informazioni utili sulle attività che vengono svolte dai gruppi di lavoro e di informare il personale circa eventuali aggiornamenti di carattere scientifico/normativo.

La comunicazione esterna ha invece l’obiettivo di rendere noti alla popolazione ed alle altre categorie coinvolte i rischi sanitari, i comportamenti atti a ridurli e l’attività che l’Istituzione svolge per tutelare la salute pubblica, con la finalità di consolidare il rapporto di fiducia con il pubblico e, nel contempo, di promuovere la propria immagine sul territorio.

Le azioni di comunicazione da sviluppare a tutti i livelli sono:

- Progettazione e realizzazione di campagne di informazione;
- Aggiornamenti del sito web dell’ORSA con sezioni dedicate al rischio sanitario legato ad *Ostreopsis ovata*;
- Progettazione e realizzazione di materiale informativo (brochure, poster, audiovisivi, slide, etc.);
- Organizzazione di eventi ed incontri con il pubblico;
- Partecipazione ad esposizioni e manifestazioni cittadine;

Sulla base di quanto esposto il piano di comunicazione del rischio connesso alla proliferazione di *Ostreopsis ovata* lungo le coste del litorale campano si articola in una fase di formazione ed informazione che si svilupperà durante l’inverno, periodo in cui non esiste un rischio imminente per la salute pubblica, ed interventi mirati in caso di emergenza.

L'attività di comunicazione sarà rivolta alle seguenti categorie:

1. operatori turistici (ad es. gestori di lidi e bagnini, albergatori, ristoratori , commercianti), pescatori, e tutti coloro che hanno dal mare una loro fonte di reddito;
2. cittadini, turisti, sportivi nautici, diving e tutti coloro che utilizzano il mare a livello ricreativo;
3. istituzioni nazionali, locali, strutture tecniche di riferimento e associazioni ambientaliste.

Per quanto riguarda coloro che ricadono nella prima e terza categoria, la comunicazione e la formazione preventiva saranno effettuate nel periodo invernale e si articoleranno nelle seguenti azioni:

- a) incontri per divulgare informazioni di base sulle alghe tossiche marine e le possibili conseguenze ad esse associate;
- b) illustrazione del lavoro svolto dalle Autorità competenti a tutela della salute umana;
- c) presentazione e discussione del piano operativo nei casi di emergenza;
- d) presentazione e verifica annuale del lavoro svolto durante i periodi critici in termini di efficienza ed efficacia.

Il coinvolgimento dei portatori d'interesse economico ha lo scopo di rendere più efficienti le attività di prevenzione ed il successo di eventuali piani di emergenza.

La comunicazione al cittadino che ha come finalità lo scambio d'informazioni, evitando tuttavia fenomeni di allarme ingiustificato e gli inevitabili effetti negativi sul mercato dei prodotti non coinvolti nel rischio da *Ostreopsis ovata*. In pratica l'utente viene opportunamente informato e formato, così da partecipare attivamente alle attività di monitoraggio (segnalazioni di presenza di fioriture, di casi clinici, spiaggiamenti di fauna ittica, ecc).

In particolare l'informazione ai cittadini, dovrebbe prevedere le seguenti azioni:

- a) realizzazione di una serie di incontri per divulgare informazioni di base sulle alghe tossiche marine e le possibili conseguenze ad esse associate da

svolgersi nelle scuole, anche in occasioni di eventi formativi che coinvolgano le famiglie;

- b) realizzazione e distribuzione di depliant sulla caratterizzazione del pericolo in occasione degli incontri suddetti;
- c) divulgazione di notizie attraverso il sito web di ORSA dove saranno raccolti i dati di monitoraggio del periodo balneare e le azioni svolte dalle Autorità competenti.

Durante la “fase di emergenza” l’attività di comunicazione sarà rivolta principalmente a:

- I. Autorità competenti sul territorio (ad es. AASSLL, Capitanerie, Comuni, forze dell’ordine, etc);
- II. operatori turistici (ad es. gestori di lidi e bagnini, albergatori, ristoratori , commercianti), pescatori, e tutti coloro che hanno dal mare una loro fonte di reddito;
- III. cittadini, turisti, sportivi, diving e tutti coloro che utilizzano il mare a livello ricreativo (pubblicazione delle ordinanze e degli avvisi nei luoghi frequentati da bagnanti e turisti).

Tutte le principali informazioni saranno inoltre disponibili attraverso una apposita sezione del sito web di ORSA e dei comuni interessati.

Scopo ultimo del piano di comunicazione del rischio sarà quello di generare uno scambio informativo atto ad aiutare il pubblico ad incanalare timori ed allarmi ingiustificati verso un’appropriata vigilanza, un apprendimento attento ed una preparazione costruttiva.

## **2° Livello d’indagine: Fase di attenzione**

Questa fase si articola diversamente se la fase di routine mette in evidenza un pericolo legato alla produzione di aerosol o un pericolo legato alla produzione di tossina e suo accumulo in talune specie ittiche.

## FASE DI ATTENZIONE “AEROSOL/ ACQUA”

Tale fase si attiva se:

- si rilevano concentrazioni  $\geq 10.000$  cell/L di *O. ovata* nei campioni di acqua superficiale (punto 1.2);
- se nel corso della sorveglianza sindromica (punto 1.5 della fase di routine) vengono segnalati casi riferibili a sindrome clinica da *O. ovata*.

Sono previste le seguenti azioni:

- ✓ l'ARPAC comunica all'Assessorato alla Sanità, AGC Assistenza Sanitaria ([allerta.alimenti@regione.campania.it](mailto:allerta.alimenti@regione.campania.it) – tel. 081/7969399 – Fax 081/7969391) e all'Osservatorio Regionale per la Sicurezza Alimentare ([orsacampania@izsmportici.it](mailto:orsacampania@izsmportici.it) – tel. 081/7865279 – Fax 081/7865333) e ai membri del gruppo di Coordinamento regionale le aree costiere oggetto dello stato di attenzione;
- ✓ l'Assessorato alla Sanità, AGC Assistenza Sanitaria, in funzione dell'estensione del fenomeno, convoca il gruppo di coordinamento per valutare, in attesa di ulteriori elementi, l'attivazione del piano di comunicazione del rischio;
- ✓ l'ARPAC intensificherà le attività di monitoraggio secondo quanto stabilito dal DPR 470/82 art. 6 effettuando il prelievo e l'analisi di cinque campioni prelevati in giorni diversi e nello stesso punto, nonché prelievi ed analisi nelle zone limitrofe per la delimitazione della eventuale zona interessata dal fenomeno, oltre ad una accurata ispezione dei luoghi; procederà inoltre ad un accurato controllo visivo della zona con idonea documentazione fotografica dello stato ambientale al fine di verificare la presenza di aggregati mucilluginosi, di eventuale sofferenza di organismi marini, della presenza di biofilm e di ogni segnale che possa indicare situazioni di rischio;

- ✓ nei punti in cui le analisi hanno determinato l'attivazione della fase di attenzione si procederà alla raccolta di campioni di macroalghe appartenenti alle specie *Asparagopsis taxiformis*, *Halopteris spp.*, *Corallina elongata*, *Jania Rubens*. per verificare la presenza/assenza di *Ostreopsis ovata*, *P. lima* e *C. monotis* e di eventuale altre microalghe potenzialmente tossiche;
- ✓ nei punti in cui le analisi hanno determinato l'attivazione della fase di attenzione si procederà al prelievo di organismi marini eduli (ricci, mitili, crostacei, altri molluschi etc..) per l'esecuzione dei test di tossicità attraverso saggi tossicologici e delle analisi quali/quantitative della tossina accumulata in tali organismi ;

## FASE DI ATTENZIONE “ALIMENTI”

Tale fase si attiva se:

- si rilevano concentrazioni  $\geq 10.000$  cell/grammo di *O. ovata* nei campioni di macroalga (punti 1.3 della fase di routine);
- se nel corso della sorveglianza sindromica (punto 1.5 della fase di routine) vengono segnalati casi riferibili ad intossicazione alimentare riferibile a ovatossina, come descritto nella letteratura internazionale;

Sono previste le seguenti azioni:

- ✓ l'ARPAC, comunicherà all'Assessorato alla Sanità, AGC, Assistenza Sanitaria, all'Osservatorio Regionale per la Sicurezza Alimentare ed ai membri del gruppo di Coordinamento le aree costiere oggetto dello stato di attenzione con le procedure già indicate per la problematica “aerosol/acqua”;
- ✓ l'Assessorato alla Sanità, AGC Assistenza Sanitaria, in funzione dell'estensione del fenomeno, convoca il gruppo di

coordinamento per valutare, in attesa di ulteriori elementi, l'attivazione del piano di comunicazione del rischio;

- ✓ l'ARPAC intensificherà i controlli sulle acque superficiali nonché del controllo visivo nelle zone interessate con idonea documentazione fotografica dello stato ambientale al fine di verificare la presenza di aggregati mucillaginosi, di eventuale sofferenza di organismi marini, della presenza di biofilm e di ogni segnale che possa indicare situazioni di rischio;
- ✓ l'ARPAC intensificherà i prelievi sugli organismi marini eduli (ricci, mitili, crostacei, altri molluschi etc..) nei punti che hanno definito la fase di attenzione, in aggiunta ai 7 punti già individuati nella fase di routine, sui quali l'IZSM effettuerà i saggi tossicologici secondo quanto stabilito nell'allegato 7 e il Dipartimento di chimica delle sostanze naturali le analisi quali/quantitativa delle tossine secondo quanto stabilito nell'allegato 8;
- ✓ le AASSLL procederanno ad intensificare la frequenza (settimanale) dei controlli sui molluschi d'allevamento secondo quanto stabilito dal Piano di Monitoraggio soltanto nei comuni interessati dalla non conformità ed i quelli limitrofi; i campioni aggiuntivi dovranno pervenire all'IZSM di Portici con la richiesta specifica della ricerca dell'*Ostreopsis ovata*.

### **3° Livello d'indagine: Fase di emergenza.**

In questa fase è necessario avviare iniziative e misure per il contenimento del rischio e per prevenire esposizioni pericolose per la popolazione.

## **FASE DI EMERGENZA “AEROSOL/ACQUA”**

La fase di emergenza si attiva:

- quando, seguendo la procedura descritta dal DPR 470/82, si riscontrino più di un campione non conforme dei cinque di acqua prelevati dopo la fase di attenzione

Sono previste le seguenti azioni:

- ✓ divieto di balneazione nelle aree interessate;
- ✓ prosecuzione dei controlli con la frequenza bimensile, come indicato nello stesso DPR, nelle acque dichiarate temporaneamente non idonee alla balneazione;
- ✓ pulizia a cura dei Comuni interessati, della battigia per impedire l'accumulo di macroalghe o altro materiale organico, evitando (o cercando di evitare) che l'azione meccanica del mare (risacca) o la decomposizione di tale materiale possa incidere negativamente sulla qualità e salubrità dell'aerosol marino;
- ✓ nei punti in cui le analisi hanno determinato l'attivazione della fase di emergenza “aerosol” si procederà al prelievo di organismi marini eduli (ricci, mitili, crostacei, altri molluschi etc..) per l'esecuzione dei test di tossicità attraverso saggi tossicologici e delle analisi quali/quantitative della tossina accumulata in tali organismi;
- ✓ Comunicazione del rischio come previsto nel paragrafo 1.6

## **FASE DI EMERGENZA “ALIMENTI”**

La fase di emergenza si attiva se:

si verifica concomitanza fra esito positivo al mouse test su organismi marini eduli e uno o più fenomeni di sotto riportati:

- ✓ presenza di *O. ovata* sui campioni di macroalga in più punti di prelievo;
- ✓ valori di tossine risultanti da analisi quali/quantitativa  $\geq 100\mu\text{g/kg}$  ;

- ✓ casi di malessere, anche solo dubbi, nella popolazione.

Nel caso di sola positività al mouse test su campioni di organismi eduli marini si attiverà immediatamente la fase di emergenza e si procederà nel tempo più breve possibile all'analisi chimica della tossina al fine di individuare se si tratta della ovatossina, palitossina o qualsiasi altra tossina responsabile di malattia alimentare.

Sono previste le seguenti azioni:

- ✓ divieto di pesca sottocosta di ricci, mitili, gasteropodi e crostacei nei comuni dove sono stati prelevati i campioni positivi;
- ✓ indagine accurata nei comuni limitrofi effettuando monitoraggi straordinari con prelievi sulle diverse matrici al fine di individuare, caratterizzare e circoscrivere l'area in stato di emergenza;
- ✓ attivazione della comunicazione del rischio prevista al punto 1.6;
- ✓ notifica al Ministero della Salute e al Ministero dell'Ambiente dell'emergenza in atto ed informativa sulle azioni poste in essere.

## **REVOCA PROVVEDIMENTI**

Tutti i provvedimenti adottati in fase di emergenza saranno revocati se in caso di fase "aerosol-acqua" i campioni d'acqua torneranno conformi e in caso di fase "alimenti" gli esiti al mouse test su organismi marini eduli risulteranno negativi e la quantità di tossina rilevata mediante metodo chimico saranno  $< 100\mu\text{g}/\text{kg}$ .

## Allegato 1

### Stazioni di campionamento – matrice acqua

Coordinate geografiche dei punti di prelievo - REGIONE CAMPANIA - Prov. NAPOLI				
Coordinate geografiche WGS84 - UTM (Longitudine da Greenwich)				
Comuni	Cod. punti	Nome punti	Long. est	Lat. nord
ANACAPRI	151	PUNTA CARENA (PUNTA FARO)	14°11'54.5"	40°32'14.5"
	152	PUNTA CAMPITIELLO (CALA DEL RIO)	14°12'05.2"	40°33'02.2"
	154	GRADOLA-GROTTA AZZURRA	14°12'14.5"	40°33'40.4"
BACOLI	017	SP.MILISCOLA-TRA LIDO VIRGILIO ED ENEA	14°04'21.0"	40°47'14.8"
	018	TRA LIDO NAZIONALE ED ESERCITO	14°05'00.4"	40°47'03.7"
	019	CAPO MISENO	14°05'24.3"	40°46'40.7"
	021	SPIAGGIA DEL POGGIO	14°05'07.4"	40°47'48.2"
	022	MARINA GRANDE-LIDO RITORNO	14°04'55.3"	40°48'09.7"
	023	SPIAGGIA DEL CASTELLO	14°04'58.0"	40°48'42.8"
	169	SPIAGGIA ESTERNA PORTO	14°05'18.5"	40°47'10.5"
BARANO D'ISCHIA	124	MONTE BARANO	13°55'54.0"	40°42'07.5"
	125	BUNGALOW	13°54'55.4"	40°41'58.6"
	146	LA FONTELLINA	14°15'03.3"	40°32'35.4"
	148	DA MARIA-INTERNAZIONALE	14°14'08.5"	40°32'42.0"
	155	PALAZZO A MARE BAGNO TIBERIO	14°13'47.5"	40°33'34.7"
	158	GROTTA MERAVIGLIOSA	14°15'41.8"	40°33'09.9"
	163	PUNTA CETEROLA	14°15'05.2"	40°33'25.5"
CASAMICCIOLA TERME	142	PIO MONTE MISERICORDIA	13°54'51.6"	40°44'59.3"
	144	BAGNITIELLO	13°55'33.0"	40°45'01.0"
CASTELLAMMARE DI STABIA	069	TRA STAB LA LIMPIDA E STAB LO SCOGLIO	14°27'36.4"	40°41'29.0"
	070	TRA STAB CONTE E STAB MODERNO	14°27'18.1"	40°41'23.3"
FORIO	133	POSEIDON	13°51'32.3"	40°42'56.6"
	137	S.FRANCESCO	13°52'05.1"	40°45'06.7"
ISCHIA	119	PUNTA MOLINO	13°57'20.0"	40°44'22.8"
	123	SAN PANCRAZIO	13°57'16.6"	40°42'29.2"
LACCO AMENO	138	S.MONTANO	13°52'34.9"	40°45'25.1"
	139	ISABELLA REGINELLA	13°53'09.8"	40°45'19.7"
MASSA LUBRENSE	091	M.DI PUOLO TRA DANIA E DISCESA LAURO	14°20'42.9"	40°37'37.4"
	092	VILLAZZANO-TRA S.MONTANO E SCOG. CUTOLO	14°20'18.8"	40°36'53.5"
	095	SPIAGGIA LIBERA PUNTA BACCOLA	14°19'18.9"	40°35'18.9"
	097	PUNTA CAMPANELLA	14°19'31.7"	40°34'09.6"
	098	BAIA DI IERANTO	14°20'25.0"	40°34'26.1"

	100	TRA AFRICANO E SCOGLIO M.DI CANTONE	14°21'21.7"	40°34'57.9"
	101	RECOMMONE	14°21'49.1"	40°35'05.8"
	102	MARINA CRAPOLLA	14°22'51.9"	40°35'34.2"
	165	CAPO CORBO	14°19'47.5"	40°36'13.7"
META	076	TRA STAB. ALIMURI E LA CONCA	14°24'27.4"	40°39'04.2"
	078	STAB. RESECONE	14°24'22.6"	40°38'44.8"
MONTE DI PROCIDA	013	MILISCOLA - TORREGAVETA	14°02'37.9"	40°48'36.9"
	014	MILISCOLA - ISOLOTTI SAN MARTINO	14°02'06.3"	40°48'00.1"
	015	MILISCOLA - SPIAGGIA ACQUAMORTA	14°02'35.6"	40°47'40.7"
NAPOLI	033	NISIDA	14°09'55.4"	40°47'37.1"
	034	TRENTAREMI	14°10'58.3"	40°47'46.2"
	035	LA GAIOLA	14°11'11.1"	40°47'28.2"
	036	MARECHIARO	14°11'27.8"	40°47'38.7"
	037	TRA GABBIANO E LIDO DELLE ROSE	14°11'41.4"	40°47'42.7"
	038	TRA ROCCE VERDI E RIVA FIORITA	14°12'27.5"	40°48'10.3"
	039	TRA GROTTA ROMANA E LIDO DEL SOLE	14°12'38.6"	40°48'52.1"
	040	TRA POSILLIPO E DONN'ANNA	14°12'58.1"	40°49'14.1"
	042	ALTEZZA CENTRO VILLA COMUNALE	14°13'57.3"	40°49'53.2"
	043	PIAZZA NAZARIO SAURO	14°15'08.9"	40°49'56.5"
PIANO DI SORRENTO	160	CASTEL DELL'OVO	14°14'49.6"	40°49'45.7"
	079	TRA TINA E ROSITA	14°24'10.1"	40°38'25.1"
	105	SCARICATOIO	14°26'32.2"	40°36'56.7"
POZZUOLI	167	TRA CALACERVA E SCARICATOIO	14°26'16.7"	40°36'45.1"
	026	LIDO AUGUSTO	14°05'52.7"	40°49'50.7"
PROCIDA	030	LIDO DEL PINO	14°09'07.4"	40°49'02.4"
	107	PUNTA DELLA LINGUA	14°02'16.2"	40°45'53.7"
	113	CAPITELLO (LATO CIRACCELLO)	13°59'50.8"	40°44'55.1"
	115	CIMITERO	14°00'29.0"	40°45'46.4"
	116	LE FRATTE (LE GROTTI)	14°01'22.0"	40°46'01.4"
SANT'AGNELLO	168	MARINA PICCOLA	14°00'30.6"	40°44'45.1"
	081	MARINA DI CASSANO-SPIAGGIA LIBERA	14°23'55.4"	40°38'17.0"
SERRARA FONTANA	164	PUNTA S. ELIA	14°24'49.4"	40°36'18.6"
	130	CAVA GRADO	13°53'26.4"	40°41'55.0"
SORRENTO	083	TRA RIVIERA MASSA E HOTEL PARCO PRINCIPI	14°23'12.6"	40°37'59.0"
	084	TRA HOTEL RIVIERA E HOTEL AMBASCIATORI	14°23'02.9"	40°37'54.8"
	085	TRA PETER BEACH E LEONELLI ANTONINO	14°22'22.7"	40°37'46.1"
	086	TRA SALVATORE E SIRENE	14°22'12.9"	40°37'41.8"
	090	BAGNI DI SOLARA	14°20'55.5"	40°37'57.9"
	103	PUNTA TASCHIERO	14°23'55.1"	40°35'45.9"
VICO EQUENSE	073	BAGNI DI SCRAIO	14°26'04.3"	40°40'23.5"
	074	POSTALI CUCCURULLO	14°25'42.2"	40°39'57.6"
CELLOLE	008	FONTANA VECCHIA	13°48'56.7"	41°10'53.3"
CASTELVOLTURNO	028	FOCE FIUME VOLTURNO	13°55'24.8"	41°01'20.8"

Coordinate geografiche dei punti di prelievo - REGIONE CAMPANIA - Prov. SALERNO				
Coordinate geografiche WGS84 - UTM (Longitudine da Greenwich)				
Comuni	Cod. punti	Nome punti	Long. Est	Lat. Nord
AGROPOLI	077	SPIAGGIA LIBERA PORTO	14° 59' 05.9"	40° 21' 06.7"
AMALFI	012	SPIAGGIA LE SIRENE	14° 35' 48.2"	40° 37' 52.6"
	014	MAR DI COBALTO (FLAVIO GIOIA)	14° 36' 16.2"	40° 38' 00.2"
BATTIPAGLIA	059	LIDO LAGO	14° 54' 11.5"	40° 33' 03.2"
CAMEROTA	128	CALA BIANCA	15° 24' 47.8"	39° 59' 48.6"
	130	PORTO INFRESCHI	15° 25' 31.1"	39° 59' 52.5"
CAPACCIO	068	CENTRO LAURA (2 KM SUD PRELIEVO N.67)	14° 58' 00.1"	40° 26' 47.2"
CASAL VELINO	104	ALTEZZA CONDOTTA SOTTO MARINA	15° 07' 38.2"	40° 10' 23.7"
CASTELLABATE	083	SPIAGGIA CHIESA MADRE	14° 56' 42.7"	40° 17' 09.3"
	084	LOCALITA' POZZILLO	14° 56' 31.0"	40° 16' 29.8"
	085	SPIAGGIA DIETRO IL PORTO DI S. MARCO	14° 55' 56.3"	40° 16' 03.1"
	087	PUNTA LICOSA	14° 54' 08.5"	40° 15' 07.7"
	090	VALLONE OGLIASTRO	14° 56' 34.1"	40° 13' 59.5"
CENTOLA	117	SPIAGGIA PORTO	15° 16' 43.5"	40° 01' 48.6"
	120	SPIAGGIA BUON DORMIRE	15° 17' 30.8"	40° 01' 31.8"
CONCA DEI MARINI	009	TORRE CAVALIERI DI MALTA (CAPO CONCA)	14° 34' 28.0"	40° 36' 46.2"
	010	SPIAGGIA PRESSO RISTORANTE LA TONNARELLA	14° 34' 35.4"	40° 37' 01.7"
MAIORI	021	100 MT OVEST REGINNA MAIOR	14° 38' 08.5"	40° 38' 53.8"
	024	SPIAGGIA SALICERCHIE	14° 38' 59.5"	40° 38' 37.9"
	026	SPIAGGIA DI ERCHIE	14° 41' 40.1"	40° 38' 12.3"
	151	SPIAGGIA LIBERA BADIA	14° 39' 43.7"	40° 38' 29.1"
	152	1^ SPIAGGIA ESTERNA AL PORTO	14° 41' 55.4"	40° 38' 35.6"
MONTECORICE	093	SPIAGGIA S. NICOLA	14° 59' 04.3"	40° 13' 12.8"
PISCIOTTA	113	CAPO TORRACA	15° 15' 28.0"	40° 05' 01.8"
POLLICA	098	SPIAGGIA ACCIAROLI (EST PORTO)	15° 01' 42.9"	40° 10' 36.8"
	101	SPIAGGIA PIOPPI	15° 05' 22.0"	40° 10' 24.1"
POSITANO	003	SPIAGGIA ARIENZO	14° 29' 43.3"	40° 37' 35.7"
	004	SPIAGGIA DELLE SIRENE	14° 30' 24.4"	40° 37' 20.2"
PRAIANO	005	SPIAGGIA PRESSO RISTORANTE MAMMATO	14° 31' 11.2"	40° 36' 51.42
	006	SPIAGGIA PRESSO NIGHT L'AFRICANO	14° 32' 14.6"	40° 36' 38.8"
	007	PRESSO RISTORANTE ALFONSO A MARE	14° 32' 20.5"	40° 36' 46.5"
RAVELLO	018	SPIAGGIA MARMORADA	14° 37' 12.1"	40° 38' 44.8"
SALERNO	036	SPIAGGIA LIBERA S. TERESA	14° 45' 21.4"	40° 40' 35.9"
SAN GIOVANNI A PIRO	132	500 GROTTA INFERNI	15° 26' 44.3"	40° 01' 10.0"

	154	50 MT NORD VALLONE S. LUCA	15° 29' 38.6"	40° 03' 12.2"
SAPRI	143	VALLONE S. DOMENICO	15° 37' 24.72	40° 04' 25.4"
VIETRI SUL MARE	029	SPIAGGIA SOTTO HOTEL FUENTI	14° 42' 47.4"	40° 39' 38.7"
	034	SPIAGGIA CRESTARELLA	14° 43' 51.9"	40° 40' 08.4"

## Allegato 2

### Stazioni di campionamento – macroalghe

Coordinate piane WGS84 – UTM (Longitudine da Greenwich)				
	Stazioni	Località	Lat. Nord	Long. Est
OS 1	Miliscola – Isolotto S.Martino	Monte di Procida	4517007.540	418606.970
OS 2	Miseno-faro	Miseno	4514773.940	422887.580
OS 3	Punta Pennata	Miseno	4515879.800	423323.551
OS 4	Solchiaro	Procida	4510452.428	417004.607
OS 5	Corricella	Procida	4511703.600	417637.759
OS 6	Vivara	Procida	4511340.460	415365.290
OS 7	Casamicciola	Ischia	4511553.010	408349.290
OS 8	Sant' Angelo	Ischia	4505210.478	406565.960
OS 9	San Pietro	Ischia	4511504.577	410852.861
OS 10	Lacco Ameno	Ischia	4512028.138	406309.888
OS 11	Trentaremi	Napoli	4516454.920	431066.170
OS 12	Nisida	Napoli	4516060.259	429358.226
OS 13	Gaiola	Napoli	4516124.880	431634.420
OS 14	Rocce Verdi	Napoli	4516584.481	432667.613
OS 15	Castel dell'Ovo	Napoli	4520090.270	436519.250
OS 16	Punta Gradelle	Vico Equense	4500741.380	449547.830
OS 17	Sorrento	Sorrento	4497728.827	446550.483
OS 18	Marina grande	Capri	4490240.054	434418.035
OS 19	Marina piccola	Capri	4488503.254	436279.952
OS 20	Punta Campanella	Nerano	4491525.350	444483.570
OS 21	Punta S.Elia	Sant' Agnello	4495095.100	450401.800
OS 22	Praiano	Positano	4495789.106	460974.467
OS 23	Vietri	Vietri	4501545.760	476080.910
OS 24	Fuenti	Vietri	4501139.005	455755.002
OS 25	Punta Licosa	S.M. Castellabate	4455769.031	491608.925
OS 26	Punta Tresino	S.M. Castellabate	4464833.758	494832.388
OS 27	Punta Ogliastro	S.M. Castellabate	4453040.790	494714.860
OS 28	Pioppi	Pollica	4446944.687	508131.262
OS 29	Palinuro	Pisciotta	4431235.605	523932.581
OS 30	Porto Infreschi	Camerota	4427614.300	536307.640
OS 31	Marina di Camerota	Camerota	4427896.140	531080.820
OS 32	Foce fiume Volturno	Castelvoturno	4541807.200	409501.960

## Allegato 3

### Stazioni di campionamento – Organismi marini eduli

Coordinate piane WGS84 – UTM (Longitudine da Greenwich)				
Stazioni	Organismi	Località	Lat. Nord	Long. Est
Lacco Ameno	Ricci	Ischia	4512041.154	406356.478
Miseno – Punta Pennata	Cozze	Miseno	4515879.800	423323.551
Nisida	Cozze	Napoli	4516060.259	429358.226
Gaiola	Cozze	Napoli	4516124.880	431634.420
Rocce Verdi	Cozze	Napoli	4516584.481	432667.613
Praiano	Cozze	Positano	4495789.106	460974.467
Porto Infreschi	Ricci	Camerota	4427614.300	536307.640

## Allegato 4

### Campionamento e analisi di ostreopsidaceae (*Ostreopsis* spp.)

#### a) Prelievo

##### *a. 1 Campioni d'acqua superficiale*

Nei 102 punti di sorveglianza delle acque superficiali il prelievo dovrà essere eseguito secondo quanto previsto dalle prescrizioni tecniche del D.P.R. 470/82: ad una distanza dalla battigia tale che il fondale abbia una profondità di circa 80 – 120 cm, tranne il caso di scogliere a picco o di fondali rapidamente degradanti, dove i prelievi dovranno essere effettuati in punti distanti non più di 5 metri dalla scogliera o dalla battigia, circa 30 cm sotto il pelo dell'acqua.

##### *a. 2 Campioni di macroalghe*

Viene prelevato 1 campione (distribuiti entro 10m) della stessa specie macroalgale, a una profondità compresa tra -0,20 e -1,50 m (infralitorale); secondo il seguente procedimento:

ricoprire la macroalga con un sacchetto di plastica, tagliarla alla base e chiudere il sacchetto sott'acqua per ridurre la perdita di cellule dalla superficie dell'alga alla colonna d'acqua.

In alternativa tagliare un campione di macroalga (almeno 20g, peso fresco) e conservarla in un barattolo o in un sacchetto di plastica.

Saranno effettuate sperimentazioni specifiche sulla distribuzione verticale delle microalghe epifite allo scopo di restringere il monitoraggio alle profondità di maggiore rischio secondo quanto stabilito dal protocollo.

Trasferire in laboratorio per il trattamento mantenendo al buio e a temperatura ambiente.

Per tempi di trasferimento o di analisi superiori a 48 ore, fissare il campione con soluzione di Lugol o formalina ad una concentrazione finale del 2-4% in volume (nel caso del campione b aggiungere un po' di acqua di mare filtrata). Conservare

a  $T < -20^{\circ}\text{C}$  una parte di campione non addizionato con soluzione di Lugol per le analisi sui nutrienti.

A scopo sperimentale si procederà a testare metodi alternativi di campionamento e conteggio delle microalghe che permettano una più efficace e rapida sorveglianza del fenomeno. A tale scopo verranno affiancati a tradizionali campionamenti previsti dalle linee guida, completi di tre repliche per punto, campionamenti di quantità più piccole di macroalghe di volume noto, con osservazione diretta di microalghe epifite e campionamenti con siringhe. I diversi metodi saranno sperimentalmente confrontati per verificare l'attendibilità e definire i criteri di interpretazione dei dati. In parallelo saranno condotti campionamenti a diverse profondità e su diverse macroalghe in uno stesso sito, allo scopo di individuare i substrati ideali per la crescita di *Ostreopsis ovata* ed eventuali organismi vettori associati a tali substrati.

Le macroalghe scelte per questa analisi saranno prevalentemente alghe brune e rosse, ramificate e arborescenti, in mancanza delle quali saranno campionate alghe verdi. In ordine di priorità verranno campionate le seguenti macroalghe:

alghe rosse, preferibilmente:

- *Asparagopsis taxiformis*
- *Corallina elongata*
- *Jania rubens*
- famiglia delle *Stypocaulaceae*

alghe verdi, preferibilmente:

- *Cladophora rupestris*

Verrà sperimentalmente determinata l' "idoneità" di specie di macroalghe ad ospitare la microalga tossica, allo scopo di ottimizzare il monitoraggio e contenerne i costi. Attraverso la sperimentazione verranno inoltre messi a punto dei fattori di conversione che permettano di rendere paragonabili dati ottenuti su macroalghe diverse. A tale scopo verranno raccolte in uno stesso punto più

tipologie di macroalghe e si procederà a conteggi su un numero statisticamente valido di campioni.

In mancanza di alghe brune si procederà al prelievo della specie algale più abbondante.

## **b) Trattamento e analisi del campione**

### ***b. 1 Campioni d'acqua***

L'identificazione delle macroalghe è eseguita come specificato di seguito. La quantificazione di Ostreopsidaceae nell'acqua viene eseguita seguendo il metodo di Utermöhl (Magaletti et al., 2001).

### ***b. 2 Campioni di Macroalghe***

Aggiungere nel sacchetto contenente la macroalga acqua di mare filtrata (0,22-0,45  $\mu\text{m}$ ). Agitare 2' per consentire il rilascio nell'acqua delle cellule epifitiche. Trasferire l'acqua in un contenitore. Se necessario, ripetere il lavaggio dell'alga con altra acqua filtrata per assicurarsi che tutti gli epifiti siano stati rilasciati. Nel caso di campioni freschi, fissare tutta l'acqua di lavaggio con soluzione di Lugol acida (0,5 – 1mL di soluzione ogni 250 mL di campione) e nel caso si intendessero effettuare degli approfondimenti tramite lettura a epifluorescenza e al microscopio elettronico a scansione (SEM), parte del campione può essere fissato con formaldeide neutralizzata ad una concentrazione finale del 2-4%. Effettuare l'identificazione come indicato all'allegato 2 e la sedimentazione e il conteggio seguendo la metodica di Utermöhl.

## **Metodi per l'identificazione tassonomica di microalghe**

Per l'identificazione tassonomica delle microalghe si consiglia di consultare "Guida al riconoscimento di plancton dei mari italiani" elaborata dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e dall'ICRAM (Avancini et al, 2006).

Sul territorio nazionale sono uniformemente distribuite strutture pubbliche di ricerca e di controllo all'interno delle quali operano specialisti in grado di identificare gli organismi algali. Ad esempio è stata recentemente costituita una

“rete” denominata BENTOXNET (consultabile all’indirizzo [www.bentoxnet.it](http://www.bentoxnet.it)) alla quale afferiscono in modo spontaneo e volontario ricercatori italiani con consolidata esperienza nello studio dei bloom di microalghe marine incluse le specie potenzialmente tossiche. Una sicura identificazione di *O. ovata* è possibile applicando tecniche molecolari (Penna et al., 2005).

### **Espressione del risultato**

Per la determinazione quantitativa sarà necessario 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).

Se per esempio la densità cellulare determinata risulta uguale a 50000 cellule su un litro d'acqua utilizzato per il lavaggio dell'alga e l'alga pesa 25g il risultato sarà di 2000 cellule/g alga.

## **Allegato 5**

### **Metodiche campionamento organismi marini eduli**

Nei siti individuati, in cui sono state prelevate le macroalghe, saranno campionati animali bentonici eduli, principalmente echinodermi (ricci), circa 30 esemplari, e molluschi bivalvi (cozze), circa 1 Kg o comunque, in entrambi i casi, in quantità tali da assicurare non meno di 150 grammi di materiale edibile.

I ricci saranno puliti direttamente a bordo, prelevando le uova e trasferendole in contenitori che saranno conservati in congelatore, mentre i mitili saranno raccolti in buste per alimenti e posti in frigo fino alla consegna al personale dell’Istituto Zooprofilattico, se essa avverrà entro le 24 ore dal prelievo. In caso contrario anche i mitili saranno conservati in congelatore.

In base a risultati di sperimentazione mirata, si procederà ad identificare i limiti delle profondità di raccolta ed eventuali altri animali da campionare

## Allegato 6

### Metodologia per la sorveglianza sindromica

Dal punto di vista metodologico il disegno generale del sistema prevede la partecipazione allargata di una rete omogenea territorialmente, su base regionale, di DEA di Ospedali di riferimento, afferenti ad un centro coordinatore, responsabile dell'analisi e dell'elaborazione dei dati. I DEA segnaleranno gli accessi/ricoveri corrispondenti alla definizione di caso, che è stata ottenuta sulla base dell'esperienza maturata nel corso degli episodi dell'estate 2005 e 2006 a Genova e da quadri clinici segnalati in letteratura. Feed-back sistematici permetteranno la validazione o il miglioramento della definizione stessa.

Attualmente, un caso è definito da paziente afferente alle strutture sanitarie della rete che presenti contemporaneamente almeno 2 sintomi tra i seguenti:

- ✓ febbre ( $>38^{\circ}\text{C}$ ),
- ✓ faringodinia, tosse, dispnea,
- ✓ cefalea,
- ✓ nausea/vomito,
- ✓ rinorrea,
- ✓ lacrimazione congiuntivale,
- ✓ rash cutaneo

Il dato atteso sarà determinato mediante studio retrospettivo, volto alla stima di un range dell'incidenza di accessi riconducibili alla sindrome clinica specificata nella definizione di caso nel periodo maggio-settembre. Il soggetto esposto sarà definito colui che nelle 24 ore precedenti abbia frequentato luoghi di balneazione (spiaggia, scogli, lido) o luoghi prospicienti (entro 100 metri dalla battigia).

I dati di sorveglianza contribuiranno a definire, unitamente alla rilevazione e la valutazione del dato ambientale, lo stato di attenzione, di allerta e di emergenza.

Il feed-back informativo prevede di attuare un sistema di comunicazione con le istituzioni competenti, tra cui il Dipartimento Salute e Servizi Sociali delle

Regioni, i Dipartimenti di Prevenzione delle AA.SS.LL., Ospedali, ecc. sia a livello locale, sia in ambito nazionale.

Sulla base di quanto documentato nel corso delle indagini clinico-epidemiologiche sui casi verificatisi a Genova negli anni 2005 e nel 2006, si indica, a puro scopo conoscitivo, che le terapie attuate, consistenti in farmaci sintomatici e, nei casi di dispnea grave, di O<sub>2</sub> terapia, hanno fornito risultati clinici ottimali, con la dimissione dei casi necessitanti ospedalizzazione entro un termine massimo di 72 ore.

Resta valido il concetto che la gestione terapeutica spetta elettivamente al clinico prestante servizio presso la struttura sanitaria ed è discrezionale sulla base della sintomatologia e della gravità complessiva delle condizioni cliniche del paziente, non essendo ad oggi codificate né necessarie linee guida particolari per la sindrome clinica da *O. ovata*.

## **Allegato 7**

### **Mouse-Test**

Il Mouse Test ha come caratteristica quella di poter identificare effetti tossici dovuti alla presenza di tossine non sempre note e spesso non identificabili con analisi chimiche.

Il Mouse Test al quale si fa riferimento è quello descritto nel D.M. del 16-05-02 per la determinazione delle tossine classificate come DSP. Il metodo prevede la possibile scelta tra due diversi protocolli (Protocollo 1 e Protocollo2) entrambi descritti come idonei per la determinazione di palitossine.

Nel corso dei precedenti progetti “Monitoraggio *Ostreopsis ovata* litorale costiero Regione Campania”, l’IZSM di Portici, in collaborazione con il Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali dell’Università “Federico II” di Napoli, è riuscito ad identificare nello Step 2 del Protocollo 2 il metodo d’elezione per l’identificazione di Palitossine nei molluschi eduli e nei ricci di mare, diminuendo i tempi di analisi ed ottimizzando i risultati.

### **Trattamento campioni**

I campioni di organismi marini (ricci, mitili, ecc.) prelevati devono essere recapitati all’IZSM di Portici il più celermente possibile. E’ necessario evitare il presentarsi di stati di decomposizione che, anche se iniziali, potrebbe portare alla formazione di altre tossine interferenti ed in grado di falsare i risultati del test.

### **Metodologia analitica**

Di seguito viene descritta la procedura di estrazione:

- *Estrazione*

Pesare  $100 \pm 0,2$  g di campione ben omogeneizzato in un contenitore da centrifuga.

Aggiungere 100 ml di acetone e omogeneizzare ulteriormente con omogeneizzatore ad immersione per 2 minuti.

Il materiale è quindi centrifugato a 3000 rpm per 5 minuti ed il surnatante raccolto in un pallone da 1000 ml facendolo passare attraverso un filtro di carta per evitare

l'accumulo di materiale macrocorpusco. Il residuo è ulteriormente estratto con 100 ml di acetone, centrifugato e raccolto nel pallone da 1000 ml. Tale riestrazione è ripetuta ancora una volta.

La stessa riestrazione viene ancora effettuata per tre volte utilizzando 100 ml di metanolo. L'estratto finale acetone e metanolico riunito è fatto evaporare sotto pressione ridotta (rotovapor). Il residuo è trasferito in un imbuto separatore con 30 ml di diclorometano e 60 ml di metanolo al 60% (metanolo:acqua = 6:4). L'imbuto separatore è agitato delicatamente. Terminata la separazione delle due fasi, si trasferisce la parte di diclorometano conservando quella di metanolo. La soluzione di diclorometano è estratta una seconda volta con 60 ml di metanolo al 60% e lasciata a separare per tutta la notte. Il giorno dopo sono state riunite le fasi di metanolo ottenendo così un estratto diclorometanico ed un estratto metanolico.

*Solo quest'ultimo estratto (metanolico) è utilizzato per il Mouse-Test.*

- *Preparazione dell'estratto metanolico (Step2)*

L'estratto metanolico al 60% raccolto è portato a volume di 200 ml con metanolo. Vengono prelevati 16 ml di tale ed evaporati completamente.

- *Preparazione degli inoculi*

Il residuo è sciolto e portato ad un volume finale di 4 ml con Tween 60 all'1%, evitando la formazione di grumi.

- *Inoculazione degli animali*

Vengono scelti tre topi di 18-20 g sui quali si esegue una iniezione intraperitoneale utilizzando una siringa monouso con ago da insulina per inoculare 1 ml dell'estratto in ciascuno dei topi. Ogni inoculo della frazione metanolica equivale a 2 g del campione iniziale. Gli animali devono essere tenuti in osservazione per 24 ore.

- *Interpretazione dei risultati*

Il test è da considerarsi positivo in caso di morte di due dei tre topi entro 24 ore dall'inoculo. La sopravvivenza di almeno due topi oltre le 24 ore indica l'assenza delle tossine ed il test è considerato negativo. Sarà opportuno verificare la possibilità

di ridurre il tempo di morte così come specificatamente previsto in caso di presenza di Yessotossine.

### **Note**

Nel caso in cui il quantitativo di campioni pervenuto non raggiunga i 100g stabiliti è possibile effettuare comunque l'estrazione adeguando in proporzione le quantità di solventi estraenti da utilizzare. Si cercherà sempre di assicurarsi che la quantità di estratto inoculata sia pari a 2g di campione.

In caso di riscontro di campioni positivi, verrà consegnata al Dipartimento di Chimica e delle Sostanze Naturali dell'Università di Napoli Federico II, una aliquota dell'estratto metanolico per le previste analisi chimiche.

## **Allegato 8**

### **Metodi per la caratterizzazione chimica delle tossine**

#### **Procedura di estrazione**

- **Estrazione del plancton**

Ciascun campione di plancton sarà sottoposto, dopo averne determinato volume e pH, a 2 cicli di sonicazione di 4 min. ciascuno. Tale operazione ha lo scopo di rompere le cellule microalgali presenti intatte nel campione cosicché l'intero contenuto cellulare si riversa nel mezzo (acqua di mare) circostante. La sospensione sarà poi centrifugata allo scopo di separare l'acqua di mare dai pellets cellulari. Il surnatante verrà estratto con uguale volume di 1-butanolo per 3 volte. In tali condizioni il recupero calcolato di palitossina nell'estratto butanolico è del 45.5. Gli estratti butanolici di ciascun campione saranno riuniti ed evaporati tramite evaporatore rotante. Si otterrà così un residuo secco per ciascun campione estratto che verrà dissolto in metanolo/acqua 1:1 (v/v). La soluzione ottenuta sarà filtrata mediante centrifugazione e sottoposta direttamente ad analisi LC-MS.

- **Estrazione dei molluschi eduli**

Ciascun campione di molluschi eduli, quali mitili e ricci sarà sottoposto ad estrazione secondo quanto previsto dalla legislazione Italiana per l'analisi delle DSP tossine nei mitili (protocollo 2) presso l'Istituto Zooprofilattico. Un'aliquota dell'estratto metanolo/acqua 6:4 ottenuto sarà utilizzato per l'analisi chimica che verrà condotta via LC-MS.

### **Analisi LC-MS**

Le analisi LC-MS saranno condotte utilizzando uno spettrometro di massa con sorgente Turbo ion-spray® ed analizzatore a triplo quadrupolo accoppiato ad un sistema cromatografico dotato di pompa binaria, degasatore, autocampionatore e termostato del compartimento vials. Le condizioni cromatografiche negli esperimenti LC-MS saranno le seguenti:

*Colonna:* 30m Gemini C18 (150 × 2.00 mm)

*Fase mobile:* A = acqua, B = 95% acetonitrile in acqua, entrambe le fasi addizionate del 30 mM di acido acetico

*Eluizione a gradiente:* t = 0 min, 20% B; t = 10 min, 100% B; t = 14 min, 100% B

*Flusso:* 0.2 mL/min

*Temperatura:* ambiente (circa 21°C)

Nell'analisi quantitativa, l'area dei picchi emergenti per le transizioni più abbondanti saranno paragonate all'area dei picchi corrispondenti di soluzioni standard di palitossina di simile concentrazione iniettate nelle stesse condizioni sperimentali.

## Piano di monitoraggio per il contenimento del rischio da *Ostreopsis Ovata* Piano finanziario

**IZSM**

Adeguamento strumentale *solo il primo anno* €120.000,00

**Dip. Di Chimica "Federico II"**

Leasing per spettrometro di massa ad alta risoluzione €150.000,00

**TOTALE** €270.000,00

**Fase di Avvio 2009:****ARPAC**

**Totale** €100.000,00

**SZN**

Spese barca e campionamento € 10.000,00

Personale a contratto € 35.000,00

Strumentazione € 15.000,00

Consumo € 12.000,00

Spese generali € 7.200,00

**Totale** €79.200,00

**IZSM**

Personale € 37.000,00

Materiale di consumo, noleggi, convenzioni, missioni ecc. € 60.000,00

Spese generali € 9.700,00

**Totale** €106.700,00

**Dip. Di Chimica "Federico II"**

Personale € 18.000,00

Materiale di consumo € 37.000,00

Spese generali € 5.500,00

**Totale** €60.500,00

**TOTALE** €346.400,00

**Fase di Routine :**