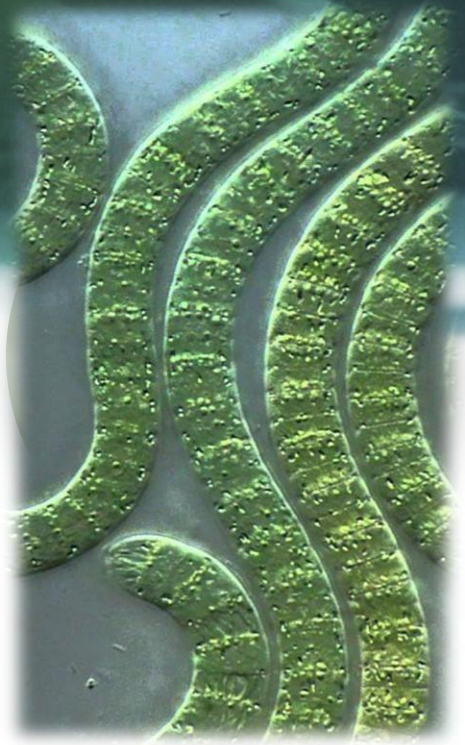


Fioriture di cianobatteri nei laghi italiani: stato dell'arte e linee guida per la gestione del rischio sanitario

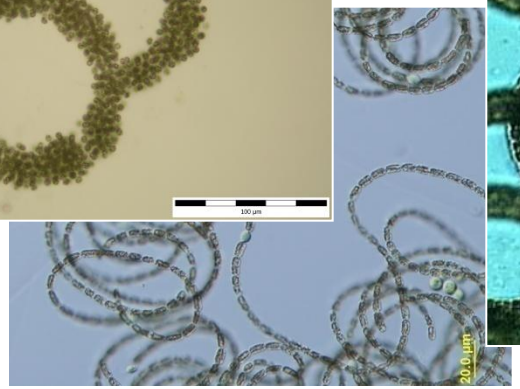
Emanuela Viaggiu

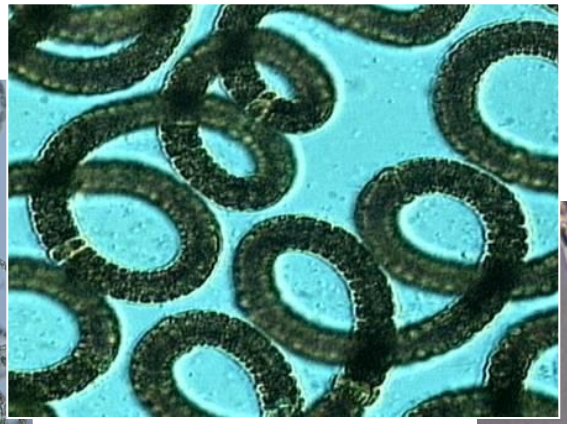
Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"
Dip. Biologia – Lab. Biologia delle Alghe

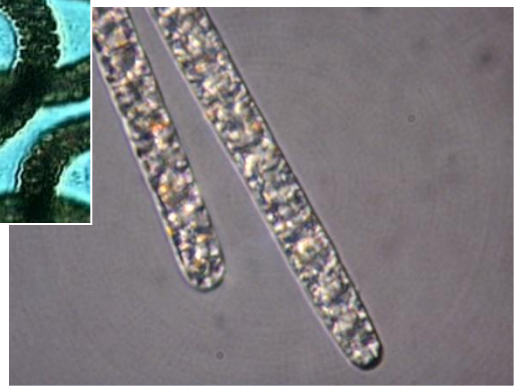
Conferenza finale BLASCO
Verbania Pallanza 15 Giugno 2017

Fioriture di cianobatteri e produzione di tossine: un problema mondiale

L'abbondante sviluppo di cianobatteri planctonici tossici (bloom) è un evento comune nelle acque dolci, salmastre e marine e rappresenta un grave problema ambientale e sanitario. Spesso è associato alla proliferazione di cianobatteri epatotossici come M*icrocystis* e *Planktothrix* spp., che producono diverse tipi di microcistine (MCs)







http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/cyanotox/cyanotox.html

Cianobatteri e tossine

I cianobatteri tossici possono essere responsabili della produzione di diversi tipi di tossine e, quindi, è possibile che la stessa specie possa produrre più di un tipo di tossina, come pure è possibile che una determinata specie si trovi a produrre diverse varianti della stessa classe di tossine (Mbedi et al. 2005).

Questo viene ampiamente descritto per *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing e per popolazioni di *Planktothrix rubescens* (de Candolle ex Gomont) Anagnostidis et Komárek (Kurmayer et al. 2003, 2004; Briand et al. 2005).

Tossine dei cianobatteri

Epatotossine

Cronico TDI
0.04 μg/kg pc/giorno

Acuto: TDI
2.5 μg/Kg pc
(Fawell *et al*., 1999)

1 μg/l
EU/WHO (1998)

Neurotossine

Gruppo	Produttori (generi)	Effetti
Microcistine	*Microcystis, Dolichospermum* (ex *Anabaena*), *Anabaenopsis*, *Aphanizomenon*, *Aphanocapsa*, *Chrysosporum*, *Hapalosiphon*, *Limnothrix*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Planktothrix*, *Oscillatoria*	Inibizione delle proteine fosfatasi (PP1 & PP2A)
Nodularine	*Nodularia*	Inibizione delle proteine fosfatasi (PP1 & PP2A)
Cilindrospermopsina	*Cylindrospermopsis, Aphanizomenon, Chrysosporum*, *Umezakia, Raphidiopsis, Anabaena*	Inibitore della biosintesi delle proteine
Saxitossine	*Dolichospermum, Anabaena, Aphanizomenon, Cylindrospermopsis, Lyngbya, Planktothrix*	Legame e blocco dei canali sodio delle cellule neurali
Anatossine	*Dolichospermum* (ex *Anabaena*), *Aphanizomenon, Cylindrospermum, Oscillatoria, Planktothrix, Phormidium, Raphidiopsis*	Legame irreversibile ai recettori nicotinici dell'acetilcolina (ACHE)
Anatossina-a(s)	*Dolichospermum* (ex *Anabaena*)	Inibitore attività ACHE

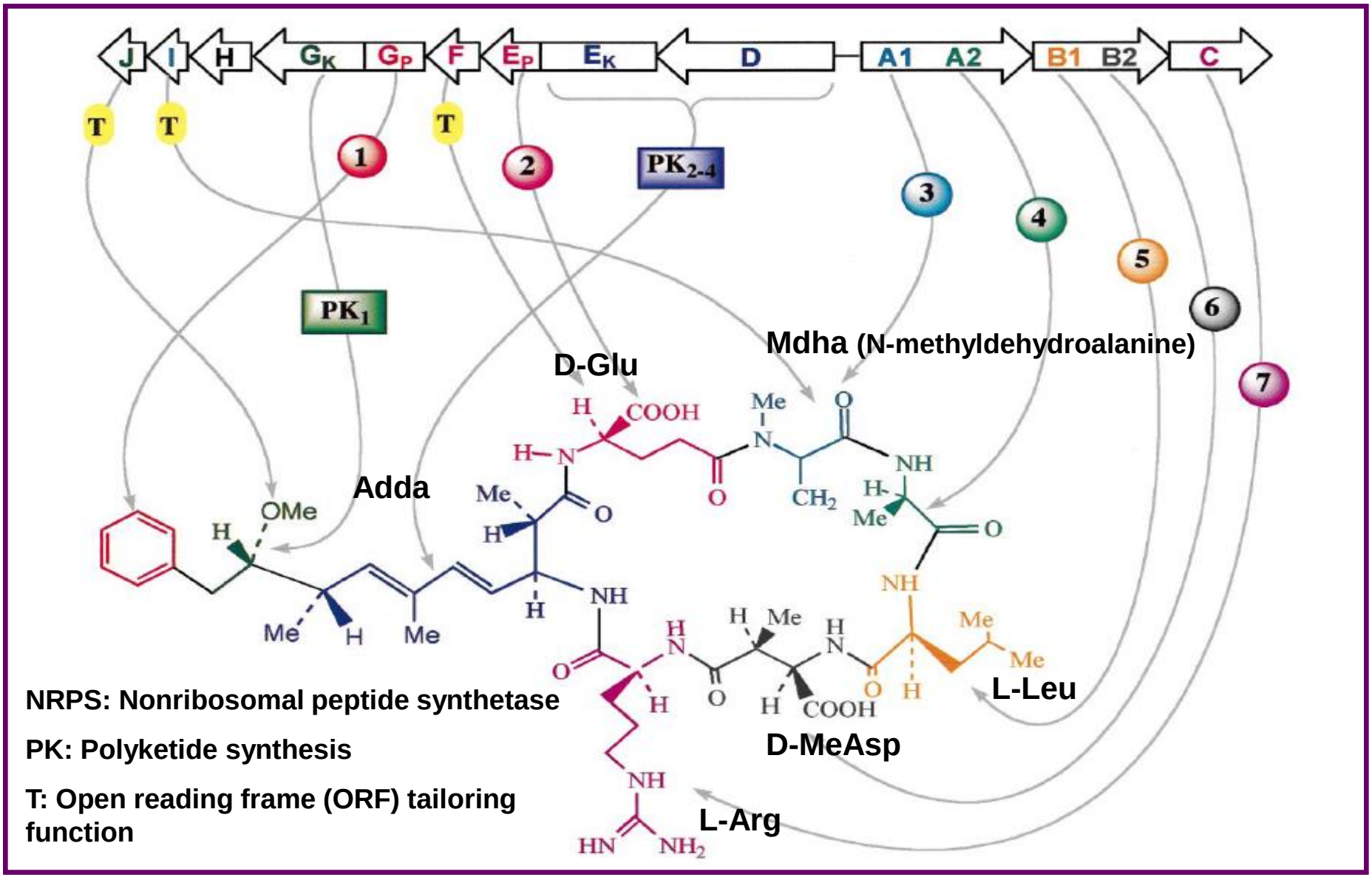
Tossine dei cianobatteri

	Gruppo	Produttori (generi)	Effetti
Dermatotossine Citotossine	Lyngbyatossine-a	*Lyngbya, Oscillatoria, Schizothrix*	Potenziali irritanti; colpisce qualsiasi tessuto esposto
	Aplisiatoxssine e debromoaplisiatossine	*Lyngbya, Oscillatoria, Schizothrix*	Potenziali irritanti; colpisce qualsiasi tessuto esposto
Endotossine irritanti	Tossine llipopolisaccaridiche	Diversi cianobatteri	Potenziali irritanti; colpisce qualsiasi tessuto esposto

Blaha et al. 2009; van Apeldoorn et al. 2007; Zurawell et al. 2004; Viaggiu et al. 2004; Guzzella et al. 2010; Stüken & Jakobsen 2010; Pomati et al. 2004; Žegura et al. 2011

Biosintesi delle microcistine

Complesso multienzimatico *mcy* : peptide sintetasi & polichetide sintase



NRPS: Nonribosomal peptide synthetase

PK: Polyketide synthesis

T: Open reading frame (ORF) tailoring function

Variabilità quali- e quantitavia della produzione delle MCs

Difficoltà nel predire il rischio sanitario.

Variazioni dovute:

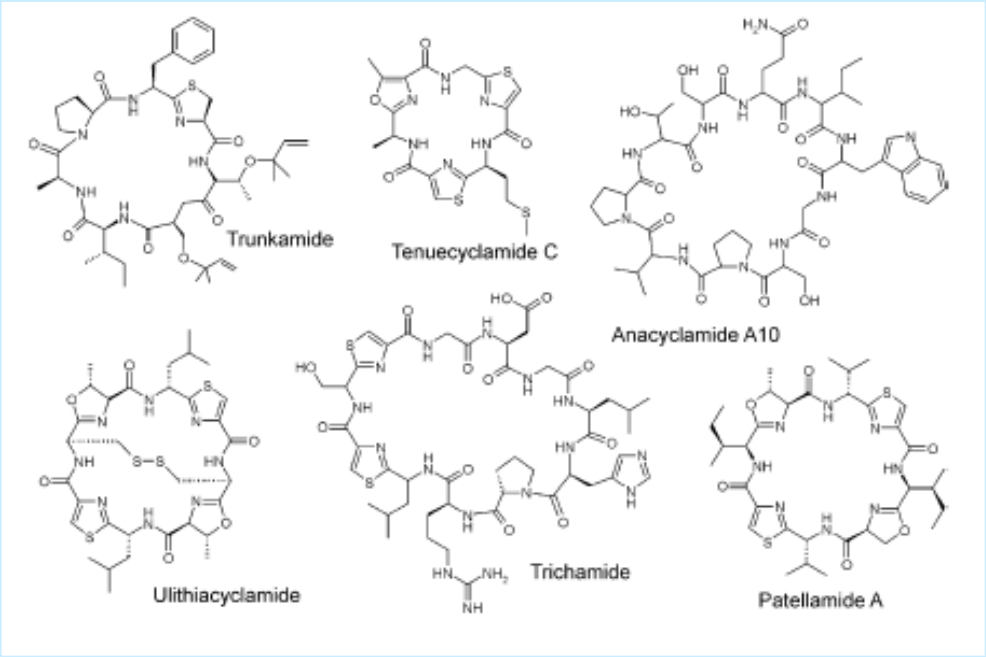
- **Diversa presenza nel rapporto tra popolazioni con genotipi 'MC-producing' e 'non-MC-producing'**
- **Produzione di differenti varianti di MCs per la presenza di più popolazioni**
- **Livelli di espressione genica nella biosintesi di queste molecole**
- **Fattori ambientali**

Metaboliti secondari

Classi	Sinonimi	Origine	Varianti
aeruginosine	microcina, spumigina	*Microcystis*, *Nodularia, Planktothrix*	27
microginine	cianostatina, oscillaginina, nostoginina	*Microcystis*, *Nostoc, Planktothrix*	38
anabaenopeptine	oscillamide, acido ferintoico, cheramamide, chonbamide, mozamide, nodulapeptina, plectamide, schizopeptina	*Anabaena*, *Aphanizomenon, Microcystis*, *Nodularia*, *Planktothrix*, *Plectonema*, *Schizothrix*	32
cianopeptoline	aeruginopeptina, anabaenopeptilide, dolostatina, hofmannolina, microcistilide, micropeptina, nostociclina, nostopeptina, oscillapeptilide, oscillapeptina, planctopeptina, sciptolina, somamide, simplostatina, tasipeptina	*Anabaena*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Planktothrix*, *Scytonema*, *Symploca*	82
microviridine		*Microcystis*, *Nostoc, Planktothrix*,	10
ciclamidi	aaniasciclamide, bistratamide, dendroamide, microciclamide, nostocyclamide, obianamide, raociclamide, tenueciclamide, ulongamide, westiellamide	*Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, *Stigonema*, *Westelliopsis*	21

Cianobactine

La via biosintetica dei geni coinvolti nella produzione delle cianobactine è stata descritta in specie appartenenti a generi *Anabaena*, *Lyngbya*, *Microcystis*, *Nostoc*, *Prochloron*, e *Trichodesmium* (Welker & von Döhren 2006; Sudek et al. 2006; Ziemert et al. 2008b; Leikoski et al. 2010; Sivonen et al. 2010)



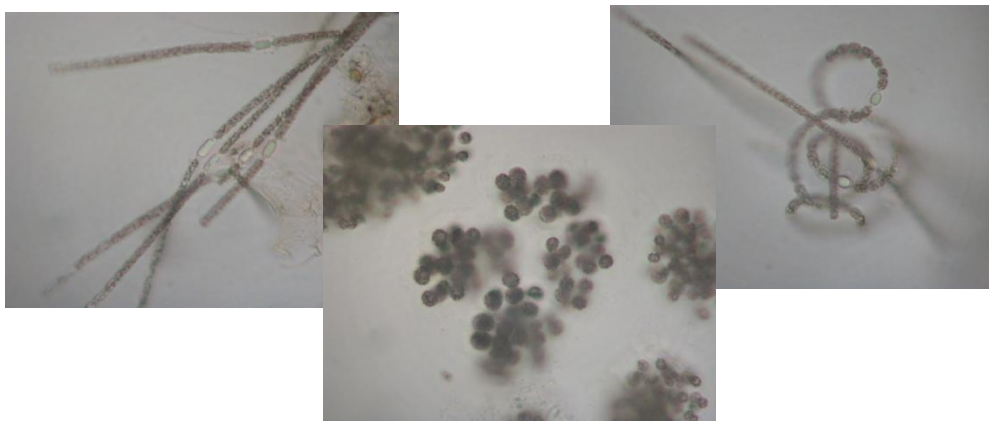
Per conoscere e comprendere meglio la via biosintetica delle cianobactine è stato condotto uno studio di tipo molecolare su uno dei geni responsabili analizzando 132 ceppi provenienti da ambienti salmastri e d'acqua dolce tra cui forme coloniali come *Microcystis* and *Snowella,* forme filamentose come *Planktothrix*, forme filamentose eterocistiche come *Anabaena*, *Aphanizomenon* e *Nodularia* (Leikoski et al. 2009)

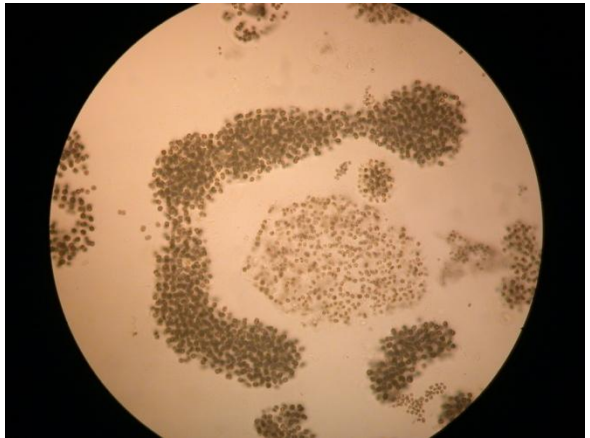
- Organismi di piccole dimensioni

- Singole cellule o cellule aggregate in colonie o in filamenti

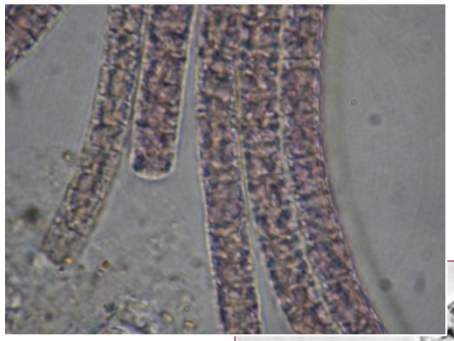
- Formano strutture tridimensionali di diversa forma e dimensione

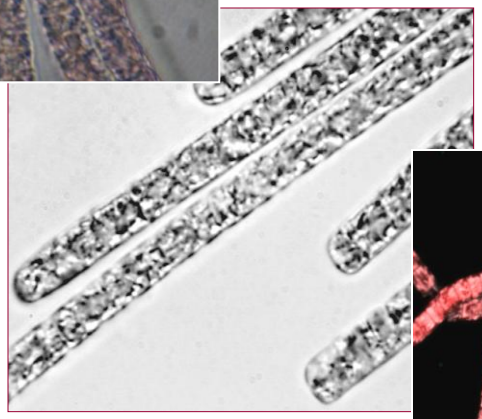
- Difficoltà nel riconoscimento tassonomico e conta delle cellule

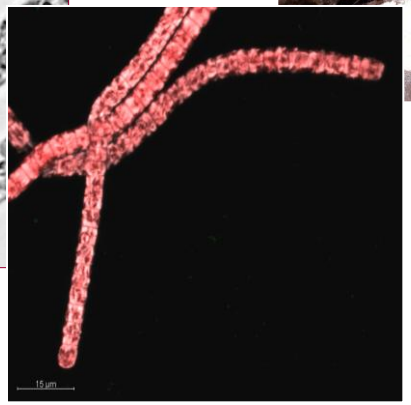




Caso di studio: *Planktothrix rubescens*



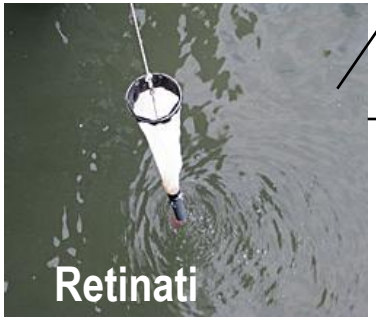




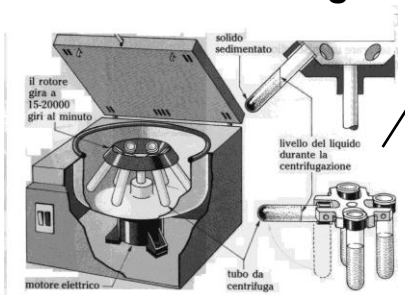
Campioni di acqua

25 ml camere sedimentazione

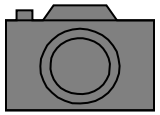
Invertoscopio



Centrifugazione



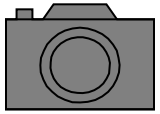
Microscopio dritto



Immagini digitali di 20-40 campi visivi ad ingrandimento 10x

Conta di filamenti da campioni d'acqua

Misura di lunghezza di filamenti da campioni d'acqua



Immagini digitali di filamenti ad ingrandimento100x

Misure di lunghezza e larghezza cellulare

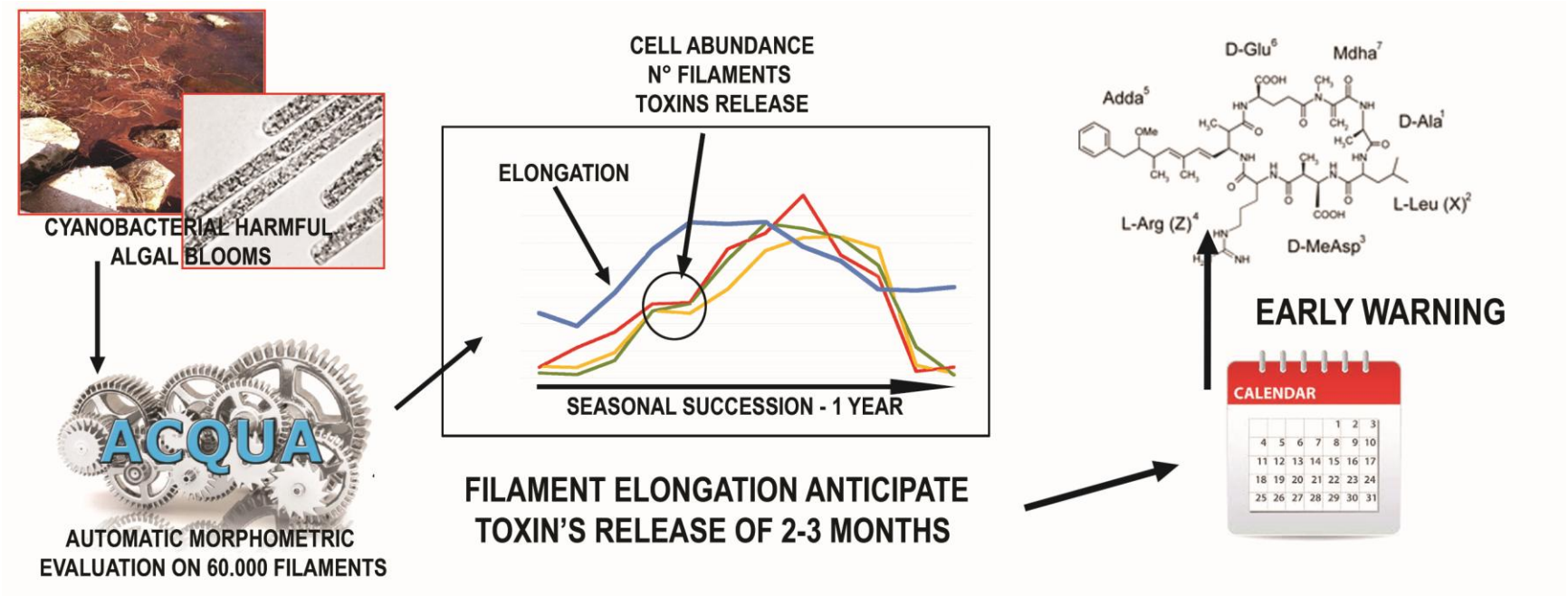
Lunghezza media per filamento e per cellula

Numero medio di cellule per filamento

Numero di celllule e biovolume cellulare per litro d'acqua

Is morphological variability in *Planktothrix rubescens* related to toxin production? Evidence from the volcanic Lake Vico (Latium, Italy) over a five year period.

Viaggiu E., Gandola E., Bogialli S., Nigro Di Gregorio F., Ferretti E., Fuscoletti V., Lucentini L., Congestri R., Morabito G.



Sottomissione

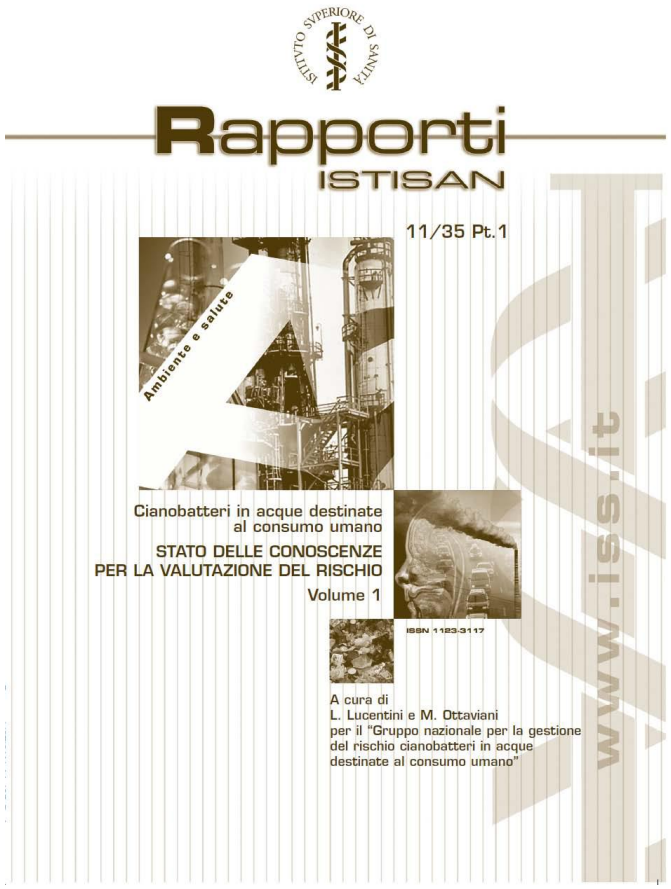
Gruppo nazionale per la gestione del rischio cianobatteri in acque destinate a consumo umano

Linee guida "Cianobatteri in acque destinate a consumo umano" (2 volumes)

L. Lucentini & M. Ottaviani (eds) ***Stato delle conoscenze per la valutazione del rischio.***

Rapporti ISTISAN 11/35 Pt. 1 & 2.

Cianobatteri in acque destinate al consumo umano: Stato delle conoscenze per la valutazione del rischio. Volume 1.



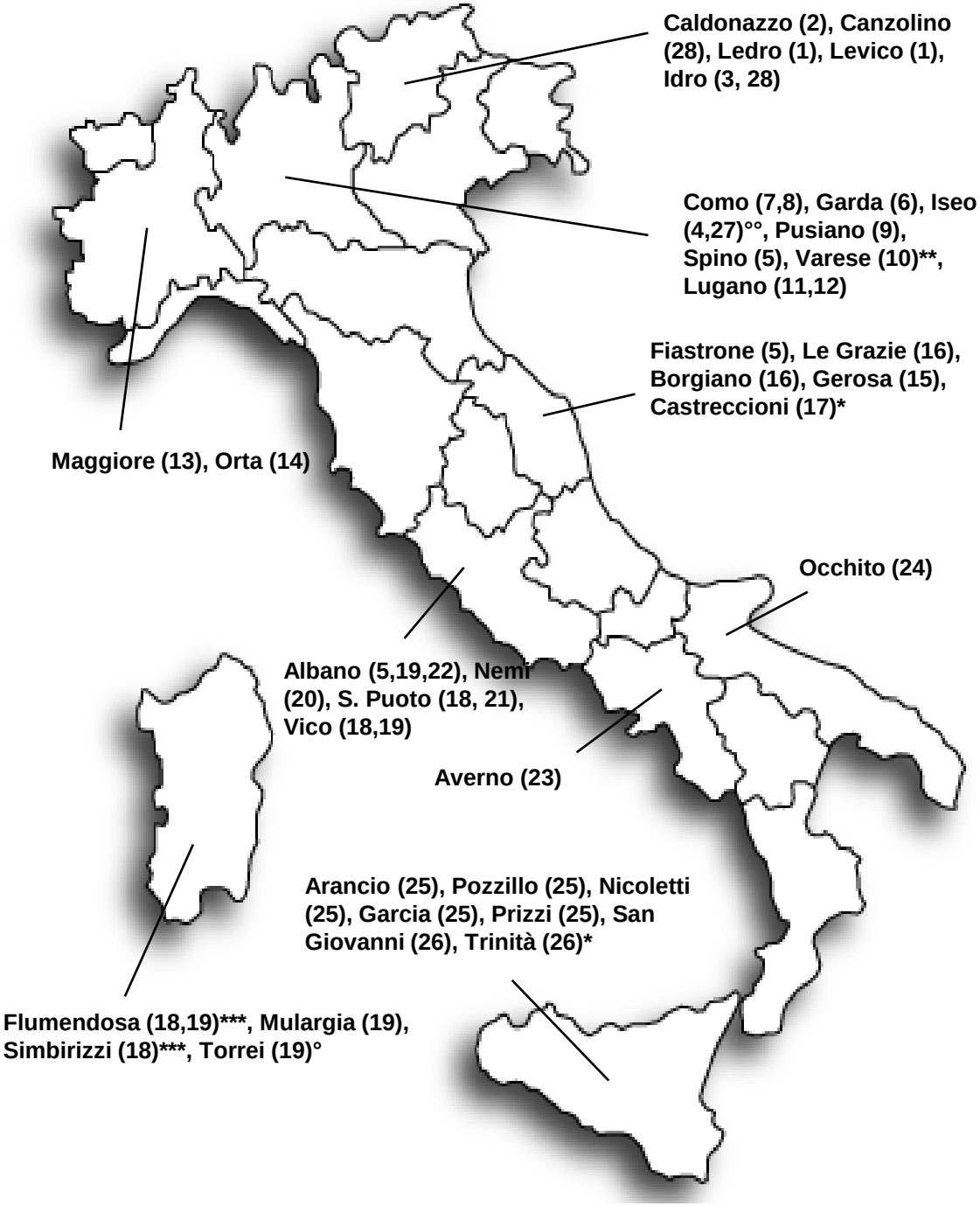
Il volume presenta il quadro delle conoscenze sulla valutazione del rischio da cianobatteri e loro tossine in acque destinate a consumo umano fornendo strumenti necessari per la definizione della probabilità di accadimento e la stima del potenziale impatto di fenomeni di contaminazioni massive di cianobatteri in invasi destinati alla produzione di acqua potabile. Sono anche indicati gli elementi fondamentali per la strutturazione dei piani di monitoraggio e le misure di prevenzione e mitigazione del rischio nell'intera filiera idro-potabile. Trattazione specifica è rivolta all'assetto normativo sulla problematica con la definizione dei valori di riferimento nazionali per le cianotossine nelle acque destinate a consumo umano ai sensi del DL.vo 31/2001 e s.m.i.

Cianobatteri in acque destinate al consumo umano: Linee guida per la gestione del rischio. Volume 2.

Questo volume rappresenta una trasposizione sintetica e pratica dello stato delle conoscenze dal settore della ricerca e dello sviluppo tecnologico nel campo dei cianobatteri (riportato in maniera più approfondita nel volume Rapporti ISTISAN 11/35 Pt. 1). Le linee guida consistono di istruzioni operative e raccomandazioni gestionali rivolte ai sistemi idrici per migliorare la qualità della risposta alle problematiche dei cianobatteri garantendo l'ottimizzazione degli interventi a protezione della salute e la razionalizzazione dell'utilizzo delle risorse. Concepite come strumento per la vigilanza sanitaria e ambientale di routine, le linee guida descrivono la strutturazione e implementazione di un sistema basato sull'approccio Alert Level Framework e sui principi dei Water Safety Plan per la gestione del rischio esteso all'intera filiera idro-potabile, dal controllo dell'invaso ai punti di utenza. Specifica trattazione trovano le strategie di risposta alle emergenze e le misure di mitigazione del rischio, comprendenti prevenzione e trattamenti di rimozione di cianobatteri e tossine, e dei piani di emergenza.

Sono, infine, riportati i principi e gli strumenti per garantire un'adeguata informazione e comunicazione tra le parti interessate e i consumatori e le informazioni, i criteri e le metodologie necessarie all'implementazione di un sistema di sorveglianza sindromica (osservatorio epidemiologico).

Distribuzione di fioriture *Planktothrix rubescens* nei laghi ed invasi italiani tra il 1992 e il 2009



1 Flaim & Pinamonti 2000; 2 Costaraoss et al. 2010; 3 D'Alelio et al. 2011; 4 Garibaldi et al. 2003; 5 Viaggiu et al. 2003; 6 Salmaso 2000; 7 Bettinetti et al. 2000; 8 Buzzi 2002; 9 Legnani et al. 2005; 10 Pomati et al 2000; 11 Salmaso et al. 2003; 12 Salmaso et al. 2006; 13 Morabito et al. 2002; 14 Morabito 2001; 15 Manganelli et al. 2010; 16 Bruno et al. 2009; 17 Bartolelli et al. 2005; 18 Bruno et al. 1992; 19 Messineo et al. 2009; 20 Margaritora et al 2005; 21 Viaggiu et al. 2008; 22 Messineo et al. 2010; 23 Ferranti et al. 2009; 24 Ferretti et al. 2010; 25 Naselli-Flores et al. 2007; 26 Barone & Naselli Flores 2000; 27 Garibaldi et al. 2000; 28 Available on http://de.camera.it/.

*Presenza di *Planktothrix agardhii* ; **Presenza di *Planktothrix* FP1; ***Presenza di *Planktothrix rubescens* e *P. agardhii*; ° Presenza di *Planktothrix* spp., °° Presenza di *Planktothrix tenuis*

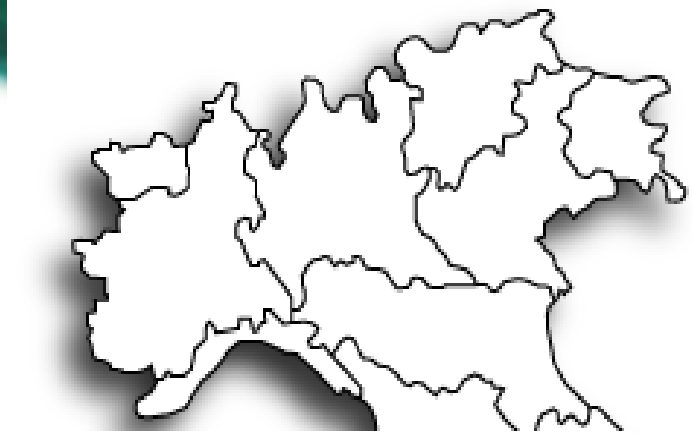
Viaggiu, Morabito & Della Libera, 2011

Presenza o fioriture di specie di cianobatteri appartenenti ai generi *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cilindrospermopsis*, *Microcystis* nei laghi ed invasi italiani (1992-2010)

1 Garibaldi et al. 1997; 2 Garibaldi et al. 2000; 3 Garibaldi et al. 2003; 4 Salmaso et al. 2003; 5 Manti et al. 2005; 6 Salmaso 2000; 7 Salmaso 2002; 8 Salmaso 2005a; 9 Messineo et al. 2010; 10 Salmaso 2005b; 11 Bettinetti et al. 2000; 12 Buzzi 2002; 13 Legnani et al. 2005; 14 Ravera & Scotto 1999; 15 Messineo et al. 2009; 16 Bartolelli et al. 2005; 17 Bogialli et al. 2006; 18 Gallo et al. 2009; 19 Naselli Flores & Barone 2005; 20 Barone & Naselli Flores 2000; 21 Naselli Flores et al. 1998; 22 Flaim & Pinamonti 2000; 23 ISS-TOV dati personali; 24 Margaritora et al. 2005

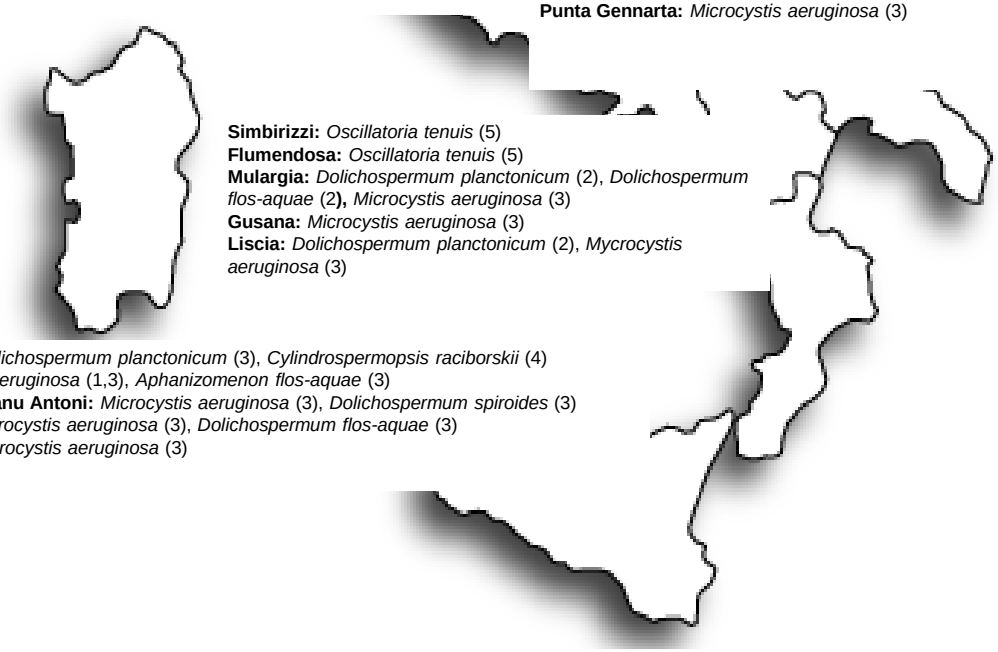
Viaggiu, Morabito & Della Libera, 2011

Presenza o fioriture di specie di cianobatteri appartenenti ai generi *Dolichospermum*, *Aphanizomenon*, *Cilindrospermopsis*, *Microcystis* nei laghi ed invasi della Sardegna (1992-2010)



Bidighinzu: *Dolichospermum flos aquae* (3), *Microcystis flos-aquae* (3)
Flumineddu: *Dolichospermum planctonicum* (2)
Cuga: *Dolichospermum planctonicum* (3), *Dolichospermum flos aquae* (3) *Aphanizomenon flos-aquae* (3), *Microcystis aeruginosa* (3),
Omodeo: *Dolichospermum spiroides* (3)*Microcystis aeruginosa* (3), *M. flos-aquae* (3),
Monteleone Roccadoria: *Dolichospermum spiroides* (3), *Microcystis aeruginosa* (3)
Casteldoria: *Dolichospermum flos aquae* (3), *Microcystis aeruginosa* (3), *M. flos-aquae* (3)

Santa Lucia: *Mycrocystis aeruginosa* (3)
Monte Pranu: *Dolichospermum planctonicum* (3), *M. aeruginosa* (3)
Coghinas: *Dolichospermum flos aquae* (3), *Microcystis aeruginosa* (3), *M. flos-aquae* (3), *Aphanizomenon flos-aquae* (3)
Cixerri: *Dolichospermum planctonicum* (3), *Mycrocystis aeruginosa* (3)
Is Barroccus: *Aphanizomenon flos-aquae* (3)
Surigheddu: *Aphanizomenon flos-aquae* (3)
Punta Gennarta: *Microcystis aeruginosa* (3)



Simbirizzi: *Oscillatoria tenuis* (5)
Flumendosa: *Oscillatoria tenuis* (5)
Mulargia: *Dolichospermum planctonicum* (2), *Dolichospermum flos-aquae* (2**),** *Microcystis aeruginosa* (3)
Gusana: *Microcystis aeruginosa* (3)
Liscia: *Dolichospermum planctonicum* (2), *Mycrocystis aeruginosa* (3)

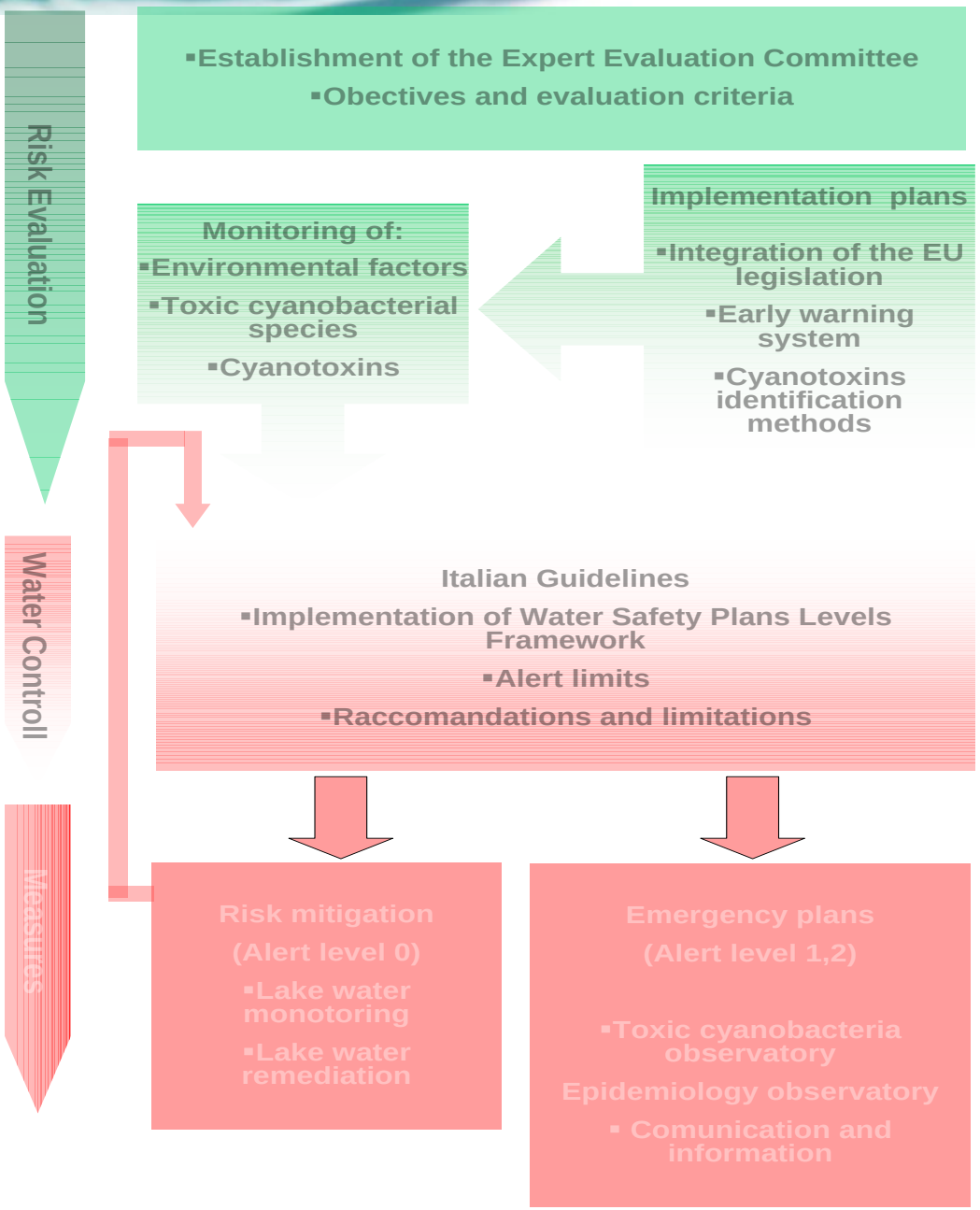
Cedrino: *Dolichospermum planctonicum* (3), *Cylindrospermopsis raciborskii* (4) *Microcystis aeruginosa* (1,3), *Aphanizomenon flos-aquae* (3)
Nuraghe Pranu Antoni: *Microcystis aeruginosa* (3), *Dolichospermum spiroides* (3)
Posada: *Microcystis aeruginosa* (3), *Dolichospermum flos-aquae* (3)
Pattada: *Microcystis aeruginosa* (3)

1 Messineo et al. 2009; 2 Bruno et al. 1994; 3 Sechi 2000; 4 Manti et al. 2005; 5 Bruno et al. 1992

Viaggiu, Morabito & Della Libera, 2011

Frequenza dei cianobatteri in Italia (1992-2010)

Specie	n. laghi	n. 'blooms'	n. tossine	Min	Max
M. aeruginosa	17	8	13	0.5 μg g /ww 2.27×10^{-3} μg/ml	380 μg g /ww 2.3×10^{-3} μg/ml
A. ovalisporum *A. flos-aquae*	5	3	3	3.28×10^{-3} μg/g 2×10^{-4} μg/ml	4235 μg/g 2.1 μg/ml
P. rubescens *P. agardhii*	18	40	11	32 μg g /ww 107 μg g /dw	198.8 μg g /ww 480 μg g /dw
C. raciborskii	3	4	2	0.0915 μg g /ww 0.015 μg/ml	4.6×10^{-4} μg/ml



The work done by the "Italian National group for management of cyanobacteria risks in water intended for human consumption" also led to proposal of an interministerial decree for the introduction, in Annex I part B of Legislative decree no 31, of 2 February 2001, of the parameter "Microcystin-LR" and related parameter value

European research in the field has generated significant risk management capability, although this is still regionally unbalanced.

In April 2012, a COST (European Cooperation in Science and Technology) ESSEM (Earth System Science and Environmental Management) Action ES 1105 "Cyanobacterial blooms and toxins in water resources: Occurrence, impacts and management" has started to coordinate the actions in the European country (2012-16)

The network aims to transfer knowledge and know-how to all European regions: widening awareness, spreading relevant technical competence, and sharing risk management expertise. This will provide tools to end-users by pooling and coordinating expertise and to harmonize methods and practices across Europe, thereby protecting public health, enterprises and investments.

Conclusioni

- I costi imputabili alla gestione delle fioriture algali sono significativi ed incidono sulla spesa sanitaria, sui costi legati al trattamento delle acque destinate al consumo umano, sull'industria del turismo
- Un sistema per il monitoraggio della qualità delle acque, che opera su larga scala e ad alta frequenza, permetterebbe di mantenere sotto controllo l'evoluzione di una fioritura
- L'implementazione di sistemi di allarme preventivo ridurrebbe i costi e gli sforzi necessari per affrontare e controllare gli effetti dannosi di una fioritura algale
- L'osservazione da satellite potrebbe permette un monitoraggio con lo scopo specifico di sviluppare, dalle immagini satellitari, una tecnica per identificare specificamente cianobatteri potenzialmente tossici nei laghi, seguendo la loro dinamica su larga scala e con alta frequenza temporale, minimizzando così l'uso di tecniche di monitoraggio tradizionali, che richiedono molto tempo e costi elevati.