

Direzione Scientifica

Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
 Tel. 080 5460 201
 E-mail: ds@arpa.puglia.it



ARPA PUGLIA
 UOR: DS -
 UOR-CC: SPA
 T. 0034

Unica AOO

Protocollo 0015080 del 09/06/2009



Al

Assessore per le Politiche della Salute

Prof. Tommaso Fiore

SEDE

Regione Puglia

Assessorato Politiche della Salute

Settore Assistenza Territoriale e Prevenzione

c.a. Dr. Fulvio Longo

SEDE

Oggetto: Potenziali rischi per la salute umana legati alla fioritura del cianobatterio *Planktothrix rubescens* nell'invaso di Occhito.

Il cianobatterio *Planktothrix rubescens* è un potenziale produttore di tossine, in particolare microcistine. Le microcistine sono eptapeptidi monociclici (costituiti da sette aminoacidi) con una spiccata idrosolubilità; caratteristica importante di queste tossine è la presenza dell'amminoacido ADDA, tipico dei cianobatteri. Le microcistine possono essere distinte in circa 70 varianti, in dipendenza di variazioni strutturali della molecola principale. Infatti, dei sette aminoacidi cinque sono sempre presenti, mentre due variano nelle posizioni 2 e 4. Per esempio il congener MC-LR, il più tossico conosciuto, è caratterizzato dalla presenza di Leucina ed Arginina nelle posizioni 2 e 4 rispettivamente.

Allo stesso tempo la produzione di microcistina, ed i rapporti tra le sue diverse forme, è regolata da molteplici fattori legati sia al genotipo del ceppo batterico che alle condizioni ambientali al contorno.

Come detto, la tossicità acuta dei congeneri è differente (vedi tabella successiva, tratta da Funari e Testai, 2008), variando in termini di TEF (Toxicity Equivalent Factor) da 1 della MC-LR a 0.1 della MC-RR (10 volte inferiore).

TABLE 5
 Application of TEF method to a mixture of MCs and NOD*

Toxin	Concentration in the mixture ($\mu\text{g/L}$)	i.p. LD ₅₀ ($\mu\text{g/kg}$)	TEF	Toxicity Equivalent
MC-LR	30	50	1.0	30
MC-RR	100	500	0.1	10
MC-YR	15	150	0.33	5
NOD	20	50	1.0	20
MC-AR	60	250	0.2	12
Total	225			77

TEF = Toxicity Equivalent Factor. i.p. = intraperitoneal.
 *As described by Wolf and Frank (2002).



Direzione Scientifica

Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
Tel. 080 5460 201
E-mail: ds@arpa.puglia.it

Per quanto riguarda la tossicità acuta e sub-acuta, i commenti che verranno esposti in seguito sono basati sul principio di precauzione; in assenza di informazioni validate che documentino l'effettiva differenza di tossicità tra le varie forme, si considereranno i dati analitici come relativi alla MC-LR, anche se le risultanze fornite dall'ISS per il caso specifico (fioritura di cianobatteri nell'invaso di Occhito) riportano la quasi esclusiva presenza della forma MC-RR demetilata.

Acqua Potabile

Riguardo l'eventuale rischio cronico associato al consumo di acqua potabile, l'acqua trattata, ed immessa nella rete di distribuzione dopo i processi di potabilizzazione, ha evidenziato nel periodo di monitoraggio (febbraio-maggio 2009) concentrazioni di microcistina totale compresa tra 0.17 e 0.44 µg/l; la mediana della distribuzione dei dati corrisponde al minimo rilevato (0.17), evidenziando che per gran parte del periodo i valori si sono mantenuti estremamente bassi.

Gli ultimi riferimenti bibliografici per l'analisi del rischio associato all'ingestione delle microcistine per mezzo dell'acqua potabile (Funari e Testai, 2008; Rapporto ISTISAN 08/06, 2008), riportano una valore soglia per il rischio cronico (esposizione cronica lungo tutta la vita) pari a 0.04 µg per kg di peso corporeo; ciò significa che un uomo di 60 kg di peso potrebbe assumere 2.4 µg di microcistina al giorno per tutta la vita senza un apprezzabile rischio sanitario. Inoltre, il valore soglia è stato ottenuto secondo un approccio molto conservativo, essendo basato su un NOAEL del topo (*No Observed Adverse Effect Level*, livello massimo non associato ad un effetto) pari a 40 µg/kg di peso corporeo; il valore di 0.04 µg/kg di peso corporeo è stato infine calcolato dividendo il NOAEL per un fattore di incertezza di 1000 dovuto alla moltiplicazione di 3 fattori (10x10x10) che tengono conto (Rapporto ISTISAN 08/06):

- 1) della variabilità interspecifica (i dati sono ottenuti su animali sperimentali e si considera, a scopo puramente cautelativo, che l'uomo possa essere più sensibile);
- 2) della variabilità intraspecifica (si considera che all'interno della popolazione umana possano essere presenti individui più suscettibili per età come bambini e anziani, stati fisio-patologici e per caratteristiche genetiche e/o acquisite);
- 3) della mancanza di dati di tossicità cronica*

* il NOAEL sopra riportato si riferisce ad uno studio sub-cronico sul topo, esposto alle tossine per 1/6 dell'intero arco della sua vita.

Anche sulla base di tali evidenze l'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), ha proposto un limite di concentrazione nelle acque potabili pari a 1 µg/l. Tale limite è stato ottenuto mediante la formula sotto riportata, avendo considerato il valore soglia (TDI) pari a 0.04 µg per kg di peso corporeo, che l'assunzione attraverso l'acqua potabile rappresenti l'80% della assunzione totale (Allocation Factor, AF), ed un consumo di 2 L di acqua/giorno per una persona di 60 kg di peso:

$$GV = \frac{TDI \times \text{peso corporeo} \times AF}{\text{consumo giornaliero (C)}} = \frac{0,04 \mu\text{g/kg} \times 0,8 \times 60 \text{ kg}}{2\text{L}} \cong 1 \mu\text{g/L}$$

4



Direzione Scientifica

Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
Tel. 080 5460 201
E-mail: ds@arpa.puglia.it

Il limite OMS non è stato mai nemmeno avvicinato nelle acque potabilizzate derivanti dall'invaso di Occhito (periodo di monitoraggio febbraio- maggio 2009), che quindi possono considerarsi a scarso o nullo rischio sanitario cronico.

Il rischio acuto si prefigura con l'ingestione di quantità di microcistine superiori a 2.5 µg/kg di peso corporeo, corrispondenti per un uomo di 60 kg di peso corporeo ad un totale di 150 µg (Funari e Testai, 2008; Rapporto ISTISAN 08/06, 2008). Anche in questo caso la soglia è stata ottenuta mediante un approccio conservativo; si moltiplica il valore minimo di NOAEL per gli effetti acuti (pari a 25 µg/kg, ottenuto da studi sul rischio acuto in topi) per 10 (fattore di correzione nel passaggio tra somministrazione intraperitoneale e quella per via orale, stabilito sull'evidenza delle differenze, nell'ordine di 30-100 volte, tra le due somministrazioni) ed utilizzando un fattore di incertezza pari a 100 (10x10; 10 per estrapolazione animale-uomo, 10 per variabilità intraspecie e per protezione individui suscettibili).

Dose massima non associata ad effetto acuto:

$$= \frac{\text{NOAEL acuto} \times \text{Peso Corporeo} \times \text{Fattore Correzione}}{\text{Fattore di Incertezza}} = \frac{25 \mu\text{g/kg} \times 60 \text{ kg} \times 10}{100} = 150 \mu\text{g/per persona}$$

Il rischio sub-acuto si prefigura con l'ingestione di quantità di microcistine superiori a 24 µg/persona al giorno, come indicato in letteratura per questa tipologia di rischio (Funari e Testai, 2008; Rapporto ISTISAN 08/06, 2008). Tale soglia, come descritto anche in precedenza (in riferimento al rischio cronico), è stata elaborata sulla base del NOAEL sub-acuto, al quale vengono applicati gli opportuni fattori di incertezza (in questo caso due, 10x10; 10 per estrapolazione animale-uomo, 10 per variabilità intraspecie e per protezione individui suscettibili).

Sulla base di quanto appena riportato, in accordo ai dati analitici sulla matrice "acqua", nessun tipo di rischio (cronico, sub-acuto o acuto) si può dunque associare al consumo di acqua potabilizzata derivante dall'invaso di Occhito.

Prodotti della pesca e dell'acquacoltura

Nel caso dei prodotti della pesca occorre innanzitutto premettere che nello specifico è necessario distinguere i due differenti scenari: A) prodotti raccolti in altri corpi idrici a valle dell'invaso, che possono essere stati raggiunti dal cianobatterio in maniera indiretta (trascinamento delle acque o piene); B) prodotti raccolti nel sito di fioritura di *Planktothrix rubescens* (invaso di Occhito).

Il primo caso si riferisce ovviamente alle acque marino-costiere in prossimità della foce del Fiume Fortore.

Nelle acque marino-costiere in questione, caratterizzate da salinità superiori a 36/37 PSU, il cianobatterio teoricamente non potrebbe vivere, essendo specie dulciacquicola stenohalina (salinità max tollerata = 4,3 PSU, Rapporto ISTISAN 08/06); questo assunto di base, insieme alla



Direzione Scientifica

Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
Tel. 080 5460 201
E-mail: ds@arpa.puglia.it

eccezionalità dell'evento di tracimazione delle acque dall'invaso, e alla discontinuità ed occasionalità delle piene del Fortore, indirizza l'analisi del rischio ad episodi acuti o sub-acuti.

I risultati delle analisi prodotte dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata (IZS), su campioni di organismi marini (mitili e vongole), hanno evidenziato nel periodo di monitoraggio (29 aprile – 25 maggio 2009) concentrazioni di microcistina totale compresa tra 1 e 256 µg/kg di parte edule; la mediana della distribuzione dei dati corrisponde a 23.58 µg/kg di parte edule. Secondo gli ultimi riferimenti bibliografici sull'analisi del rischio associato all'ingestione delle microcistine per mezzo di prodotti ittici (Funari e Testai, 2008; Rapporto ISTISAN 08/06, 2008) il rischio acuto si prefigura con l'ingestione di quantità di microcistine superiori a 2.5 µg/kg di peso corporeo, corrispondenti per un uomo di 60 kg di peso corporeo ad un totale di 150 µg, come già descritto in precedenza.

Il valore massimo stimato nei mitili campionati è stato pari a 256 µg/kg (campione prelevato nelle acque marino-costiere in prossimità di Varano, in data 04/05/2009); considerato che mediamente e plausibilmente un pasto a base di mitili non supera la quantità pro-capite di 300 g di parte edule (comprese le valve del mollusco si arriverebbe a più di 1 kg), si può ipotizzare che per quell'unico lotto di mitili la quantità di microcistina potenzialmente ingeribile dall'uomo sia stata di circa 86 µg per persona, e quindi inferiore alla soglia per il rischio acuto. Inoltre, come riportato dalla nota dell'IZS, "*le microcistine presenti sono prevalentemente del tipo RR demetilato*", e quindi con tossicità equivalente minore, e sempre sulla base di tale rapporto nel campionamento successivo la concentrazione di microcistine nei mitili risultava drasticamente calata.

Per l'analisi del rischio sub-acuto si è fatto riferimento alla mediana dei dati analitici, valore pari a 23.58 µg/kg di parte edule; se, come detto, un pasto a base di mitili non supera la quantità pro-capite di 300 g di parte edule, la quantità media giornaliera potenzialmente ingerita nel periodo di osservazione risulta nell'ordine di 8 µg. Tale valore è inferiore alla soglia di 24 µg/persona al giorno proposta in letteratura per questa tipologia di rischio (Funari e Testai, 2008; Rapporto ISTISAN 08/06, 2008). Tale soglia, come descritto anche in precedenza, è stata elaborata sulla base del NOAEL sub-acuto/sub-cronico, al quale vengono applicati gli opportuni fattori di incertezza.

Riassumendo, al momento non sembrano sussistere le condizioni per un rischio acuto o sub-acuto/sub-cronico in merito al consumo di organismi prelevati nelle acque marino-costiere in prossimità della foce del fiume Fortore. Per quanto riguarda invece la pesca nell'invaso di Occhito, sito specifico della fioritura di *Planktothrix rubescens* e nelle cui acque sono state rilevate le più alte concentrazioni in assoluto di microcistine, si ritiene, data l'attuale mancanza di un numero congruo di dati analitici sulla particolare matrice (pesci), di mantenere a scopo cautelativo e precauzionale il divieto di pesca, anche perché l'apporto del pescato di Occhito è minimale per l'area complessiva in termini di approvvigionamento di risorse alimentari.

Carne e latte

Dalla bibliografia di riferimento si evince che il rischio di qualsiasi tipo associato al consumo di carne o latte sia del tutto negligibile, questo probabilmente a causa della natura stessa delle microcistine, molecole idrofiliche come riportato in premessa e dunque facilmente escrete dagli



ARPA PUGLIA
Agenzia Regionale per la
Prevenzione e la Protezione
dell'Ambiente

Sede legale
Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
Tel. 080 5460.111
Fax 080 5460 150
C.F. e P.I. 05830420724
Internet: www.arpa.puglia.it

Direzione Scientifica

Corso Trieste, 27 - 70126 Bari
Tel. 080 5460 201
E-mail: ds@arpa.puglia.it

animali allevati. A conferma, le informazioni scientifiche disponibili sull'argomento non hanno mai riportato la presenza di queste tossine nelle carni o nel latte (Funari e Testai, 2008).

Verdure

La letteratura scientifica riporta di casi in cui alcuni vegetali potevano trattenere microcistine, ma solo quando venivano irrigati con schiume o con acque contraddistinte da imponenti fioriture di cianobatteri (Funari e Testai, 2008). Quando invece irrigati con acque a concentrazione di microcistine inferiori a 10 µg/l, nessun rischio per la salute umana ne può derivare (Funari e Testai, 2008); nel nostro caso, la mediana della distribuzione dei dati di concentrazione di microcistina, rilevati direttamente nell'invaso nel periodo febbraio-maggio 2009, è risultata pari a 5.20 µg/l, quindi al di sotto della citata soglia.

Considerazioni conclusive

Allo stato attuale, il rischio sanitario associato alla contaminazione delle acque dell'invaso di Occhito da parte delle microcistine prodotte dal cianobatterio *Planktothrix rubescens* sembra minimo; ciò nonostante è opportuno continuare il monitoraggio per tenere sotto adeguato controllo il fenomeno, gestirlo e darne debita informazione alla popolazione.

Per quanto riguarda alcuni aspetti di precauzione, sarebbe utile non favorire gli effetti sinergici legati all'assunzione di microcistine da fonti differenti (vedi integratori alimentari a base di cianofeece, i.e. *Spirulina*), così come si ritiene che la chiusura alla pesca e/o raccolta di prodotti ittici a scopo alimentare, solo nell'area in cui effettivamente è in corso la fioritura, possa essere una misura idonea, vista la scarsa importanza sociale ed economica di questa attività nell'invaso di Occhito. Viceversa, per il consumo di prodotti ittici raccolti in mare non si evidenziano particolari rischi.

Distinti Saluti,

IL DIRETTORE SCIENTIFICO
(Dr. Massimo Blonda)

IL DIRETTORE GENERALE
(Prof. Giorgio Assennato)