

**ISTRUZIONI OPERATIVE PER LA RACCOLTA DI CAMPIONI DI ACQUA
PER L'ANALISI DI FITOPLANCTON POTENZIALMENTE PRODUTTORE DI BIOTOSSINE MARINE,
IN CONFORMITA' AL REG. DI ESECUZIONE (UE) 2019/627**

Ambito di applicazione

Queste Istruzioni Operative (IO) illustrano le modalità di raccolta di acqua di mare nelle aree di produzione soggette al monitoraggio del fitoplancton produttore di biotossine marine, in conformità a Reg. di esecuzione UE 2019/627 e secondo le indicazioni contenute nelle Linee Guida EU *"Monitoring of Toxin-producing Phytoplankton in Bivalve Mollusc Harvesting Areas. Guide to Good Practice: Technical Application"*.

Posizione dei punti di campionamento

Ogni zona classificata per la raccolta dei MBV deve contenere almeno una stazione di monitoraggio per rilevare l'eventuale presenza di fitoplancton tossico nella colonna d'acqua. Tali stazioni devono essere rappresentative dei rischi associati al fitoplancton all'interno dell'area di produzione, tenendo conto dell'idrografia del sito.

Le "unità di gestione" rappresentano settori di una stessa area o gruppi di aree diverse che potrebbero essere soggette a gestione diversificata (es. eventuali chiusure, tempistiche di campionamento).

Se un'area è suddivisa in unità di gestione diverse, ogni unità dovrebbe contenere almeno un punto di campionamento rappresentativo, a meno che uno studio non abbia determinato che l'intera area è caratterizzata da un unico profilo di rischio basato sul fitoplancton.

Aree diverse, adiacenti e di piccole dimensioni, caratterizzate dallo stesso profilo di rischio per fitoplancton, possono essere trattate come un'unica unità di gestione se una adeguata valutazione di rischio lo conferma (es. valutazione dei dati per la classificazione della macroarea come omogenea).

I punti di campionamento per essere rappresentativi devono individuare:

- 1) il rischio più elevato di fioriture di fitoplancton tossico all'interno di un'area di produzione;
- 2) se esiste un rischio elevato di ingressione di fitoplancton tossico da fonti esterne all'area di produzione; in questo caso è necessario individuare un punto aggiuntivo di campionamento;
- 3) i campioni di fitoplancton devono essere prelevati contestualmente a quelli dei MBV;
- 4) i punti di campionamento devono essere geolocalizzati con una precisione di 10 ± 5 m.

Principio del metodo

Lo scopo di queste IO è di adottare pratiche uniformi per la raccolta di campioni rappresentativi di fitoplancton produttore di biotossine nelle aree di produzione.

La prima variabile da prendere in considerazione è quella della profondità del sito:

- 1) stazioni con profondità <5m: il campione d'acqua può essere già considerato rappresentativo se prelevato nei primi 2m; questo può essere fatto utilizzando un secchio, una bottiglia del tipo di Niskin (FIG.1) o un campionatore a tubo rigido in PVC (FIG.2) dotato di un tappo (o una valvola) all'estremità superiore; in alternativa può essere utilizzato un tubo flessibile (FIGG.3-4). In tutti i casi occorre fare attenzione a non avvicinarsi troppo al fondale per non contaminare il campione con il sedimento.



Fig.1. Bottiglia di Niskin. In: Reguera et al., 2016.

Fig.2. Sampling PVC tube (In: Reguera et al., 2016)

2) stazioni con profondità >5m: il campionamento deve avvenire in modo da generare un "campione integrato", rappresentativo dell'intera colonna d'acqua occupata dall'allevamento di MBV. In questo caso per il campionamento si utilizzerà un tubo flessibile in PVC che deve avere una lunghezza sufficiente a raggiungere la parte più profonda dell'allevamento e un diametro interno non inferiore a 2 cm.

Nelle stazioni poco profonde il tubo flessibile può essere sostituito con lo stesso tubo rigido di cui sopra (FIG.2).

Il campionamento integrato, soprattutto in caso di stazioni molto profonde (>30m), può essere effettuato miscelando campioni discreti prelevati tramite bottiglie oceanografiche (es. di Niskin, FIG.1).

Campionamento accessorio: per uno studio dettagliato delle popolazioni fitoplanctoniche risulta essere molto utile effettuare un campionamento accessorio tramite retino da plancton (procedura descritta nella EN 15972:2011, si veda allegato), che restituirà però solo informazioni di tipo qualitativo.

Istruzioni per il campionamento tramite tubo flessibile (campionamento integrato)

Materiali:

- tubo per il campionamento integrato (con rubinetto o tappo, zavorra e cima), con diametro non inferiore a 2 cm;
- secchio per l'omogenizzazione del campione;
- bottiglie scure in PVC (500-1000 mL);
- soluzione di lugol (neutra o acida).

Il tubo flessibile nella parte terminale è zavorrato ed è collegato ad una corda; viene calato alla profondità massima in cui è posizionato l'allevamento quindi viene chiusa l'estremità che rimane fuori dall'acqua (con un rubinetto o un tappo) e viene quindi ritirato a bordo tramite la cima (FIG.3).

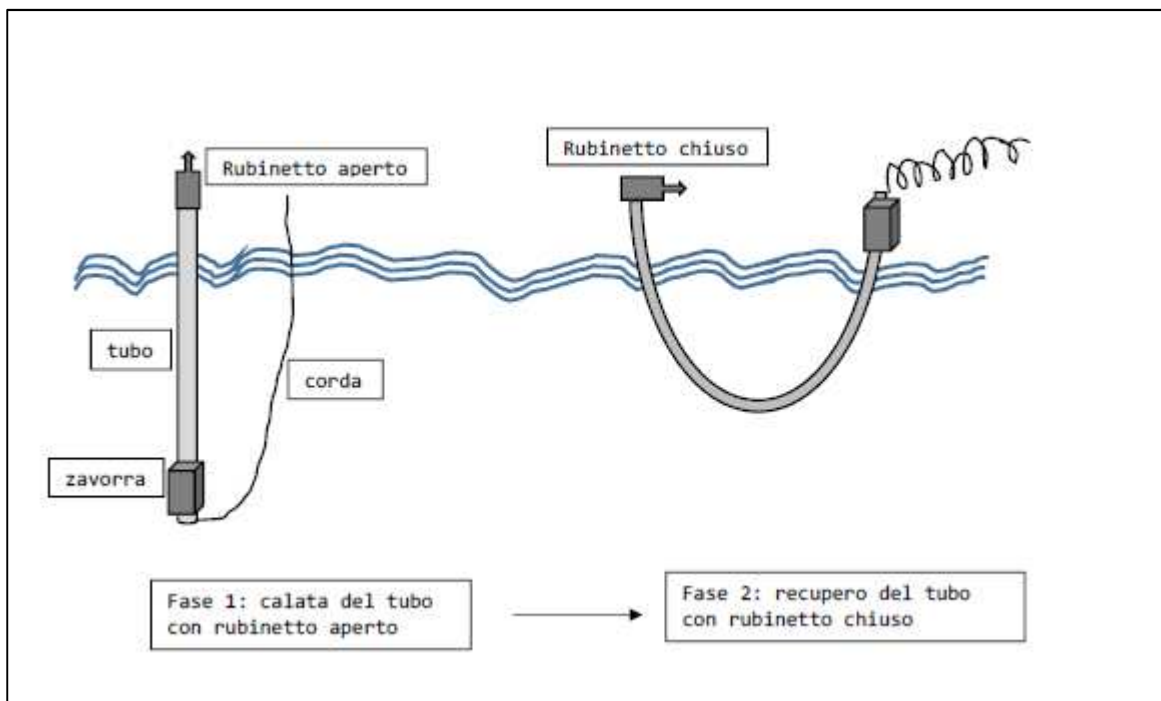


Fig.3. Schema di utilizzo del tubo flessibile per il campionamento integrato

Il tubo deve essere abbassato con il rubinetto aperto (o senza tappo) ad una velocità $<20\text{m/min}$ e con l'aiuto di una zavorra ancorata all'estremità inferiore per garantire una discesa verticale.

Per la calata del tubo si può utilizzare un verricello o un carrello avvolgitubo.

Il tubo è opportunamente contrassegnato (con nastro isolante colorato) a intervalli di 1 m in modo da poter stimare la profondità da raggiungere (si raccomanda di non toccare mai il fondale, in quanto la presenza di detrito inficerebbe la lettura del campione al microscopio). Una volta completamente abbassato, viene chiuso il rubinetto e il tubo viene recuperato attraverso una

cima legata in prossimità della zavorra. Una volta a bordo l'acqua contenuta all'interno del tubo viene raccolta in un secchio aprendo il rubinetto; il campione viene adeguatamente omogenizzato quindi si preleva un subcampione (di 500-1000mL) per il laboratorio.



Tubo flessibile in PVC (diametro di almeno 2 cm), contrassegnato ogni metro; all'estremità che va immersa è presente una zavorra (almeno 3 kg), all'estremità opposta è presente un rubinetto.



Legare una corda alla zavorra per facilitare il recupero del tubo.



<p>Aprire il rubinetto prima di immergere il tubo</p>	<p>Far scendere il tubo facendo attenzione a non toccare il fondale</p>	
	<p>Raggiunta la profondità stabilita chiudere il rubinetto.</p> <p>Procedere a recuperare il tubo tramite la cima legata all'estremità del tubo.</p>	
		
<p>Posizionare la parte terminale del tubo in un contenitore</p>	<p>Aprire il rubinetto</p>	<p>Raccogliere il campione. Miscelare con delicatezza</p>
	<p>Prelevare un subcampione di 500-1.000 mL da consegnare al laboratorio.</p> <p>Risciacquare accuratamente il tubo con acqua dolce</p>	

Fig.4. Immagini tratte da: SCOTTISH ASSOCIATION for MARINE SCIENCE, Guidelines on Collection of Water Samples for Phytoplankton Analysis (february, 2012).

Se la consegna è rapida (entro 8-12 h) il campione può essere mantenuto t.q. in bottiglie scure ad una temperatura di circa 10°C o a temperatura non superiore a quella del punto di prelievo. Diversamente il campione deve essere fissato con soluzione di Lugol (si aggiungono circa 2,5 mL di sol. di Lugol/1L di campione, comunque fino ad ottenere una colorazione *cognac*). Istruzioni dettagliate sul "Campionamento, trasporto e conservazione dei campioni" sono reperibili nella norma EN 15972:2011.

In tutti i casi, la bottiglia che deve essere consegnata al LU non deve essere riempita fino all'orlo, ma deve essere lasciato uno spazio adeguato per permettere l'omogenizzazione del campione.

Una volta effettuato il campionamento tutta l'attrezzatura deve essere accuratamente risciacquata con acqua dolce.

Riferimenti

Anon 2019. Monitoring of Toxin-producing Phytoplankton in Bivalve Mollusc Harvesting Areas. Guide to Good Practice: Technical Application. Issue, 1. <https://www.aesan.gob.es/en/CRLMB/web/home.html>.

EN 15972:2011. Water quality. Guidance on quantitative and qualitative investigations of marine phytoplankton.

EN 15204:2006. Water quality. Guidance standard on the enumeration of phytoplankton using inverted microscopy (Utermöhl technique).

Regolamento di esecuzione (UE) 2019/627 della Commissione del 15 marzo 2019 che stabilisce modalità pratiche uniformi per l'esecuzione dei controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano in conformità al regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento (CE) n. 2074/2005 della Commissione per quanto riguarda i controlli ufficiali.

Reguera, B., Alonso, R., Moreira, A., Méndez, S., Decharaoui-Bottein, M.-Y. (Eds). 2016. Guide for designing and implementing a plan to monitor toxin-producing microalgae. 2nd Ed. Intergovernmental oceanographic Commission (IOC) of UNNESCO and International Atomic Energy Agency (IAEA), Paris and Vienna. IOC Manuals and Guides, 59. 66 pp.

ALLEGATO: Istruzioni per l'utilizzo del retino da plancton

ISTRUZIONI UTILIZZO RETINO DA PLANCTON

diametro anello metallico = 40 cm
porosità della rete = 20 μm (0,02 mm)

1. COME SI PRESENTA IL RETINO

è composto da un anello metallico (legato ad una cima) e da una rete di nylon a forma di cono che termina con un aggancio a ghiera.



2. CONTENITORE E ZAVORRA

avvitare alla ghiera una bottiglia di plastica (volume = 0,5 litri) a cui ancorare una zavorra (peso = 2 Kg)



3. LA CALATA

Agganciare il retino ad una cima su cui sono contrassegnati i metri, quindi tuffarlo in acqua fino alla profondità massima dell'allevamento (annotare i metri)



4. RECUPERO

recuperare lentamente il retino portandolo a bordo; cercare di raccogliere dentro la bottiglia la maggior parte dell'acqua depositata nella parte finale del retino. Svitare la bottiglia contenente l'acqua di mare concentrata.



IMPORTANTE

- ricordarsi di annotare la profondità massima a cui si è calato il retino;
- tra un punto di prelievo e l'altro occorre fare una calata per "avvinare" il retino;
- a fine lavori sciacquare accuratamente il retino con acqua dolce e asciugarlo all'aria prima di riporlo.

Esempio di modulo per raccolta dati

Data	ora	Nome allevamento	Coordinate punto di prelievo	Profondità calata (metri)