



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

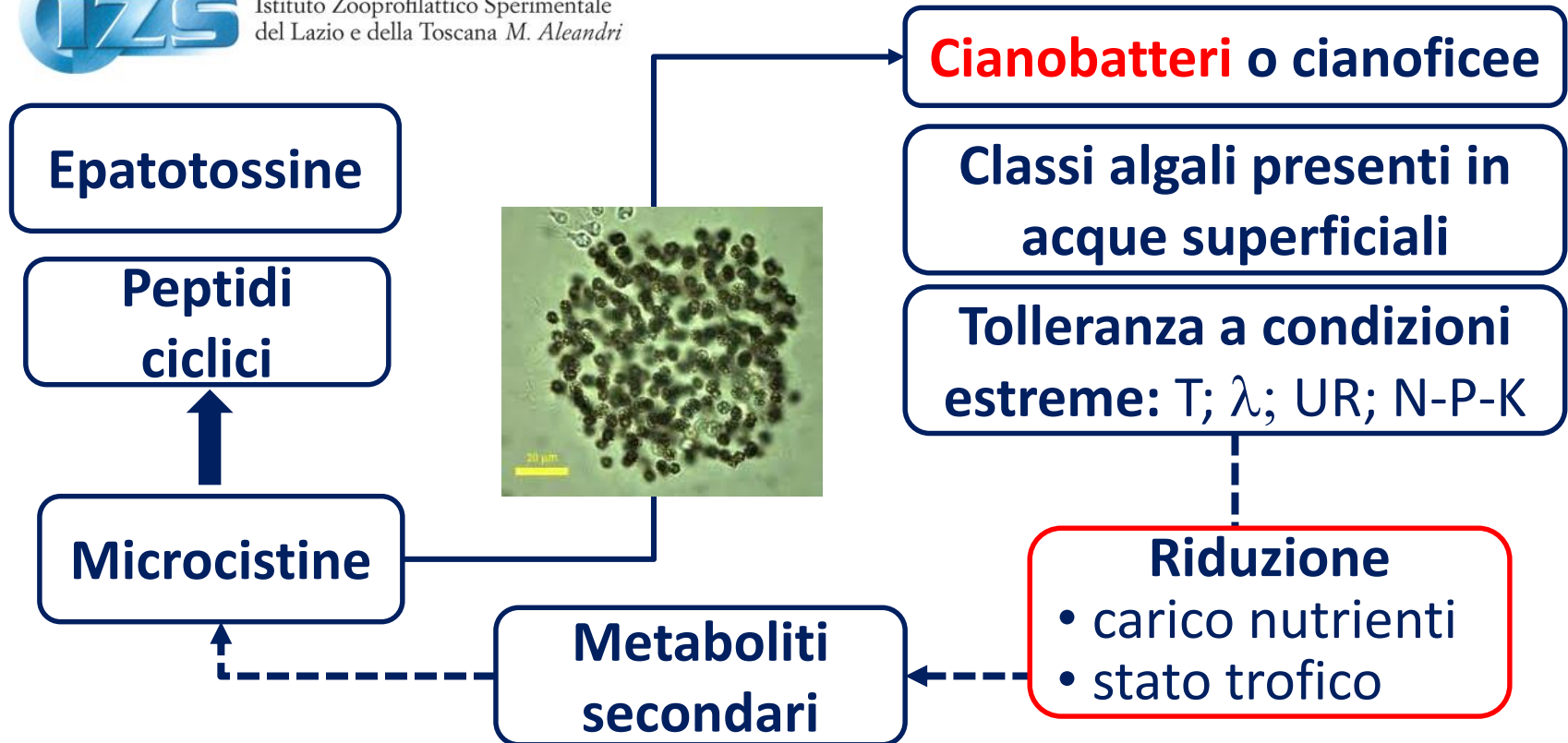
**L' ATTIVITÀ DI RICERCA CORRENTE PRESSO L'IZS LAZIO E TOSCANA:
principali risultati e loro trasferibilità operativa
Roma, 19 giugno**

**Microcistine in prodotti ittici pescati da laghi del Lazio e
della Toscana: valutazione dell'andamento delle
concentrazioni in relazione alla stagionalità**

Luigi Lanni

UOSD Acettazione e Servizi Interdisciplinari



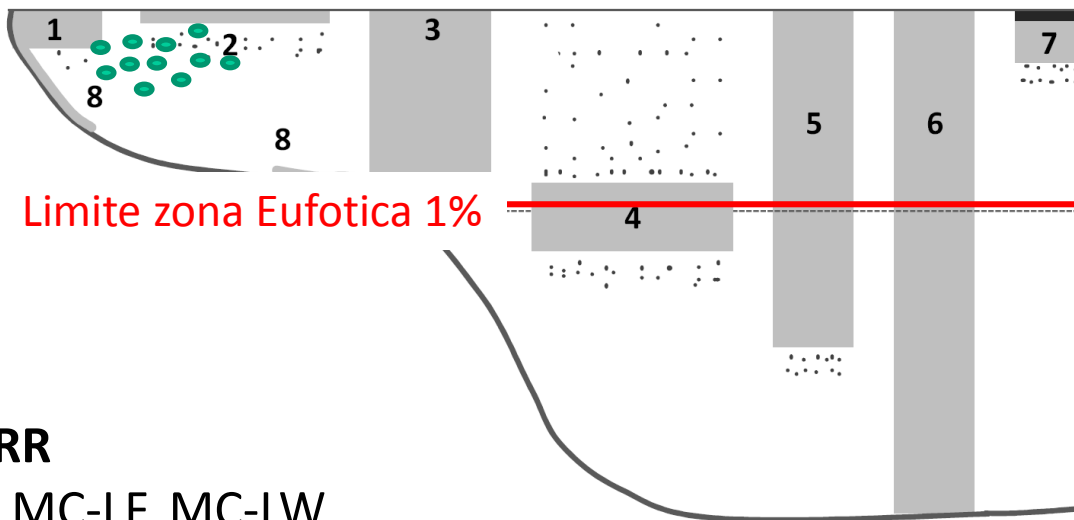
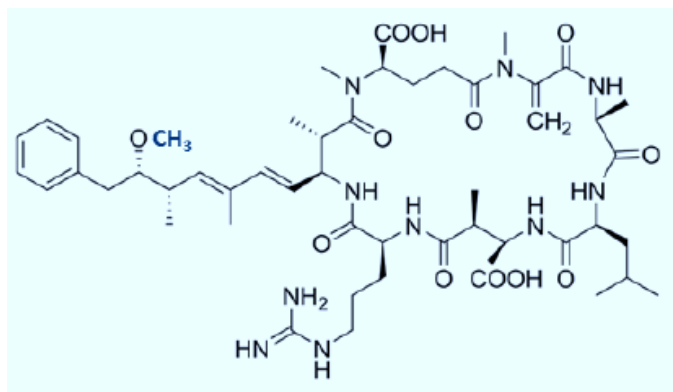


Vie di esposizione

Orale	Acqua potabile, ricreazionale, ittici
Polmonare	Areosol, spray ricreazionale, lavoro, ecc
Cutanea	Attività ricreazionale, lavoro, ecc



- molecole endocellulari
- stabili e persistenti anche in assenza di luce



Isomeri più diffusi: **MC-LR, MC-RR**

Diversi epimeri: **MC-YR, MC-LA, MC-LF, MC-LW**

Fattori che determinano la produzione di tossine

- Variabilità genetica
- Dinamica della popolazione
- Fattori ambientali

$T; \lambda; UR; N-P-K$





Limiti di riferimento

Matrice	valore
Acqua potabile	1 µg/L (OMS guidance value)
Acqua di balneazione	25 µg/L
Ittici	-

- **Valutazione del livello di MCs nelle specie oggetto di monitoraggio e valutazione dell'andamento delle concentrazioni in relazione alla stagionalità**
- **Caratterizzazione molecolare delle principali specie, fresche o trasformate, in cui possono essere riscontrate le MCs**

2 linee di attività tra loro correlabili





Vico



Massaciucoli

1) Caratterizzazione dei Siti

2) Specie target e taglia

- prospetto delle specie TARGET d'analisi specie di interesse commerciale e ricreazionale
- Selezione del target genico elettivo per la caratterizzazione molecolare





3) Strategie di pesca

4) Identificazione dei punti di campionamento

5) Periodi riproduttivi

6) Frequenza di campionamento e n. soggetti

7) Trasporto e conservazione del campione

Analisi per id specie

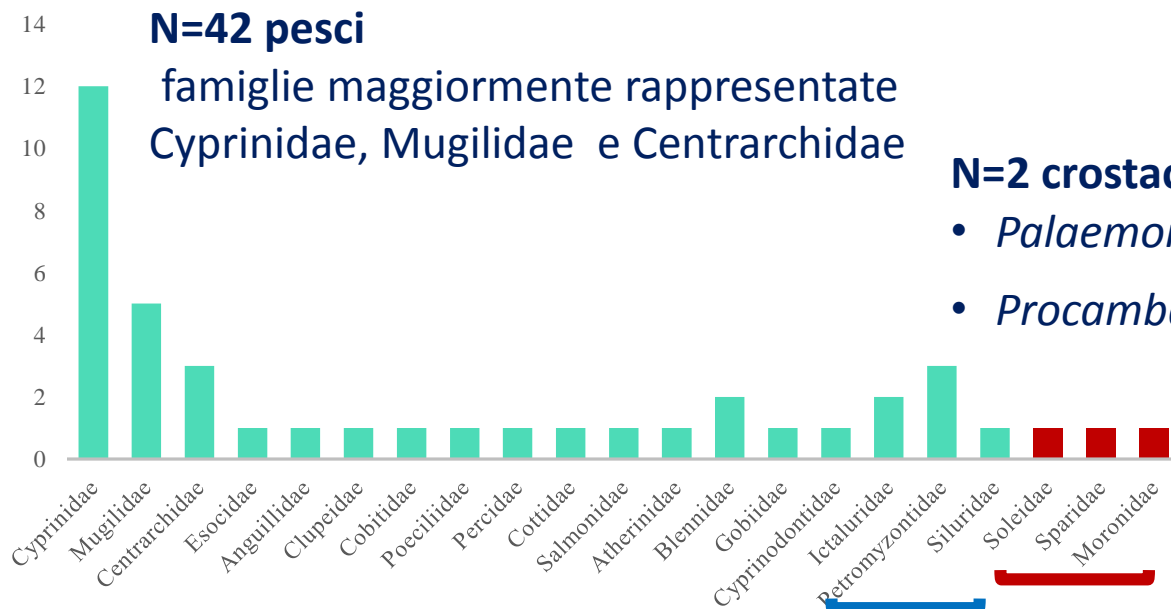
- sequenze di riferimento per target molecolari (mDNA)
- valutazione della variabilità inter e intraspecifica: filogenesi (bilbiografia), identificazione molecolare

Analisi per MCs

- id tessuti in funzione dell'elezione e modalità di vendita/consumo
- Kit commerciali specifici per le acque MC-LR e rileva con diversi gradi di affinità i congeneri MC-RR, MC -YR e Nodularine



Numero totale di specie (bibliografia/verifica in situ)



N=2 crostacei

- *Palaemonetes antennarius*-(Palaemonidae)
- *Procambarus clarkii* - (Cambaridae)

Segnalate modificazioni della biodiversità della fauna ittica conseguenti all'introduzione volontaria, o a scopo ricreazionale, o involontaria di numerose specie ittiche alloctone e aliene



Sequenze di riferimento: valutate 635 specie

verifica effettuata per tutte le specie target individuate (n=44) ed estesa a tutti i congeneri

- a. *COI*: disponibili sequenze di riferimento per **tutte** le specie incluse
- b. *cytb* : **assenza di sequenze** di riferimento in numerose specie della famiglia Cyprinidae (comprendente circa il 30% delle specie presenti nei bacini).
- c. *16S rRNA* **assenza di sequenze** di riferimento per numerose famiglie di interesse

Variabilità inter e intraspecifica dei target

- a. *COI*: variabilità intraspecifica, significativamente inferiore di quella interspecifica in numerose famiglie numerose famiglie di interesse

Limiti : introgressione genica in specie della famiglia Cyprinidae ed Ictaluridae per ibridazioni interspecifiche; *overlap* significativo tra variabilità intra ed interspecifica all'interno della famiglia Petromyzontidae.

- b. *Cytb*: elevata variabilità intraspecifica riscontrata in specie dei generi di *Barbus* sp. e *Tinca* sp. → diminuzione significativa del potere discriminante del target considerato.

Non costituisce un target alternativo di prima scelta





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Specie aliene non in equilibrio con l'ecosistema locale costituiscono un rischio la biodiversità dei bacini in studio

..... ***Acque di transizione ed acque interne***

Sparus aurata (orata) *Dicentrarchus labrax* (branzino) e *Solea solea* (sogliola): spiccata capacità di adattamento a variazioni di salinità

..... ***Acque di transizione***



Kit ELISA determinazione semiquantitativa

a. Facilità d'uso

b. Semiquantitativi: legano più congereri MCs + NOD

1) differente tossicità

2) massima reattività verso MC-LR

3) curva taratura (0,1-0,2-0,4-0,8-1,6 µg/L)

4) espressione in µg MC-LR eq/Kg tessuto

5) prove recupero

6) efficienza di estrazione

Macro e micronutrienti

- Fertilizzazione
- Trattamenti antiparassitari

Classificazione precipitazioni

< 2 Pioggia debole

2-6 Pioggia moderata

6-10 Pioggia forte

10-30 Rovescio temporalesco

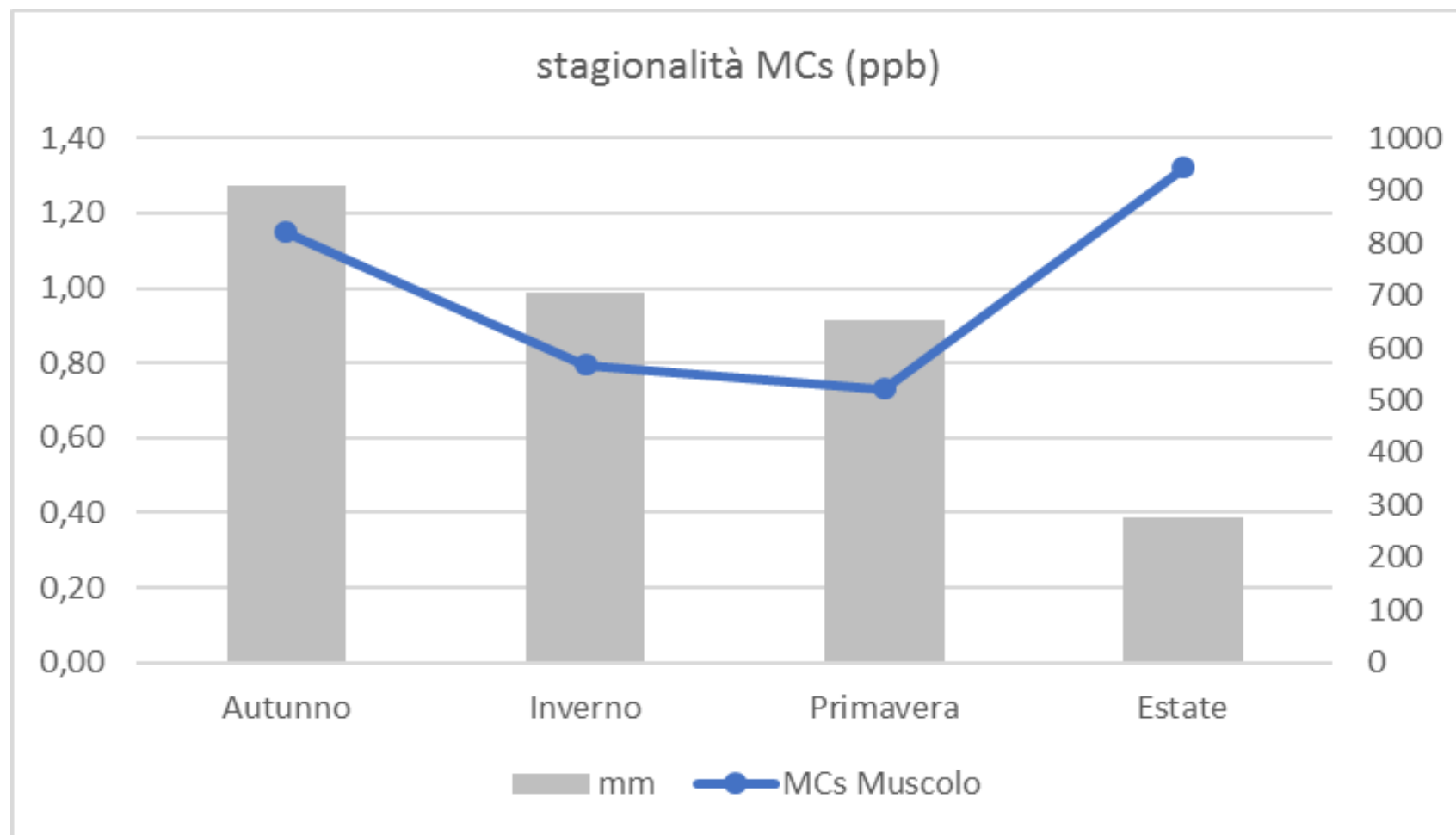
> 30 Nubifragio



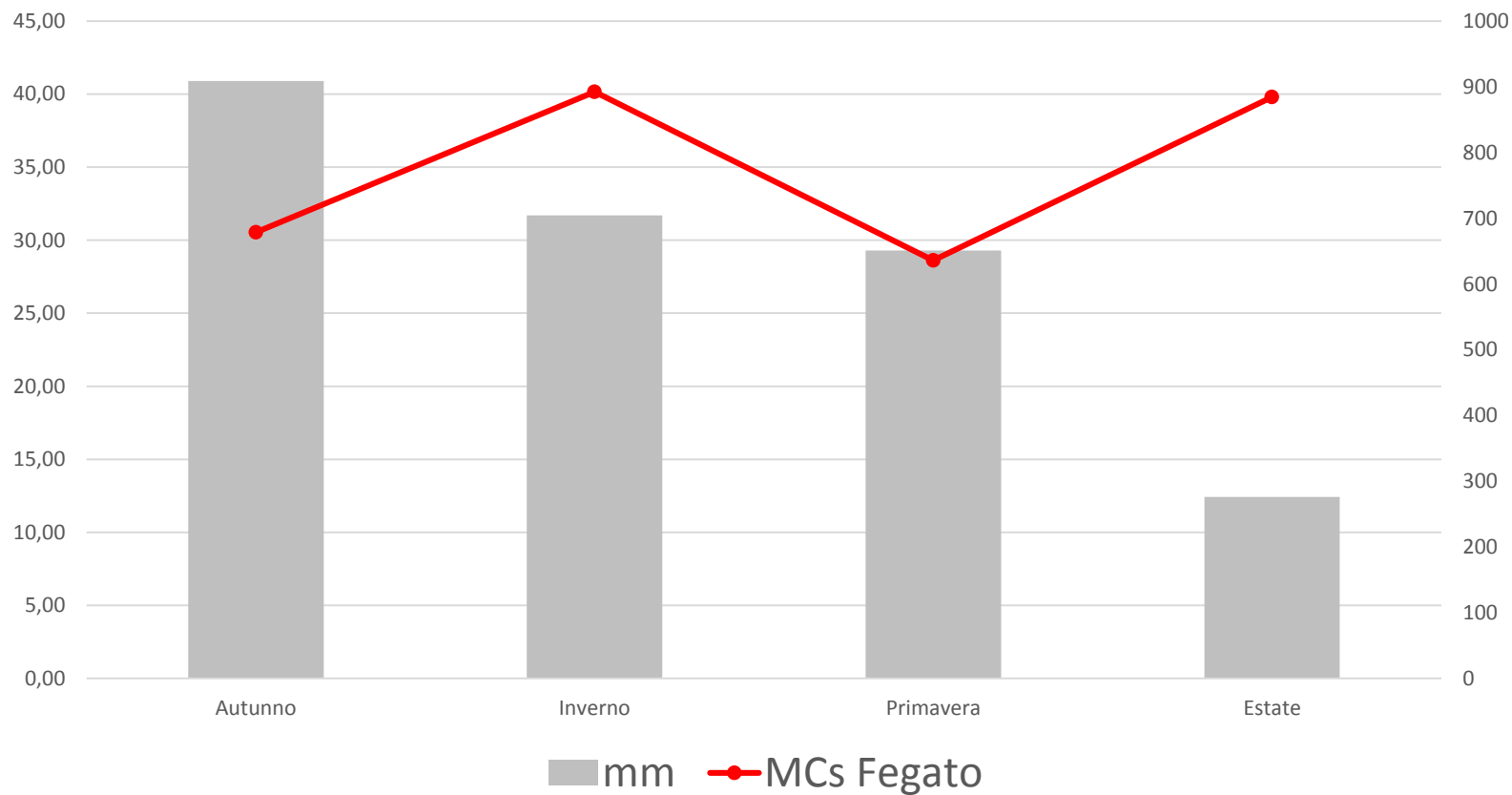
Massaciuccoli	Muscolo	Fegato
	Max	Max
Serie non storica	0,14 ±0,03 ppb	0,95±0,27 ppb

VICO	Muscolo				Fegato			
	mean	dev.std.	min	max	mean	dev.std.	min	max
Autunno 1	1,10	1,03	0,11	3,11	29,02	18,13	7,12	59,57
Autunno 2	1,17	0,47	0,24	1,97	31,24	13,52	11,71	55,79
Estate 1	0,90	0,16	0,79	1,02	39,71	11,58	24,01	56,07
Estate 2	1,41	0,37	0,62	2,07	39,87	7,96	29,65	51,32
Inverno 1	0,93	0,98	0,21	2,37	56,26	5,58	51,48	64,18
Inverno 2	0,66	0,30	0,34	1,03	27,28	4,14	20,36	31,56
Primavera 1	0,62	0,30	0,31	1,34	32,40	7,43	19,59	45,77
Primavera 2	1,32	0,13	1,22	1,51	36,77	17,55	20,10	64,29
Primavera 3	0,60	0,26	0,30	1,08	18,63	9,70	13,52	43,97





stagionalità MCs (ppb)



La metodologia ed i risultati ottenuti permettono

1) **Impatto locale**

- Valutazioni specifiche con le parti interessate
- Divieti di pesca *considerazioni*
- Modalità di consumo
- Identificazione delle specie in situ e loro gestione
- Monitoraggio programmabile

2) **Metodo**

- Expertise non eccessiva
- Costi contenuti
- Identificazione di specie target
- Sovrastima delle concentrazioni
- Supporto ai metodi chimici a maggiore specificità





**COI target d'elezione, da associare ad un target alternativo diverso dal cytb
→ necessari ulteriori studi**

**Sovrastima delle concentrazioni in linea con principio di precauzione
(art. 7 Regolamento 178/2002 smi)**

Differenze tra medesime specie in ambienti diversi (acque di transizione ed acque interne)

Possibilità di commercializzare specie eviscerate → nuove attività commerciali e sostegno all'economia locale



contributo offerto per la definizione del rischio

Considerato il **valore di TDI pari a $2,5 \mu\text{g/Kg p.c.}$** quale riferimento per il rischio di tossicità acuta, **i valori medi riscontrati nei tessuti muscolari dei coregoni ($1,41 \pm 0,37 \text{ ppb}$) sono risultati essere inferiori al suddetto valore.**

Considerando infatti il valore medio massimo riscontrato nei tessuti muscolari di coregone (pari a $1,8 \text{ ng MC eq/g pesce}$), supponendo che un uomo adulto di 60 Kg consumi una porzione pari a 300g di pesce, si avrebbe una ingestione di tossina pari a circa $0,54 \mu\text{g}$, equivalente a $0,009 \mu\text{g MC eq/Kg p.c.}$, inferiore al valore di TDI necessaria a determinare un rischio da tossicità acuta.





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana *M. Aleandri*

