

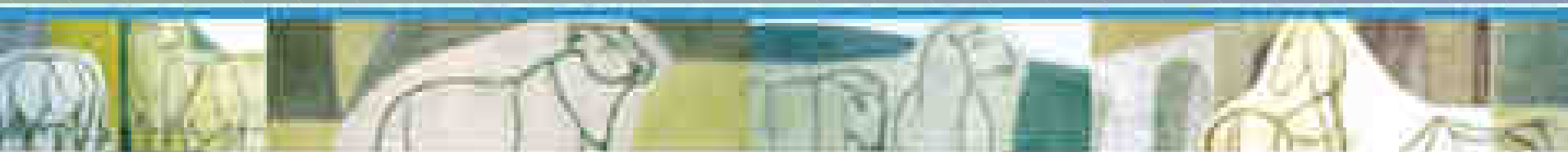
Progetto Formativo Aziendale
AGGIORNAMENTO SULLE ATTIVITÀ DI RICERCA
DELLA DIREZIONE OPERATIVA CONTROLLO DEGLI
ALIMENTI



Microcistine nei prodotti della pesca dai Laghi del Lazio

12 Giugno 2018

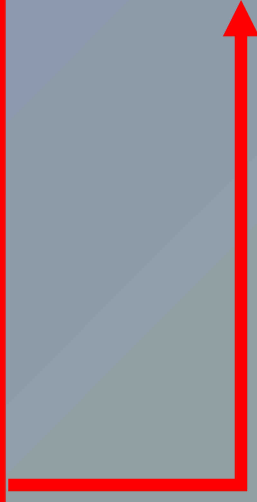
Laura De Santis – Giuseppina Migliore



REGOLAMENTO (CE) 178/2002

Stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare

Occorre garantire un livello elevato di tutela della vita e della salute umana



CIANOBATTERI

BATTERI GRAM NEGATIVI

UBIQUITARI

ADATTAMENTO AMBIENTE ACQUATICO



ADATTAMENTO AMBIENTE ACQUATICO



fissazione dell'azoto

capacità di aggregazione

assorbimento delle radiazioni luminose

galleggiamento (Bouyancy)

SPECIE E SITUAZIONI PARTICOLARI



PRODUZIONE DI CIANOTOSSINE

Neurotossine

Citotossine

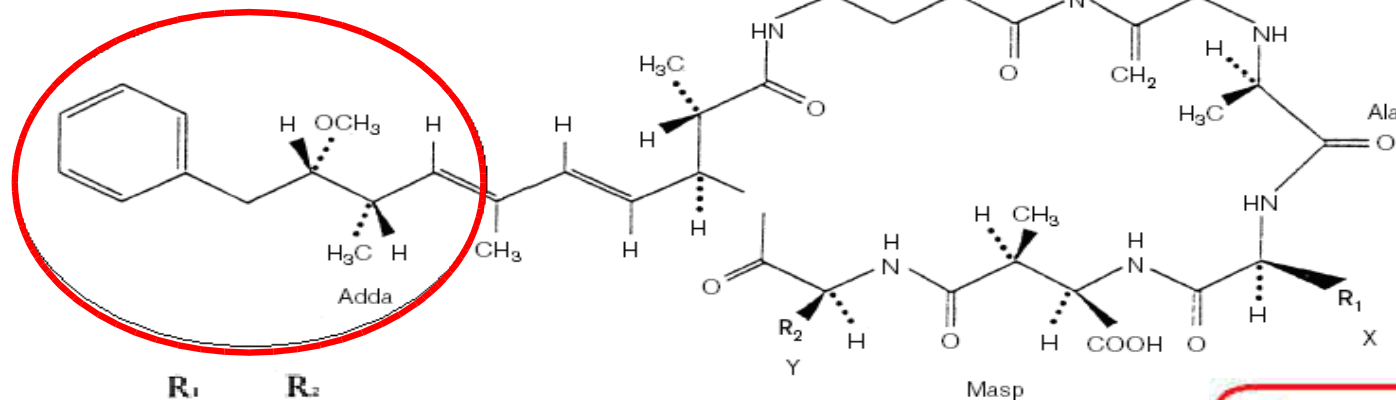
Dermatotossine

EPATOTOSSINE

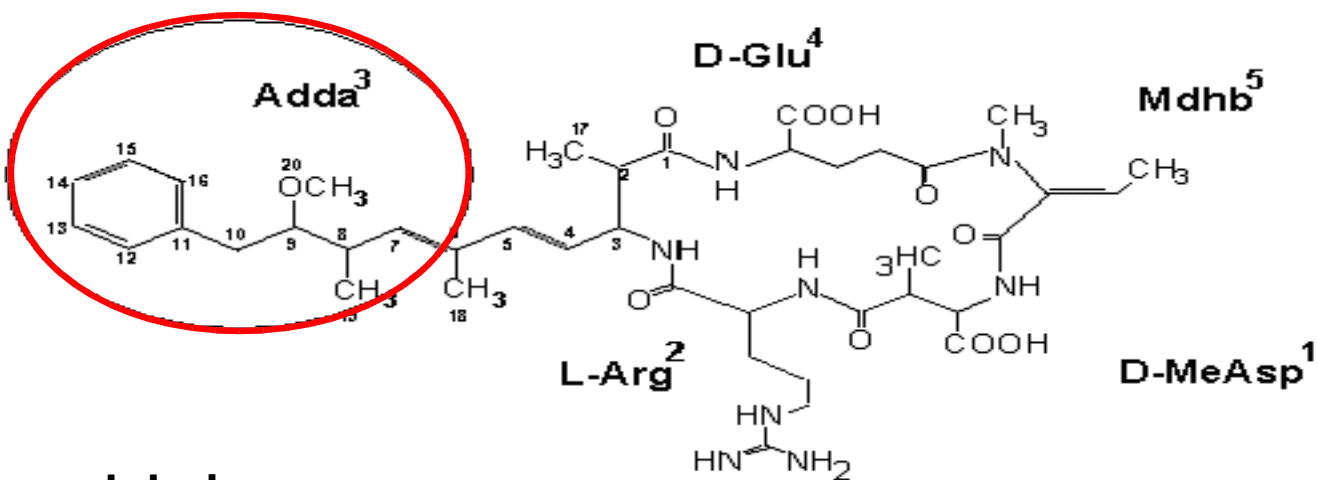
(MICROCISTINE - NODULARINE)



microcistina



	R ₁	R ₂
MC-LR	Leu	Arg
MC-RR	Arg	Arg
MC-YR	Tyr	Arg



nodularina

Meccanismo di Tossicità : blocco PP1-PP2A



Potenziali vie di esposizione

- ORALE : rappresenta la via principale ed importante per ingestione di acqua, alimenti , integratori a base di alghe contaminati.
- Cutanea e/o inalatoria : contatto e inalazione di aerosol durante attività ricreative in acque interessate da fioriture algali
- Parenterale : utilizzo di acqua contaminata per dialisi (unico caso in letteratura)

Progetto Pilota (2008)

Monitoraggio delle Microcistine (MCs) nei prodotti della pesca del Lago di Vico

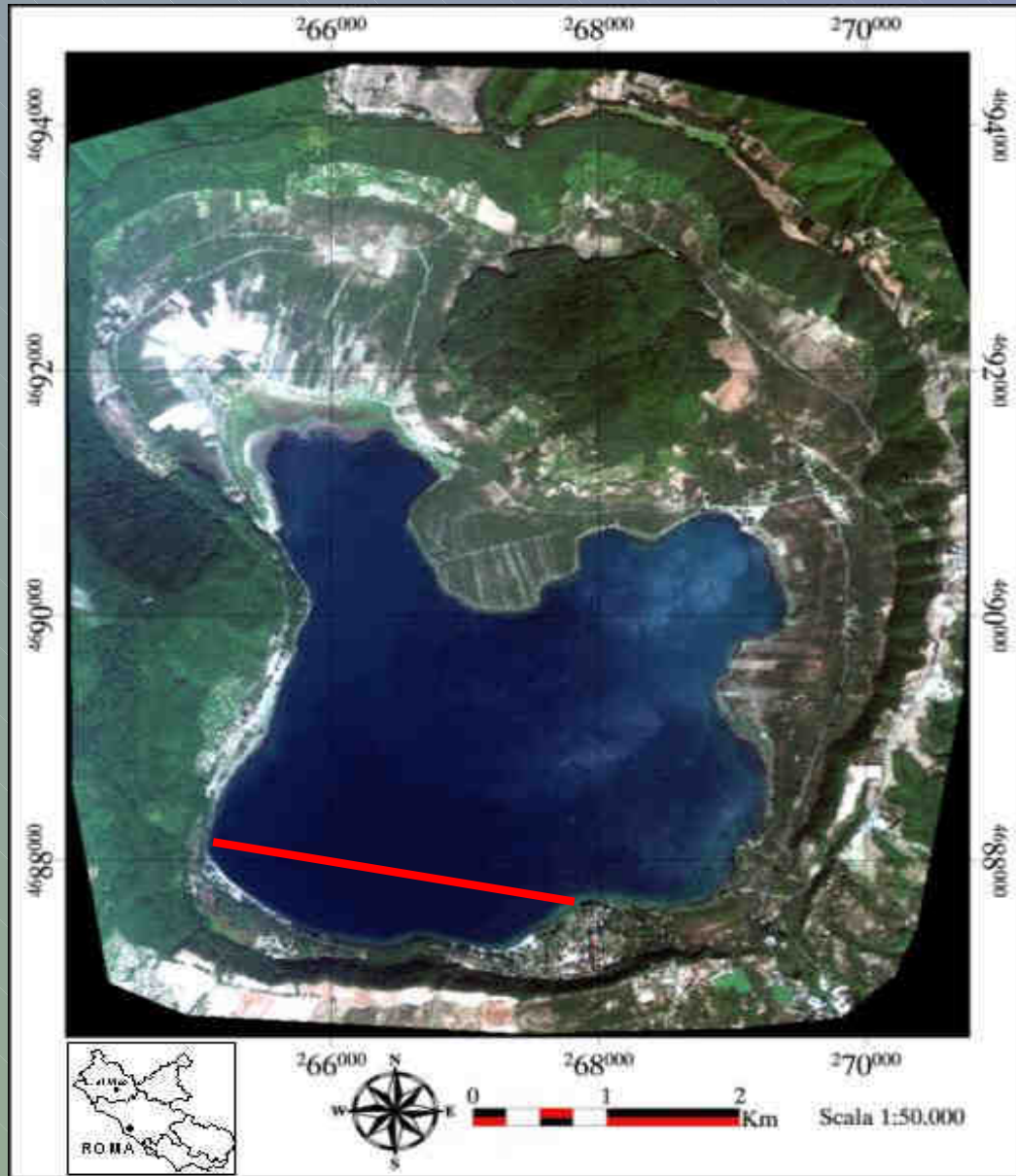
Obiettivi

- 1) Valutazione applicabilità Kit ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) quale metodo di screening rapido per la determinazione delle Microcistine in prodotti ittici**
- 2) Monitoraggio delle MCs in prodotti della pesca di interesse commerciale (*Coregonus lavaretus*) e Lattarino**
- 3) Raccolta di informazioni per la valutazione di eventuali trend stagionali e future valutazioni del rischio**
- 4) Ottimizzazione del disegno sperimentale e possibilità di trasferimento ad altri siti**



Plantotrix rubescens

Definizione del piano di Monitoraggio



Analisi del Sito

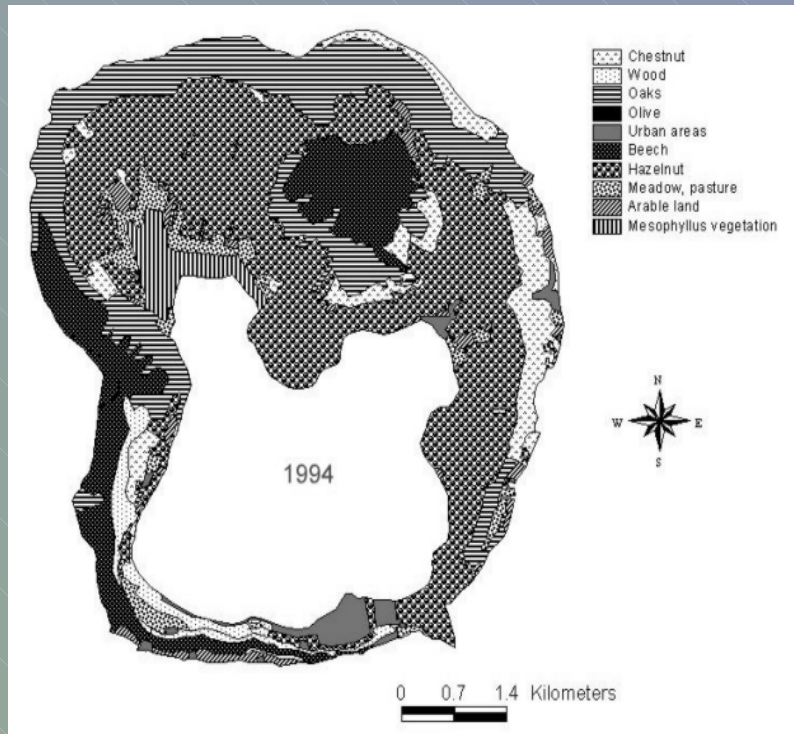
**Definizione dei
punti di prelievo**

Specie e taglia

**Frequenza di
campionamento**

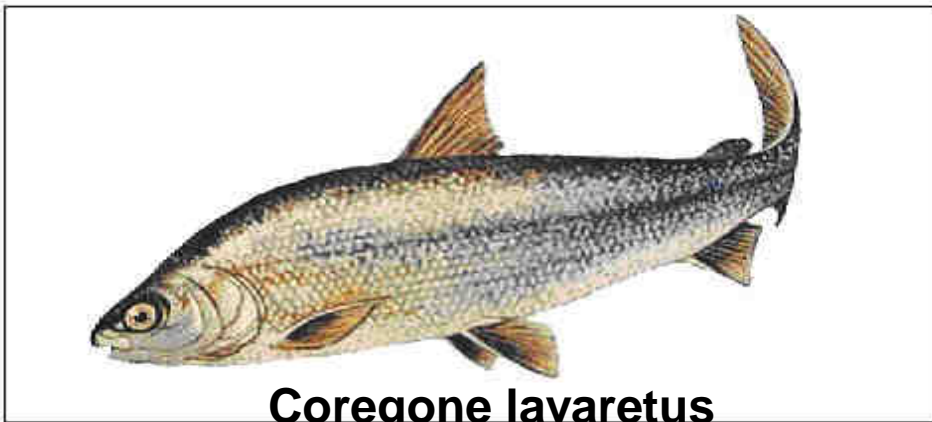
**Trasporto e
conservazione del
campione**

Punti di prelievo



- Renari
- Scardenato
- Bella Venere
- S. Marta

Specie e frequenza di campionamento



- Rapido accrescimento (30 cm a due anni)

- Campionamento mensile tra 10 e 22mt di profondità

Età stimata : 3 anni

- Pesce di taglia piccola (12-15 cm)

- Abitudini gregarie

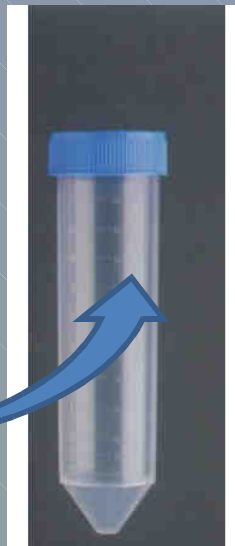
- Campionamento tra aprile e giugno (circa 500g)



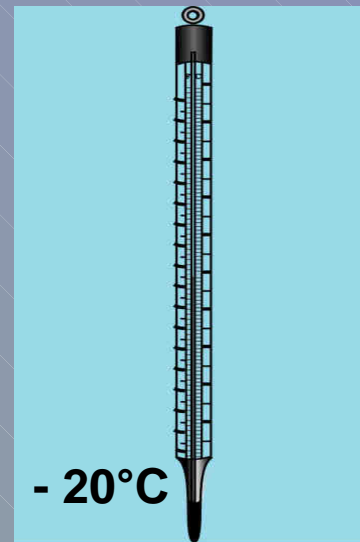
Preparazione e conservazione dei campioni



muscolo



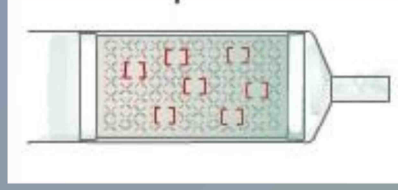
fegato



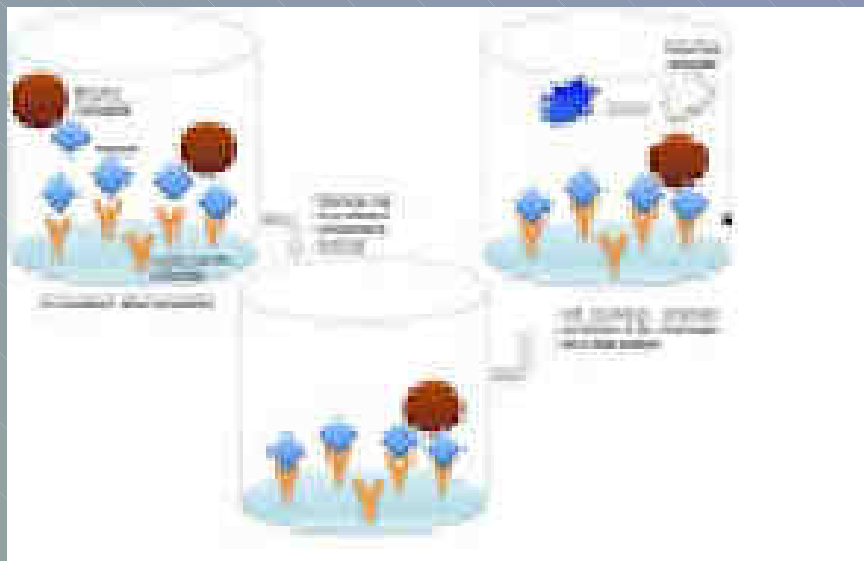
- 20°C

Metodo

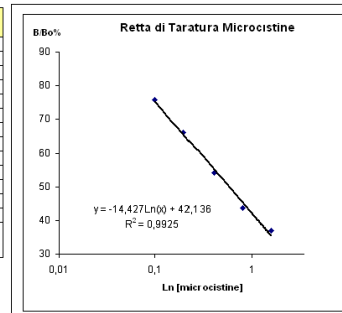
estrazione – purificazione – saggio ELISA



SAGGIO IMMUNOENZIMATICO E.L.I.S.A



Concentrazione ST.	Ass. ST.	MEDIA	B%	D.STD	CV%
NC1	1,105	1,098	100	0,010	1
0,1	1,091	0,832	76	0,005	1
0,2	0,835	0,727	66	0,052	7
0,4	0,763	0,596	54	0,023	4
0,8	0,690	0,579	44	0,046	10
1,6	0,612	0,512	37	0,020	5
	0,579	0,406			
	0,420				
$m = -14,4270$		$B/B_0\% = m \ln [\text{microc.}] + q$			
$q = 42,136$		$[\text{microc.}] = \text{Exp} [(B/B_0\% - q)/m]$			



n° registrazione	Ass. 1° lettura	Ass. 2° lettura	MEDIA	B/B0%	Deviazione Standard (σ)	CV%	microcistine (ng/mL)	microcistine (ng/g)

peso campione (g)	volume estratto	grammi equivalenti caricati	volume finale estratto	fattore di diluizione	microcistine (ng/g)
5	25	1	2		0,00

Saggio diretto competitivo E.L.I.S.A : l'antigene (MCs) presente nel campione compete con l'antigene marcato con enzima per il legame all'anticorpo adeso al pozzetto. La rilevazione è di tipo colorimetrico con una relazione inversamente proporzionale alla concentrazione di analita in esame.

Valutazione applicabilità del saggio

**Affinità di legame antigene-anticorpo congeneri
MC-LR MC-RR, MC-YR, Nod**

Affinità massima verso il congenero MC-LR
e minore per gli altri congeneri.
Metodo “semi-quantitativo”

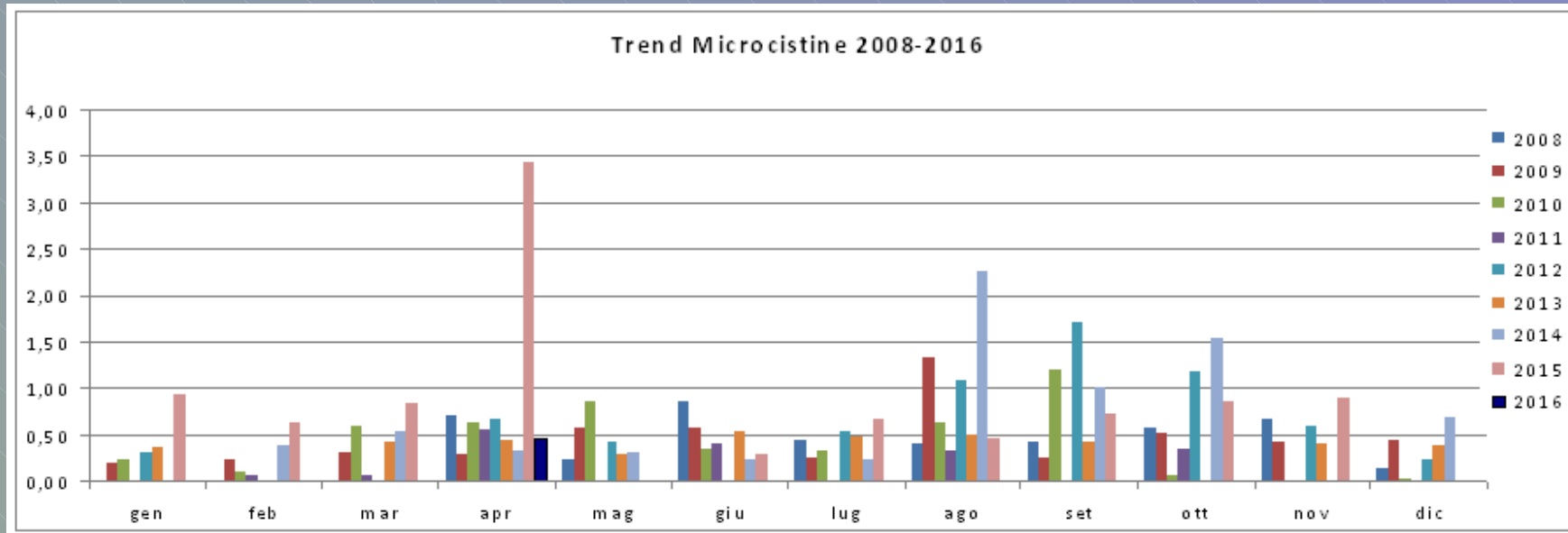
**Intervallo di lavoro del Kit in solvente e
matrice (MC-LR)**

0,1-1,6 ppb (solvente)
0,2-0,8 ppb (matrice)

**Limite di quantificazione e
rilevazione (LOQ e LOD) MC-LR**

LOD = 0,23 ng/g; LOQ 0,53 ng/g

Monitoraggio Lago di Vico Esiti (2008-2016)



Trend presenza MCs nel tessuto muscolare di coregone



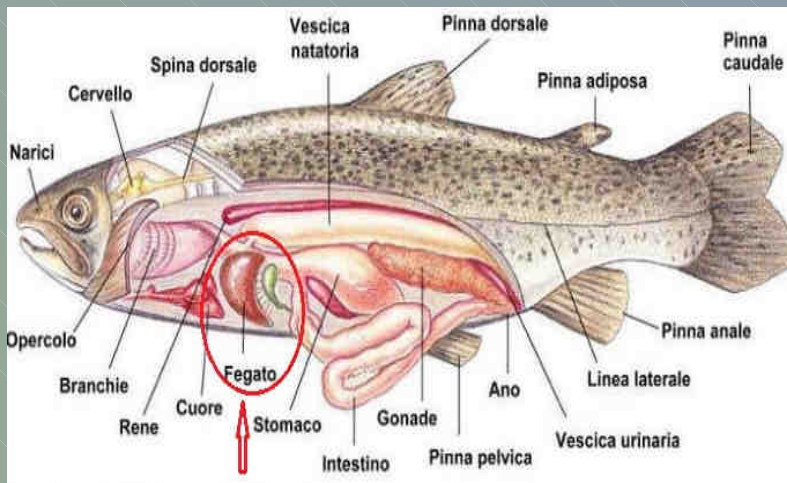
Manca un confronto dati sulla popolazione cianobatterica

Monitoraggio Lago di Vico

Esiti (2008-2016)



I campioni di Lattarino presentano costantemente concentrazioni di MCs più alte (tra 4 e 12 ng/g) rispetto ai coregoni.



Il fegato si conferma tessuto bersaglio per le MCs (valori compresi tra 13 e 60 ng/g)

Microcistine nei prodotti della pesca-Lago di Albano

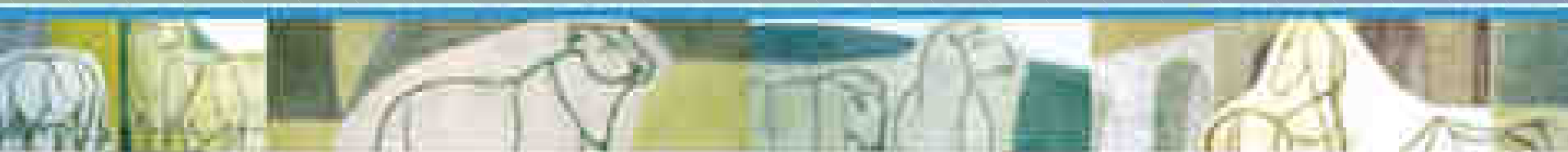


Dal 2011 il controllo della presenza di MCs è stato esteso sui prodotti della pesca del Lago di Albano

L'esiguità dei campioni pervenuti, le modalità di campionamento (specie e taglie diverse, campionamenti "random" effettuati in stagionalità diverse etc..) non consentono valutazioni di tipo correlativo significative.

Conclusioni

- Il saggio immunenzimatico E.L.I.S.A fornisce una stima del contenuto totale in MCs (per il principio della precauzionalità potrebbe costituire un vantaggio)
- Il metodo fornisce la possibilità di effettuare controlli capillari per facilità di esecuzione e costi abbastanza contenuti se paragonati ad altre tecniche di prova.
- Un efficace controllo dei prodotti della pesca da bacini lacustri, come ogni attività di monitoraggio, richiede un'attenta fase di studio e pianificazione



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

