

## **PROGETTI DI RICERCA CORRENTE 2016**

**N. identificativo progetto: IZSLT 16/16 RC**

**Progetto presentato da:**

**ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE  
DEL LAZIO E DELLA TOSCANA**

**Area tematica: Food Safety**

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

**Responsabile Scientifico: Luigi Lanni**

**Relazione finale**

## Conclusioni

Il metodo applicato è risultato nel complesso adeguato rispetto agli obiettivi preposti anche se l'utilizzo del metodo immunoenzimatico ELISA, dato il carattere policlonale degli anticorpi utilizzati, pone l'impossibilità di distinguere i congeneri delle Microcistine, le eventuali Nodularine presenti così come pure i metaboliti delle Microcistine derivanti dal processo di detossificazione, ma dà comunque una stima del loro contenuto totale.

Tale aspetto è rilevante per l'interpretazione dei dati in termini di valutazione del rischio in quanto, l'impossibilità di distinguere le Microcistine dai prodotti della detossificazione (dotati di tossicità minore o in alcuni casi trascurabile), porta ad una sovrastima della concentrazione delle Microcistine presenti e della potenziale tossicità.

D'altro canto, la cross-reattività del kit verso altri congeneri si traduce in vantaggio in quanto alcune specie di cianobatteri, quali ad esempio *Planktotrix rubescens*, producono congeneri diversi dalla MC-LR, tra cui la MC-RR e alcune forme demetilate, che in caso di specificità assoluta del metodo verso la MC-LR non verrebbero rilevate; attualmente i differenti congeneri di Microcistina sono considerati di tossicità equivalente alla MC-LR e, una eventuale sovrastima purché contenuta entro limiti accettabili, potrebbe essere considerata alla stregua di un approccio conservativo e di precauzionalità per la tutela della salute dei consumatori.

Le criticità determinate dall'effetto matrice, riscontrate durante le fasi di verifica dell'applicabilità del metodo ai prodotti della pesca, necessitano sicuramente di soluzione per cui l'evoluzione futura potrebbe essere orientata verso migliori procedure di purificazione soprattutto per le specie che vivono in acque di transizione o marina, nonché nella comparazione delle performance del metodo con altri metodi di rilevazione rapidi, quali ad esempio l'utilizzo di biosensori. Le strategie metodologiche potranno avere come ulteriore "focus" quello di ottenere una miglior accuratezza del dato analitico e migliori livelli di rilevazione e quantificazione; data la cross-reattività esibita dal kit immunoenzimatico verso diversi congeneri di Microcistine, la quantificazione eseguita tramite comparazione con una curva standard contenente un solo congenero (in questo caso MC-LR), non risulterebbe accurata per gli altri congeneri.

Tuttavia, i suddetti aspetti devono essere comparati con una valutazione del costo/beneficio e degli scopi prefissati all'interno del disegno sperimentale. E' infatti da considerare che la discriminazione dei vari congeneri delle Microcistine, ad elevati livelli di sensibilità, è consentita dalla sola applicazione dei metodi in spettrometria di massa, talvolta difficilmente presente nei laboratori periferici. Appare pertanto ragionevole l'utilizzo di un metodo immunoenzimatico ELISA quale metodo di screening in fase di monitoraggio utile a fornire indicazioni, preliminari, successivamente

confermate con metodologie più sofisticate volte a definire la conformità o meno di prodotti destinati al consumo umano. In assenza provvisoria di limiti ufficiali per la presenza di Microcistine nei prodotti ittici, qualsiasi contributo offerto per la definizione del rischio risulta di fondamentale importanza. L'utilizzo di metodi immunoenzimatici appare pertanto ulteriormente giustificato dall'accessibilità economica, la facilità di esecuzione, e conseguentemente dalla possibilità di utilizzo anche presso strutture periferiche dei laboratori appartenenti agli organi di ricerca e di controllo, assicurando in tal modo una maggior capillarità nei controlli.

I risultati preliminari ottenuti dall'analisi dei tessuti muscolari, soprattutto presso il bacino idrico del lago di Vico ove le serie sono pluristagionali, indicano apparentemente una sostanziale assenza di rischio di tossicità acuta da MCs per il coregone. Considerato il valore di TDI pari a 2,5 µg/Kg p.c. quale riferimento per il rischio di tossicità acuta, i valori medi riscontrati nei tessuti muscolari dei coregoni (1,41±0,37 ppb) sono risultati essere inferiori al suddetto valore. Considerando infatti il valore medio massimo riscontrato nei tessuti muscolari di coregone (pari a 1,8 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 µg, equivalente a 0,009 µg MC eq/Kg p.c., inferiore al valore di TDI necessaria a determinare un rischio da tossicità acuta.

In ultimo sono comunque da considerare alcune criticità le cui risoluzioni possono favorire ulteriori sviluppi nel campo della ricerca quali:

- parziale conoscenza varianti di MCs loro proprietà tossiche;
- dati concernenti l'accumulo delle MCs nei tessuti;
- effetto matrice in specie eurialine che vivono in acque di transizione;
- mancanza di metodica ufficiale di analisi e discrepanze dei risultati ottenuti con differenti tecniche analitiche;
- la mancata definizione nei prodotti di origine animale dei limiti di MCs a parte di quelli proposti dall'OMS per le acque;