Caratterizzazione ecotossicologica dei sedimenti marini utilizzando come indicatore lo sviluppo embrionale del riccio di mare Paracentrotus lividus

Le analisi ecotossicologiche sono utilizzate per valutare la tossicità di matrici liquide e solide con organismi viventi. Il Gruppo C.S.A. è già accreditato per le analisi ecotossicologiche con batteri (*Vibrio fischeri*), crostacei (*Daphnia Magna*) e alghe (*Phaeodactylum tricornutum*) previste dal DM 173 sui dragaggi. L'utilizzo del riccio di mare non è sempre di facile applicazione sia perché non disponibile tutto l'anno, sia perché deve essere stabulato prima del suo utilizzo, con notevole impiego di risorse e spazi. Tale saggio prevede un test di embriotossicità eseguendo in laboratorio la fecondazione in vitro. Gli zigoti così ottenuti vengono fatti sviluppare per almeno 72 ore a contatto con il campione, per poi valutarne eventuali anomalie nello sviluppo, utilizzando il microscopio ottico invertito. Il Gruppo C.S.A. ha messo in campo tutte le proprie conoscenze per superare le problematiche legate a questo saggio in collaborazione con l'Acquario di Cattolica.

"Gruppo C.S.A. e Acquario di Cattolica: sviluppo embrionale del riccio di mare Paracentrotus lividus"

Laboratorio	Gruppo CSA
Area di specializzazione	Salute e Benessere
Referenti	Ivan Fagiolino, Sara Lazzarini
Keyword	Ecotossicologia, Riccio di mare, Sedimento marino, Dragaggi



Fig. 1: Ecotossicologia: riccio di mare

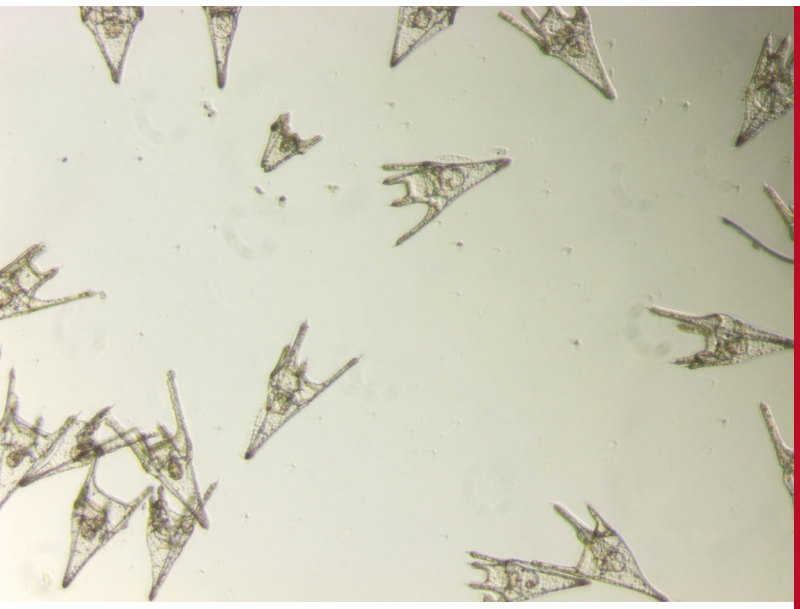


Fig. 2: Foto delle larve alla fine del test

Descrizione

La caratterizzazione di un sedimento, in termini di pericolosità a livello ambientale, si basa sull'integrazione di analisi chimiche, microbiologiche ed ecotossicologiche. Le analisi chimiche e microbiologiche sono ormai consolidate grazie a metodi standardizzati che consentono di processare numerosi campioni in tempi rapidi. Le analisi ecotossicologiche, basandosi su end point di organismi viventi come bioindicatori, sono invece più laboriose in quanto prevedono l'allevamento dell'organismo prima del suo utilizzo. Gli end point più valutati sono la mortalità, l'assorbimento ad una specifica lunghezza d'onda e lo sviluppo embrionale. Nel caso dello sviluppo embrionale si incontrano diverse problematiche legate alla stagionalità degli organismi e alla stabulazione. Il Gruppo C.S.A., insieme all'Acquario di Cattolica, ha superato questa problematica in quanto la struttura possiede tutte le attrezzature per allevare gli organismi, come il riccio di mare *Paracentrotus lividus*.

Aspetti innovativi

Grazie alla collaborazione tra Gruppo C.S.A. e Acquario di Cattolica il laboratorio ha sempre a disposizione un bacino di organismi da cui poter prelevare i gameti ed eseguire il saggio ecotossicologico di embriotossicità secondo i Quaderni ISPRA 11/2017.
In questo modo si garantisce ai nostri clienti un servizio analitico continuativo perché non è legato alla stagionalità degli organismi. Inoltre non viene sacrificato nessun animale adulto, in quanto, una volta prelevati i gameti, i ricci vengono riposti nelle vasche di allevamento.

Applicazioni

L'allevamento del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*) in acquario può essere utile per superare i problemi di approvvigionamento di questo organismo, e tale metodologia può essere applicata anche ad altri organismi previsti nel regolamento DM 173:2016, come ad esempio i copepodi (*Acartia tonsa*).



Fig. 3: Microscopio ottico invertito

Partner coinvolti	• Gruppo C.S.A. S.p.A. • Acquario di Cattolica
Tempi di realizzazione	2 anni
Livello di maturità tecnologica	TRL 9 - sistema reale testato in ambiente operativo
Valorizzazione applicazione	L'utilizzo di un allevamento permette di realizzare il test in modo continuativo, abbattendo i tempi di attesa per l'approvvigionamento di animali, potendo così disporre degli organismi tutto l'anno in condizioni idonee per l'esecuzione del test. Inoltre, dal punto di vista etico, non si ha il sacrificio di alcun animale adulto, come invece accade per altre tipologie di organismi.

Esempio di applicazione

Replica in laboratorio del saggio di embriotossicità con *Paracentrotus lividus*.

Il saggio di embriotossicità con *Paracentrotus lividus* è stato replicato in laboratorio secondo il Quaderno ISPRA 11/2017, eseguendo prove sia su Tossici di Riferimento (Rame 1000 mg/L) che su acqua di mare, rientrando nei criteri di accettabilità del metodo. In questo modo si evidenziano anche le buone condizioni che i ricci mantengono all'interno dell'allevamento, soprattutto nel periodo invernale in cui questi organismi non sono naturalmente disponibili in condizioni di gonadi mature.
La collaborazione tra Gruppo C.S.A. e Acquario di Cattolica, partita a febbraio 2023, in cui i tecnici dell'acquario hanno messo in campo tutta la loro competenza per permetterci di acquistare i ricci di mare e allestire un allevamento presso la loro struttura, ha permesso di eseguire i test preliminari finalizzati all'accreditamento ACCREDIA. Sono state eseguite prove ripetute con il tossico di riferimento (Rame 1000 mg/L) sia per valutare la ripetibilità che per verificare che i valori di EC50 rientrassero nei limiti della Carta di Controllo come indicato nel Quaderno ISPRA 11/2017. Inoltre sono state eseguite prove sia con acqua di mare naturale che artificiale per valutare la risposta dei controlli, secondo i criteri stabiliti dal metodo.

Gruppo CSA



Il Gruppo C.S.A. S.p.A. è un laboratorio di analisi ed un istituto di ricerca privato specializzato nella gestione di piani complessi di monitoraggio ambientale, in grado di guidare e supportare un'attività di ricerca e sviluppo di tipo prevalentemente applicativo e di seguire e coordinare progetti complessi e interdisciplinari che richiedono un elevato livello di professionalità ed esperienza. Il laboratorio di analisi chimiche–fisiche–microbiologiche accreditato ai sensi della ISO/IEC 17025 con numero L0181, e dotato di un sistema di gestione qualità, sicurezza e ambiente certificato ai sensi della ISO 9001, ISO 14001 e ISO 45001, è equipaggiato con moderni sistemi analitici che consentono di affrontare un vastissimo range di indagini garantendo tempistiche ridotte ed elevati standard qualitativi. L'alto profilo professionale, le competenze acquisite in oltre trent'anni anni di attività, l'aggiornamento continuo del personale, consentono al Gruppo C.S.A. S.p.A. di integrare l'attività di campionamento e determinazione analitica su varie matrici ambientali ed agroalimentari, con una consulenza di alto livello fornendo soluzioni innovative e interdisciplinari a problematiche complesse, sviluppare servizi esistenti e crearne di nuovi, e rappresentare così un partner affidabile e sempre all'avanguardia nelle applicazioni metodologiche, strumentali e tecnologiche della ricerca applicata in ambito ambientale.

Sito web	http://www.csaricerche.com
Direttore	Roberto Giani
Data pubblicazione	18/06/2024