

METALLI PESANTI NEL SISTEMA OSPITE-PARASSITA *LEPIDOPUS CAUDATUS*-LARVE *ANISAKIS*

HEAVY METALS IN THE HOST-PARASITE SYSTEM LEPIDOPUS CAUDATUS- ANISAKIS LARVAE

Ruolo A.¹, Ferrantelli V.², Vella A.², Panebianco A.¹

¹Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina;

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia “A. Mirri”, Palermo.

SUMMARY

The Authors have investigated on the relationship between pollution in the host parasite-system *Lepidopus caudatus-Anisakis* larvae. Lead, mercury and cadmium concentrations were measured by atomic absorption spectrometry in the larvae and in the muscle of fish host. Hg concentrations were often higher in parasites than host muscles. Finally, some hygienic and inspective implications were discussed.

KEYWORDS

fish parasite, heavy metal, pollution, food hygiene.

INTRODUZIONE

Nell'ultimo trentennio, numerosissimi contributi scientifici testimoniano l'interesse dei ricercatori nel chiarire i rapporti esistenti tra contaminazione chimico-tossica ambientale e parassitosi ittiche (1). Gran parte di essi hanno riguardato le relazioni tra inquinazione e aspetti epidemiologici nonché la stessa gravità delle infestioni, specie quelle maggiormente condizionate dall'immunocompetenza del pesce ospite. Più recentemente, a dette linee di ricerca si sono affiancate quelle rivolte alla valutazione dell'efficienza dei sistemi pesce-parassita quali bioindicatori a motivo della prospettata maggior capacità di acantocefali, cestodi, nematodi di trattenere i residui rispetto ai pesci ospite. Al riguardo, secondo MacKenzie et al. (1995) (2) i parassiti più interessanti sarebbero quelli con cicli vitali più complessi, che comprendono diversi stadi di sviluppo e più ospiti sui quali si potrebbero registrare gli effetti dell'inquinamento.

Secondo Vidal-Martinez et al. (2009) (3) è possibile classificare i bioindicatori in “indicatori di accumulo” ed “indicatori di effetto”. I primi devono mostrarsi efficienti nell'accumulare sostanze dall'ambiente in cui si trovano senza mostrare effetti avversi; i

secondi, invece, sono quelli che rispondono con modificazioni fisiopatologiche. Inoltre, Sures (2004) (1) ha prospettato quelli che sarebbero i criteri ideali per gli indicatori di accumulo, definiti “sentinelle”: A) alto potenziale di accumulo e correlazione tra sostanze inquinanti nel parassita e nell'ambiente; B) capacità di sopravvivere e mantenere l'attività riproduttiva ai più alti livelli di contaminazione; C) vita sedentaria o habitat ben definito in modo da interessare l'intera area oggetto di studio; D) corpo di grandi dimensioni per fornire sufficiente tessuto per l'analisi; E) ampia distribuzione; F) longevità per permettere un accumulo a lungo termine; G) facilità d'identificazione; H) fisiologia ben nota, includendo gli effetti dell'età, della taglia, della stagione e dell'attività riproduttiva sull'assimilazione delle sostanze tossiche.

Questo contesto riguarda appieno i residui di metalli pesanti, a tutt'oggi tra i più preoccupanti in quanto a inquinazione ambientale e presenza nel pescato.

In merito è noto che una maggiore concentrazione di metalli pesanti nel pesce può essere relazionata ad una maggior prevalenza di parassitosi, come segnalato da Azmat et al. (2008) (4), ma soprattutto che i parassiti di diverse specie ittiche possono concentrarne

maggiori quantità rispetto ai pesci. Come riportato da Sures et al. (1994) (5) e da Sures e Taraschewski (1995) (6) nel caso del piombo e del cadmio, che erano presenti in *Pomphorhynchus laevis* in quantità rispettivamente 2700 e 400 volte più elevate rispetto alla muscolatura di *Leuciscus cephalus* e di 11000 e 27000 volte rispetto all'acqua.

Allo stesso modo, Eira et al. (2008) (7) hanno dimostrato in *Proteocephalus macrocephalus* maggiori concentrazioni di cromo, nichel, zinco e piombo rispetto alle anguille ospiti.

Sistemi ospite-parassita proposti per il monitoraggio ambientale sono quelli di Barus et al. (2006) (8), costituito dall'ospite *Gobio gobio* ed il nematode *Philometra ovata*, nonché quello di Tekin-Özan e Kir (2007) (9), *Esox lucius-Raphidascaris acus*, ed infine quello di Galli et al. (1998) (10), *Leuciscus cephalus-Acanthocephalus anguillae*.

A motivo della nota potenziale pericolosità per i consumatori delle larve *Anisakis*, interessanti sono i dati di Pascual e Abollo (2003) (11) che ne hanno dimostrato la capacità di bioconcentrare metalli pesanti in quantità da 0,17 a 307,34 volte maggiore rispetto al muscolo e agli organi del pesce ospite (piombo > rame > zinco > cadmio). In particolare, maggiori concentrazioni di rame, cadmio e zinco sono state riscontrate nel parassita adulto rispetto alle forme larvali ad eccezione del piombo, la cui concentrazione era maggiore nelle larve *Anisakis* e nei secondi ospiti intermedi, *Micromesistius poutassou*, *Trachurus trachurus* e *Todaropsis eblanae*, rispetto a quelli definitivi, *Stenella coeruleoalba* e *Globicephala melas*.

L'interessante problematica ci ha indotto a valutare la presenza di metalli pesanti nel sistema *Lepidopus caudatus* - larve *Anisakis* a tutt'oggi non indagato in merito nonostante sia noto come questo rapporto abbia una prevalenza quasi sempre vicina al 100%.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in considerazione n° 28 esemplari di *Lepidopus caudatus* catturati nelle acque di Milazzo, Siracusa, Acitrezza, Calderà e dello Stretto di Messina (Sicilia), nel periodo compreso tra luglio e settembre 2008. Tutti i soggetti sono stati dapprima sottoposti a valutazioni biometriche mediante misurazione della lunghezza alla forca, del peso e dello spessore massimo. Dopo apertura della cavità celomatica si è proceduto alla conta delle larve di *Anisakis* e, dopo filettatura, alla ricerca di quelle eventualmente presenti nella muscolatura.

Le larve così prelevate e porzioni di tessuto

muscolare dei pesci sono state congelati a -20°C e stoccati fino alla successiva ricerca dei metalli pesanti eseguita secondo i protocolli usati dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia ("A. Mirri", Palermo), ma non in doppio.

In particolare, i campioni di muscolo e di nematodi, dopo essere stati scongelati, sono stati pesati alla bilancia analitica (METTLER modello AE 200), con l'approssimazione di 0.1 mg e mineralizzati con 5 ml di acido nitrico al 65% (Suprapur, Merck) a basso contenuto di mercurio in forno a microonde (Microwave Digestion MDS-2000). La determinazione del piombo e del cadmio è stata effettuata con Spettrofotometro ad Assorbimento Atomico ad effetto Zeeman (Perkin Elmer mod. AANALYST 800) con fornello di grafite (THGA Perkin Elmer mod. AS-800).

Per la determinazione del mercurio, è stato impiegato un sistema di iniezione a flusso (FIMS 100 Perkin Elmer), previa mineralizzazione del campione come sopra descritto e successiva riduzione con cloruro stannoso diidrato all'1.1% in acido cloridrico al 3%. Il materiale di riferimento era il seguente: Cadmio, Standard 1001 mg/L in ac. nitrico al 2%, incertezza ±5 mg/L (Ultra Scientific, lotto n. J01036); Mercurio, Standard 1000 mg/L in ac. nitrico al 2%, incertezza ±5 mg/L (Ultra Scientific, lotto n. J01211); Piombo, Standard 1000 mg/L in ac. nitrico al 2%, incertezza ±5 mg/L (Ultra Scientific, lotto n. H00121). È stato pure effettuato un controllo anatomopatologico su fegato, stomaco, ciechi pilorici ed intestino.

RISULTATI

Tutti i 28 campioni di *Lepidopus caudatus* erano parassitati da larve *Anisakis*. Le determinazioni analitiche rivelavano una presenza residuale molto bassa ma quasi sempre più alta nei parassiti che nel muscolo dei pesci, come riportato in tabella unitamente alle osservazioni isto-patologiche. Facevano eccezione i campioni 1, 2 e 4 in cui il mercurio era assente nelle larve ed il campione 6 in cui la concentrazione di mercurio nel muscolo superava quella nel parassita.

Per quanto riguarda la ricerca del piombo tutti i campioni di larve sono risultati positivi al contrario della muscolatura. Il cadmio non è stato mai rilevato nelle larve né nel tessuto muscolare.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Le quantità residuali nelle larve e nei pesci

sono basse e non suscitano, dunque, alcuna diretta preoccupazione, pur in presenza di lesioni come gravi steatosi epatiche o stati congestizio-emorragici potenzialmente riconducibili a polluzioni chimico-tossiche e già segnalate in *Lepidopus caudatus* delle stesse acque (12).

I risultati ottenuti arricchiscono l'esigua casistica sulla presenza di metalli pesanti nelle larve *Anisakis* confermando quanto accertato da Pascual e Abollo (2003) (11) sulla maggior capacità delle stesse di accumularli rispetto al pesce ospite e ciò anche in *Lepidopus caudatus*. Il sistema pesce sciabola-larve *Anisakis* crediamo, dunque, possa rispondere a diversi dei requisiti ideali per gli indicatori di accumulo così come sottolineati da Sures (2004) (1). Due sono, infine, le considerazioni strettamente igienistiche estensibili, in genere, a tutti i macroparassiti muscolari. La prima riguarda la possibilità che la casuale ingestione di elementi parassitari unitamente al tessuto muscolare di pesce possa comportare un'elevata ed incontrollabile assunzione di metalli pesanti, visto che, come già ricordato, la concentrazione in essi può superare migliaia di volte quella muscolare. La seconda è data, invece, dalla potenziale interferenza analitica allorché larve difficilmente distinguibili nella muscolatura dei pesci siano processate unitamente ad essa con evidenti possibilità di errate valutazioni. Nello specifico caso delle larve *Anisakis* in *Lepidopus caudatus*, tuttavia, ciò appare remoto considerato che la presenza delle stesse nella muscolatura è evento rarissimo intravitali e comunque raro nel post-mortem rispetto ad altre specie ittiche (13).

BIBLIOGRAFIA

1. Sures B. (2004). Environmental parasitology: relevancy of parasites in monitoring environmental pollution. *Trends in Parasitology*, 20, 170-177.
2. MacKenzie K., Williams H.H., Williams B., McVicar A.H., Siddall R. (1995) cit. da Galli P. (2000). Influenza dell'inquinamento sui parassiti dei pesci. *Biologia ambientale*, 14(1), 11-16.
3. Vidal-Martinez V.M., Pech D., Sures B., Purucker S.T., Poulin R. (2009). Can parasites really reveal environmental impact? *Trends in Parasitology*, 26, 44-51.
4. Azmat R., Fayyaz S., Kazi N., Mahmood S.J., Uddin F. (2008). Natural bioremediation of heavy metals through nematode parasite of fish. *Biotechnology*, 7(1), 139-143.
5. Sures B., Taraschewski H., Jackwerth E. (1994) cit. da Sures B., Siddall R., Taraschewski H. (1999). Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. *Parasitology Today*, 15, 16-21.
6. Sures B., Taraschewski H. (1995) cit. da Sures B., Siddall R., Taraschewski H. (1999). Parasites as accumulation indicators of heavy metal pollution. *Parasitology Today*, 15, 16-21.
7. Eira C., Torres J., Miquel J., Vaqueiro J., Soares A.M.V.M., Vingada J. (2008). Trace element concentrations in *Proteocephalus macrocephalus* (Cestoda) and *Anguillicola crassus* (Nematoda) in comparison to their fish host, *Anguilla Anguilla* in Ria de Aveiro, Portugal. *Science of The Total Environment*, 407, 991-998.
8. Barus V., Jarkovsky J., Prokes M. (2007). *Philometra ovata* (Nematoda: *Philometroidea*): a potential sentinel species of heavy metal accumulation. *Parasitology Research*, 100, 929-933.
9. Tekin-Özan S., Kir İ. (2007). Accumulation of some heavy metals in *Raphidascaris acus* (Bloch, 1779) and its host (*Esox lucius* L., 1758). *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 31 (4), 327-329.
10. Galli P., Crosa G., Occhipinti A.A. (1998). Heavy metals concentration in *Acanthocephals* parasites compared to their fish host. *Chemosphere*, 37, 2983-2988.
11. Pascual S., Abollo E. (2003). Accumulation of heavy metals in the whaleworm *Anisakis simplex* s. l. (Nematoda: *Anisakidae*). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 83, 905-906.
12. Panebianco F., Panebianco A., Corrao A., Macrì B. (1988). Patologia epatica spontanea in pesci marini. Nota II: Correlazione tra contenuto in Pb, Cd, Hg, organoclorurati e lesioni epatiche. Considerazioni ispettive. *Archivio Veterinario Italiano*, 39, 3.
13. Panebianco A., Minniti A., Iannuzzi L. (1999). Osservazioni sulla localizzazione muscolare di larve del genere *Anisakis* in alcune specie ittiche. *Archivio Veterinario Italiano*, 50, 3-4.

id. camp	fegato	stomaco	ciechi pilorici	intestino	Hg mg/kg	Pb mg/kg
1	trematodi e cestodi in un grosso dotto biliare. Flogosi e trematodi con capsula connettivale nel parenchima				L. N.D. M. 0,032	L. 0,490 M. N.D.
2	trematodi nei grossi dotti biliari			autolisi, atrofia della mucosa, larva di nematode	L. N.D. M. 0,043	L. 0,976 M. N.D.
3	steatosi, trematode occludente un dotto biliare				L. 0,003 M. 0,002	L. 0,048 M. N.D.
4	steatosi, qualche trematode				L. N.D. M. 0,038	L. 1,490 M. N.D.
5	parete cistica con larva di trematode	due larve di nematode incistate a livello di sottomucosa			L. 0,085 M. N.D.	L. 0,860 M. N.D.
6			autolisi	autolisi	L. 0,020 M. 0,060	L. 3,930 M. N.D.
7			autolisi diffusa	autolisi diffusa	L. 0,047 M. 0,001	L. 0,196 M. N.D.
8	steatosi, qualche piccolo trematode incistato		autolisi	autolisi	L. 0,180 M. 0,058	L. 0,210 M. N.D.
9	autolisi, grave steatosi, involuzione nucleare	autolisi, atrofia	autolisi	autolisi	L. 0,126 M. 0,010	L. 0,760 M. N.D.
10	autolisi, steatosi microvescicolare, nidi flogistici mononucleari		autolisi diffusa, iperplasia della mucosa e aumentata secrezione	autolisi, atrofia a tratti della mucosa e desquamazione	L. 0,021 M. N.D.	L. 0,144 M. N.D.
11	congestione diffusa	larva di nematode incapsulata nella sottomucosa	autolisi della mucosa atrofica a tratti	autolisi incompleta della mucosa	L. 0,025 M. 0,022	L. 0,760 M. N.D.
12	autolisi, due cisti parassitarie non identificabili		autolisi, trematode		L. 0,060 M. 0,014	L. 0,280 M. N.D.
13				atrofia della mucosa	L. 0,030 M. 0,018	L. 1,150 M. N.D.
14	autolisi		autolisi diffusa, larva di trematode		L. 0,035 M. 0,010	L. 0,980 M. N.D.
15	steatosi microvescicolare		autolisi, trematodi	autolisi diffusa	L. 0,050 M. N.D.	L. 1,790 M. N.D.
16			autolisi	autolisi, pregressa ipersecrezione	L. 0,100 M. 0,032	L. 0,200 M. N.D.
17					L. 0,10 M. N.D.	L. 0,276 M. N.D.
18	congestione		autolisi	autolisi diffusa, desquamazione della mucosa	L. 0,090 M. 0,010	L. 5,030 M. N.D.
19	autolisi, congestione, steatosi		autolisi	autolisi diffusa	L. 0,030 M. 0,010	L. 1,030 M. N.D.
20					L. 0,036 M. 0,016	L. 0,360 M. N.D.
21	nematode a livello di sottomuc., larve di cestodi (tripanorinchi) a livello di sierosa		probabile nematode all'interno della mucosa	autolisi diffusa	L. 0,210 M. 0,003	L. 3,510 M. N.D.
22	autolisi diffusa		autolisi diffusa	autolisi diffusa	L. 0,010 M. N.D.	L. 0,400 M. N.D.

id. camp	fegato	stomaco	ciechi pilorici	intestino	Hg mg/kg	Pb mg/kg
23				autolisi diffusa, desquamazione	L. 0,076 M. N.D.	L. 0,480 M. N.D.
24	steatosi diffusa			autolisi diffusa	L. 0,090 M.0,011	L. 4,090 M. N.D.
25	steatosi, focolai congestizio-emorragici, probabile struttura parassitaria		autolisi diffusa	autolisi diffusa	L. 0,060 M. 0,018	L. 0,310 M. N.D.
26			autolisi, congestione, piccoli spandimenti emorragici		L. 0,015 M. 0,010	L. 1,033 M. N.D.
27	autolisi, steatosi diffusa				L. 0,020 M. tracce	L. 0,423 M. N.D.
28	autolisi				L. 0,079 M. 0,019	L. 1,060 M. N.D.

Legenda: L: larve; M: tessuto muscolare; N.D.: non determinabile