

Abilita' di *Vibrio alginolyticus* e *Vibrio parahaemolyticus* a formare biofilm su microplastiche rappresentate da particelle di polietilene a bassa densita'

Donatella Ottaviani[1], Stefania Di Lullo[1], Silvia Pieralisi[1], Gabriele Angelico[1], Giulia Talevi[1], Sara Nardi[1],
Diego Maiolatesi[1], Francesca Barchiesi[2], Francesca Leoni[3], Stefano Fisichella[1], Elena Rocchegiani[1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", Laboratorio Controllo Alimenti, Ancona, Italy

[2] Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", Centro di Referenza Nazionale per il controllo microbiologico e chimico dei molluschi bivalvi vivi, Ancona, Italy

[3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche "Togo Rosati", LNR per il Controllo Batteriologico dei Molluschi Bivalvi, Ancona, Italy

INTRODUZIONE

- ✓ L'inquinamento marino da **microplastiche (Mps)**, particelle <5 mm, è un argomento di crescente interesse nel settore della sanità pubblica principalmente per:
 - La loro lenta degradazione
 - Le loro ridotte dimensioni tali da essere ingerite/filtrate dagli organismi marini
 - complicazioni a livello fisiologico
 - trasporto in diversi distretti dell'organismo e lungo la rete trofica
 - bioaccumulo
- ✓ **Lo scopo dello studio** è valutare l'adesione di vibrioni isolati da **macroplastiche (MPS)** (particelle >5 mm), recuperate da ambiente marino, a **Mps** di dimensioni tali da poter essere potenzialmente ingerite/filtrate da organismi marini utilizzati a scopo edibile, in particolare i molluschi eduli lamellibranchi (MEL).

MATERIALI E METODI (1, 2, 3)

Per le prove di adesione: **1 *Vibrio alginolyticus* e 1 *V. parahaemolyticus*** isolati dagli elutriati di macroplastiche recuperate da ambiente marino, identificati in via presuntiva con *MALDI-TOF* e poi confermati tramite procedura standard (ISO 21872-1:2017).

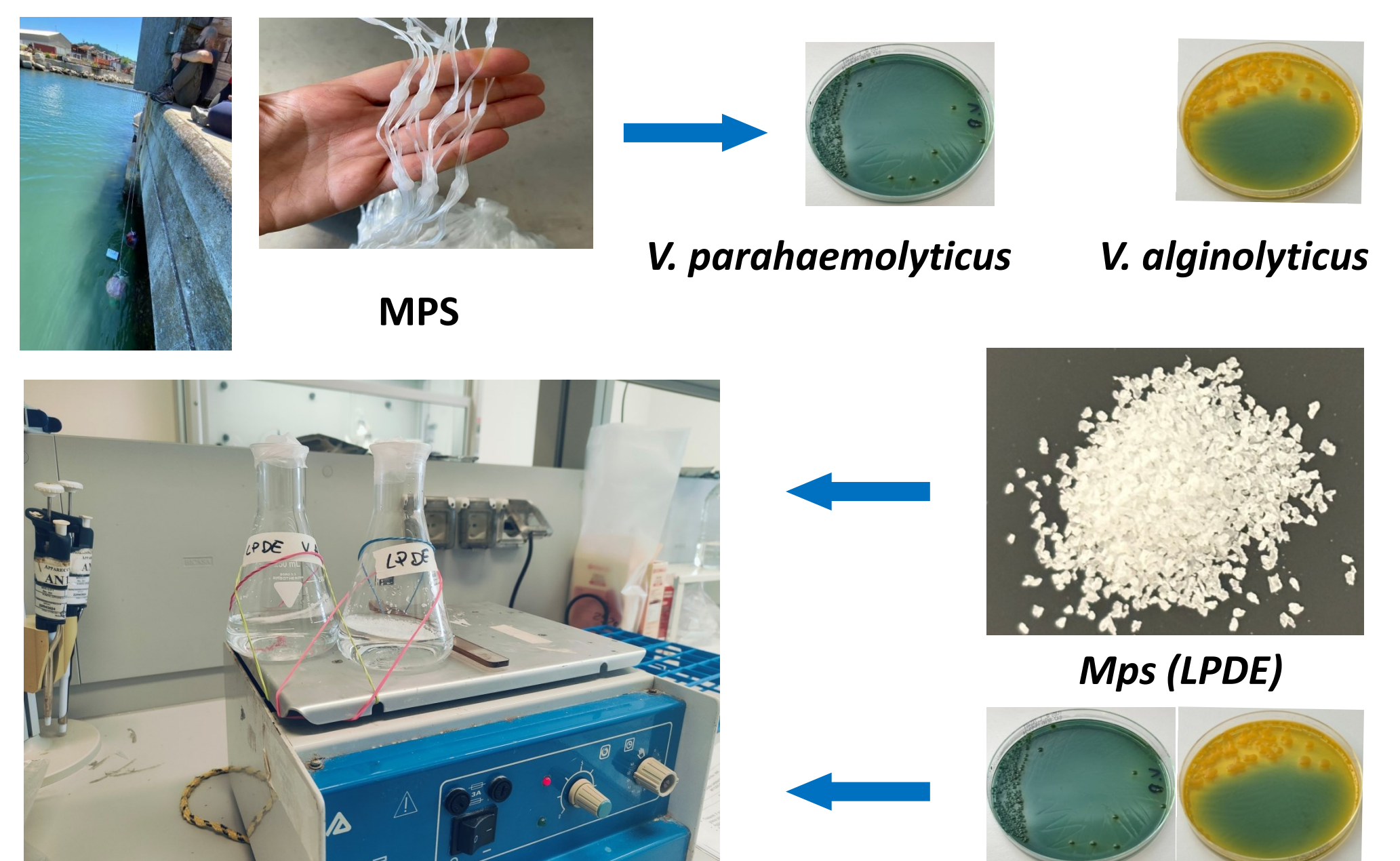
✓ Il substrato di adesione: **Mps di low-density polyethylene (LPDE)** di dimensione tra 500-1000 µm.

✓ In beute di vetro a temperatura ambiente in agitatore orbitale a 150 rpm sono state aggiunti:

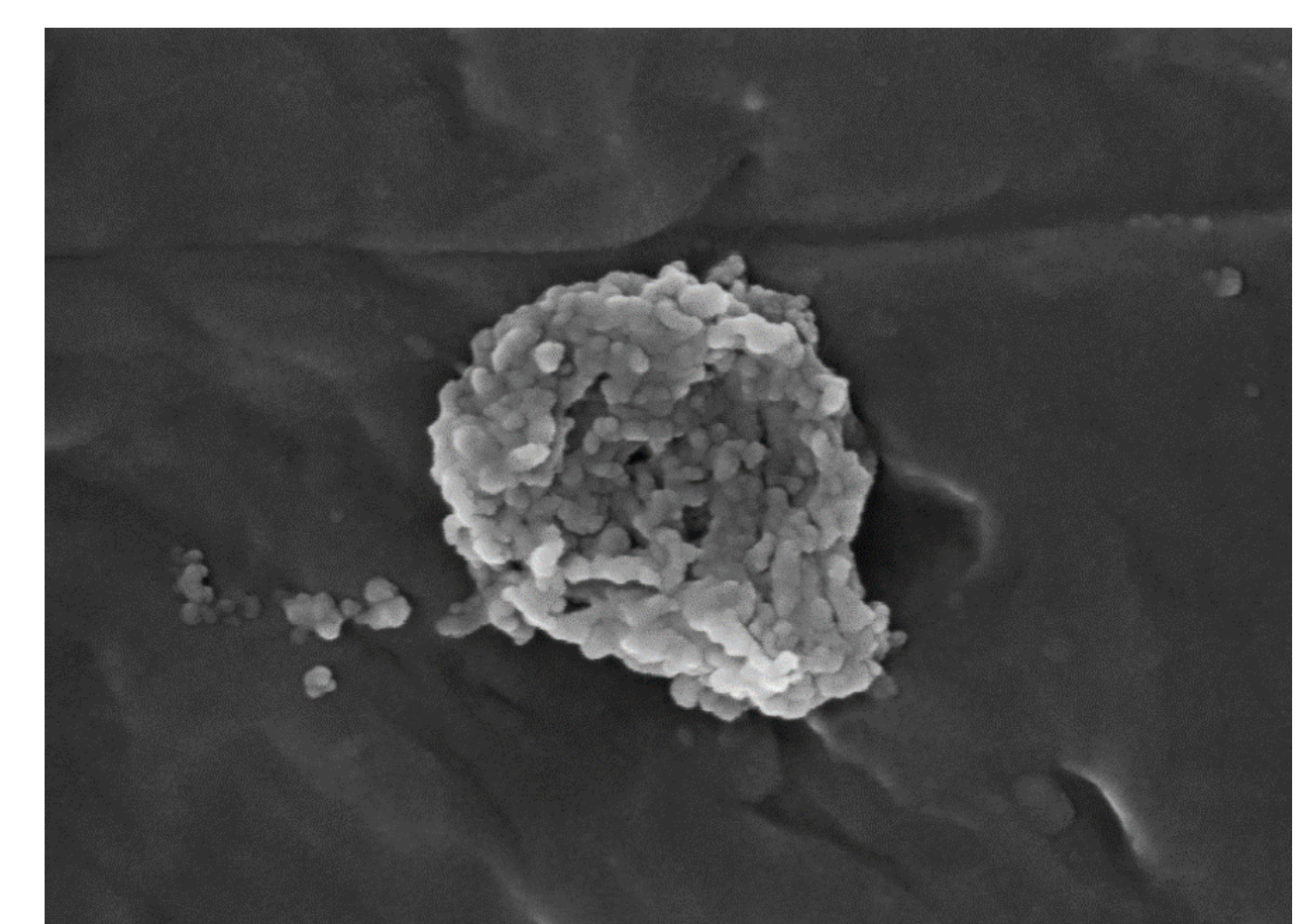
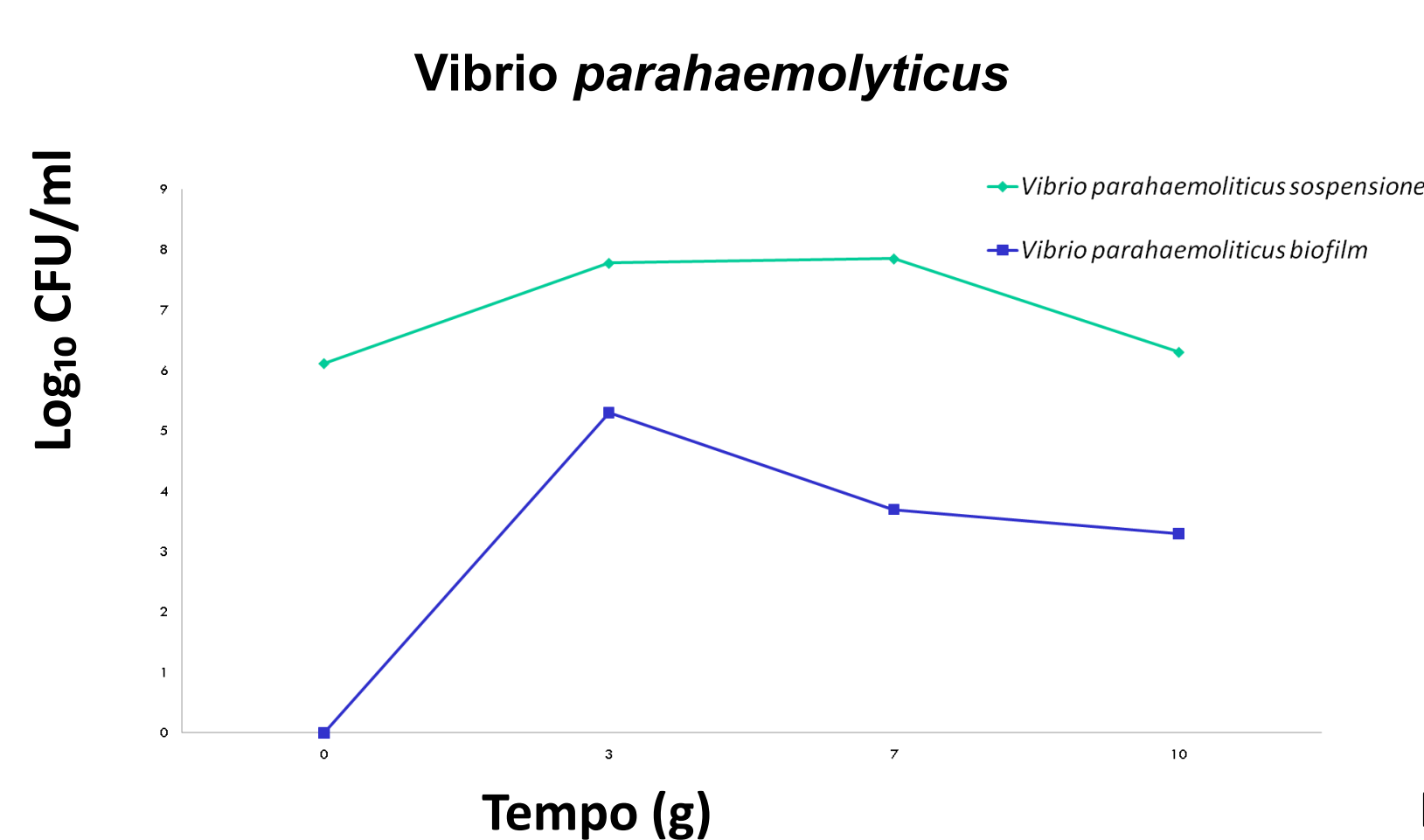
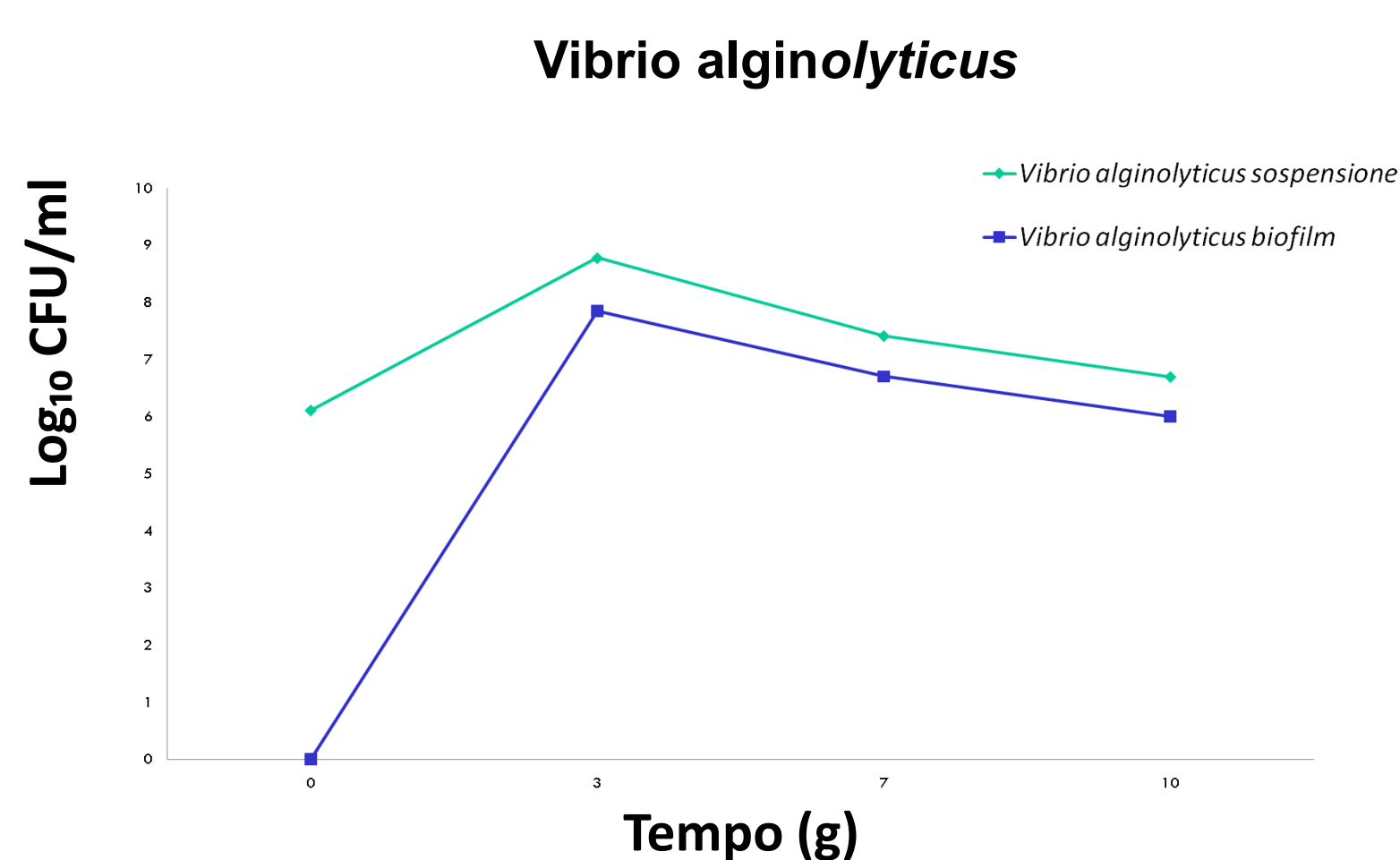
- 10 ml di acqua di mare sintetica al 3% di NaCl
- 0,1 g di polvere di LPDE
- 200 µl di sospensione batterica O/N dei due ceppi selezionati
- 200 µl di tween 20

✓ Ad intervalli di tempo predefiniti e fino a 10 giorni, sono stati titolati i vibrioni in sospensione e adesi sulle particelle di LPDE (staccati dalle particelle con una soluzione di NaCl allo 0,9%), per semina su agar tiosolfato-citrato-bile-saccarosio (TCBS).

✓ Contestualmente la formazione dei biofilm batterici sulle **Mps** valutata tramite microscopia elettronica a scansione (SEM).



RISULTATI

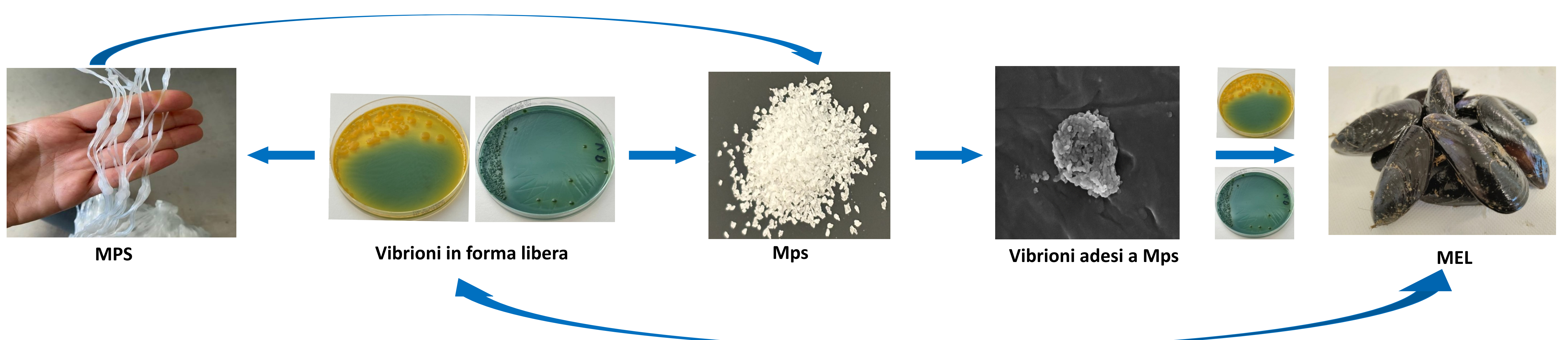


Biofilm su granulo LPDE di *V. parahaemolyticus* (SEM)

Nel periodo di analisi entrambi i vibrioni erano abili a formare biofilm su LPDE con una maggior efficienza di *V. alginolyticus* rispetto a *V. parahaemolyticus*. L'andamento temporale delle concentrazioni di *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus* in soluzione e adesi alle LPDE è rappresentato nei grafici. La formazione del biofilm era confermata dalle osservazioni tramite SEM per entrambi i microrganismi come mostrato in figura.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

V. parahaemolyticus e *V. alginolyticus* sono stati isolati dagli elutriati di **MPS** recuperate in ambiente marino e questi sono in grado di formare biofilm anche su **Mps** di dimensioni tali da essere potenzialmente ingerite/filtrate dagli organismi marini. *Vibrio* spp comprende specie patogene per l'uomo, come *V. parahaemolyticus*, che possono indurre tossinfezioni tramite il consumo di organismi marini usati a scopo edibile, in particolare i MEL. Le metodiche standardizzate ci consentiranno di valutare attraverso prove in acquari sperimentali se le **Mps** possano condizionare il trasferimento e bioaccumulo di vibrioni potenzialmente patogeni a loro adesi, rispetto agli stessi microrganismi liberi in acqua, all'interno dei MEL, incrementandone o diminuendone le cariche contaminanti e le relative persistenze nei tessuti del mollusco.



BIBLIOGRAFIA

- Stephanie L. Wright, et al., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review, Environmental Pollution, Volume 178, Pages 483-492, ISSN 0269-7491
- Foulon et al., 2016. Environ. Sci. Technol. 50, 10988-10996
- Kirstein et al., 2016. Mar. Environ. Res. 120: 1-8

QUESTO LAVORO È STATO FINANZIATO DAL MINISTERO DELLA SALUTE (RF-2019-12370587 E RC007/2023)