

IZS

T E R A M O

/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"



Valutazione della risposta emocitaria in vongola *Chamelea gallina* a micro-nanoplastiche e bisfenolo A

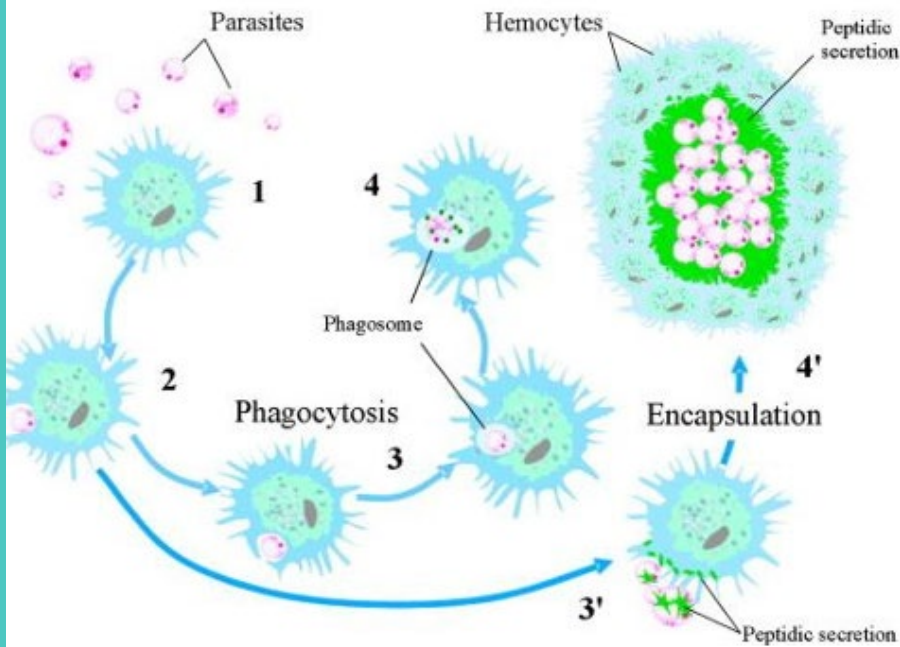
Chiara Profico

11 giugno 2026

Webinar «I risultati della Ricerca Corrente condotta dall'IZSAM – anno 2025»

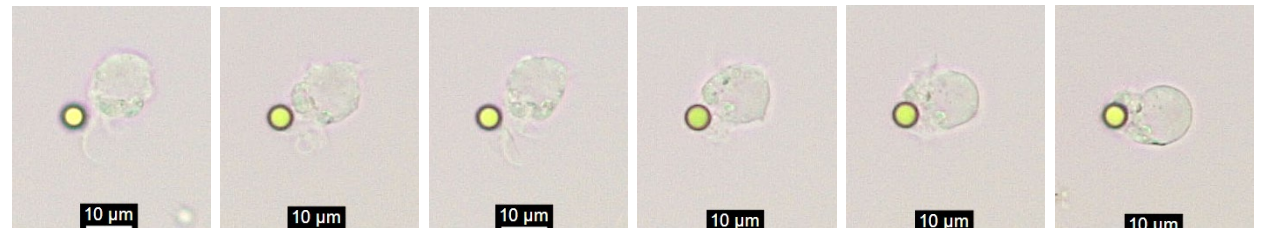
Immunotossicologia nei molluschi bivalvi

- Immunità innata, mediata dagli emociti
- Dati scarsi e su poche specie
- Effetti da micro e nanoplastiche, tossici, batteri e parassiti
 - (Donaghy et al., 2009; Impellitteri et al. 2022)



Risposta cellulare della vongola *Ruditapes* in seguito a infezione (Donaghy et al., 2009)

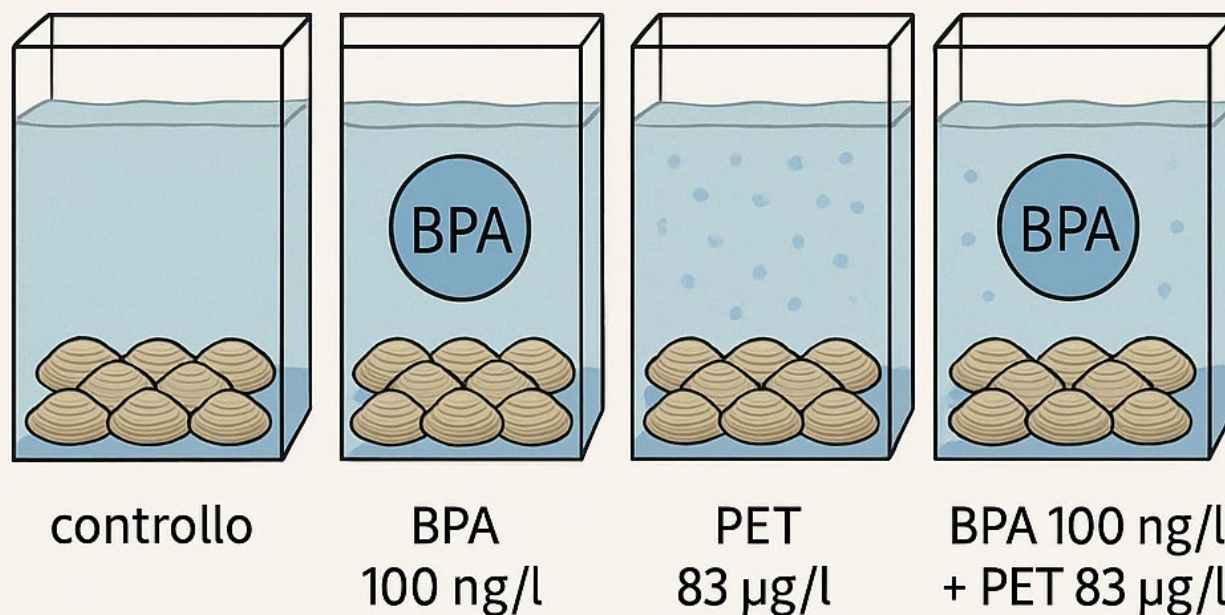
Interazione emocita/MP (foto IZS Te)

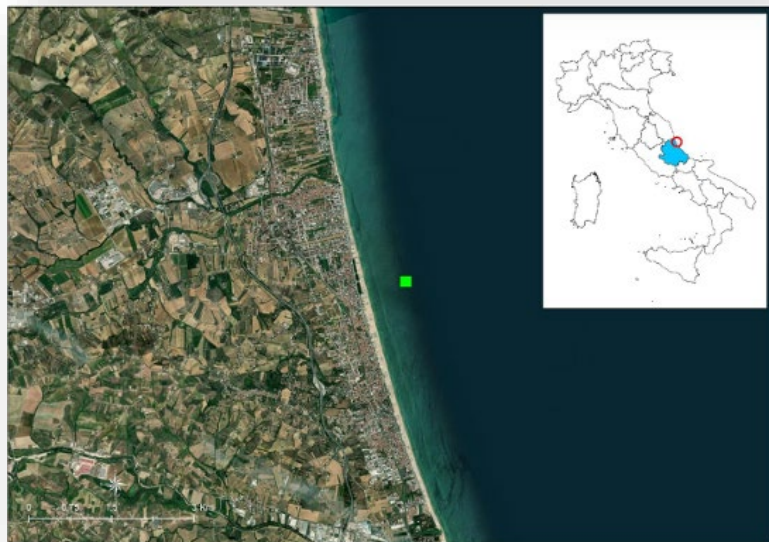


Materiali e metodi: Disegno sperimentale

«Approfondire il profilo di rischio di MPs e NPs attraverso una sperimentazione in vivo finalizzata ad accertare l'effetto di dosi realistiche sulla fisiologia di *C. gallina*»

- ESPOSIZIONE PER 21 GIORNI
- CONCENTRAZIONI AMBIENTALI
- CONDIZIONE SEMISTATICA
- VERIFICA BIOACCUMULO
- TEST DI CLEARANCE
- CONDITION INDEX
- ESAME ISTOLOGICO
- ESAME CITOMETRICO
- ANALISI DEL TRASCRITTOMA
- PROFILO DI METILAZIONE



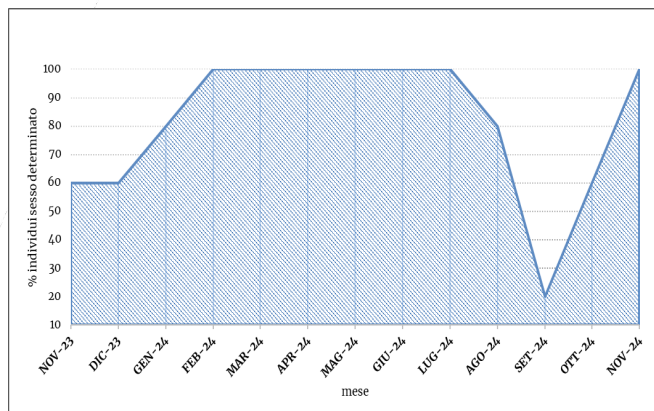


Materiali e metodi: Campionamento

- 3 kg di vongole (≥ 22 mm) prelevati dell'ASL Teramo, a bordo di una vongolara;
- N=400 esemplari (LT $26,94 \pm 1,44$ mm) acclimatati per 9 giorni;
- Un subcampione sottoposto ad esame ispettivo e ad analisi di laboratorio

Geolocalizzazione del punto di campionamento delle vongole
Mar Adriatico, Comune di Alba Adriatica, Provincia di Teramo

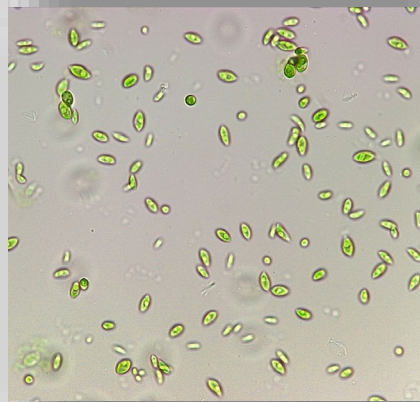
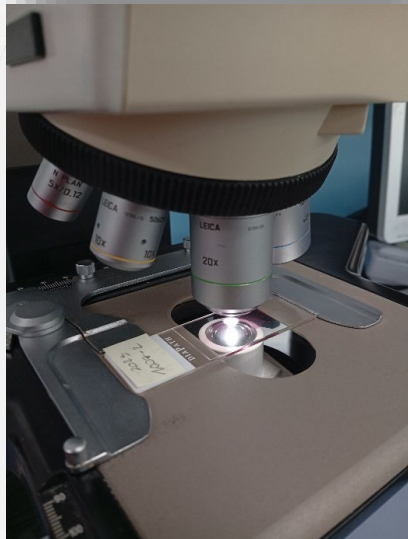
*FASE POST-SPAWNING



Materiali e metodi: Esposizione

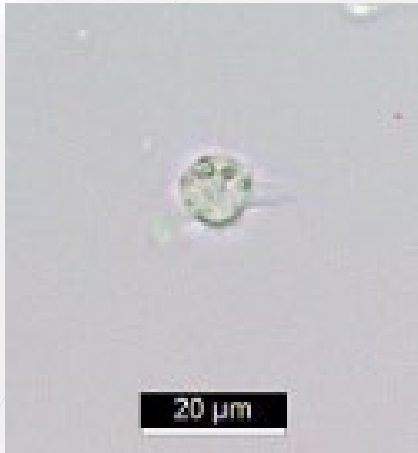
DURATA	21 giorni
GRUPPI SPERIMENTALI (GS)	4
NR. ANIMALI	400 (100 x 4GS)
VOLUME ACQUARI	50 L
OSSIGENO DISCIOLTO	>8 mg/L
TEMPERATURA ACQUA	21±1 °C
ILLUMINAZIONE	1000±100 lux fotoperiodo 16/8 h
ALIMENTAZIONE	colture fresche di microalghe a giorni alterni
CONDIZIONE SEMISTATICA	rinnovo parziale degli acquari 2 volte a settimana.

Materiali e metodi: Test metabolici ed esame istologico



- **Indice di condizione**
peso secco corpo molle/conchiglia
(Walne, 1976)
- **Tasso di filtrazione**
 $(l/h) = (\ln C_0 - \ln C_1) * V/t$
(Coughlan, 1969)
- **Esame istologico**
(branchie, mantello, ghiandola
digestiva, tessuto connettivo
periviscerale)

Materiali e metodi: Analisi citofluorimetrica



- **Prelievo** 300 μ l di emolinfa, da muscolo adduttore anteriore
- **Fissazione** in paraformaldeide
- **Analisi citofluorimetrica** in Cytoflex (Beckman Coulter)
 - 30.000 eventi
 - flow rate 60 μ l/secondo
 - 600 secondi

Materiali e metodi: Analisi del trascrittoma

- Estrazione RNA da tessuti target (branchie) di 5 esemplari per gruppo, controllo, sequenziamento
- Principal Component Analysis (PCA) + Differentially Expressed Genes (DEG)

Analisi del profilo di metilazione

- Estrazione DNA da tessuti target (piede) su pool di 5 esemplari
- *Bisulfite mapping*, amplificazione, sequenziamento

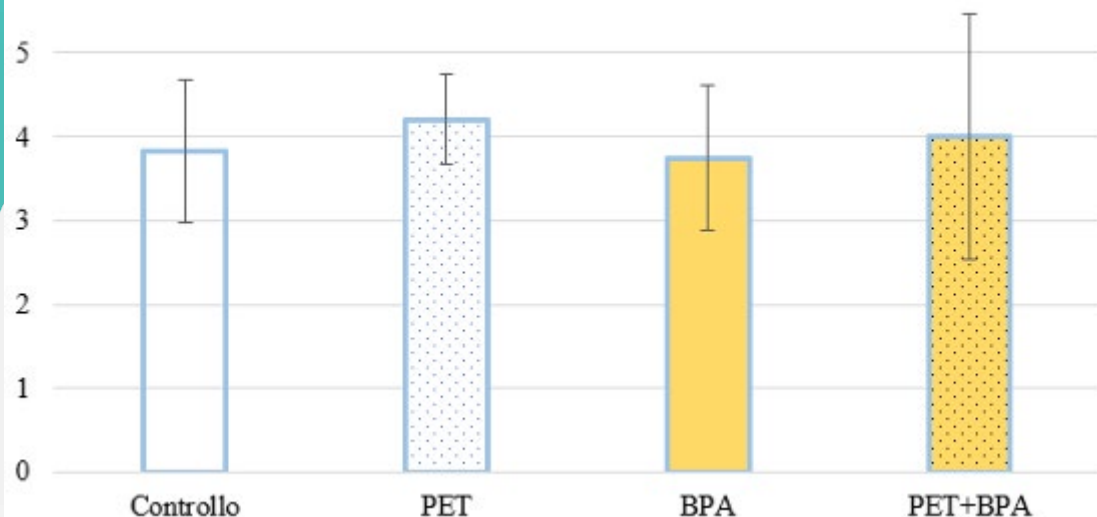
Valutazione del bioaccumulo

- LC-MS/MS su pool di 10 esemplari per gruppo

Risultati Test metabolici

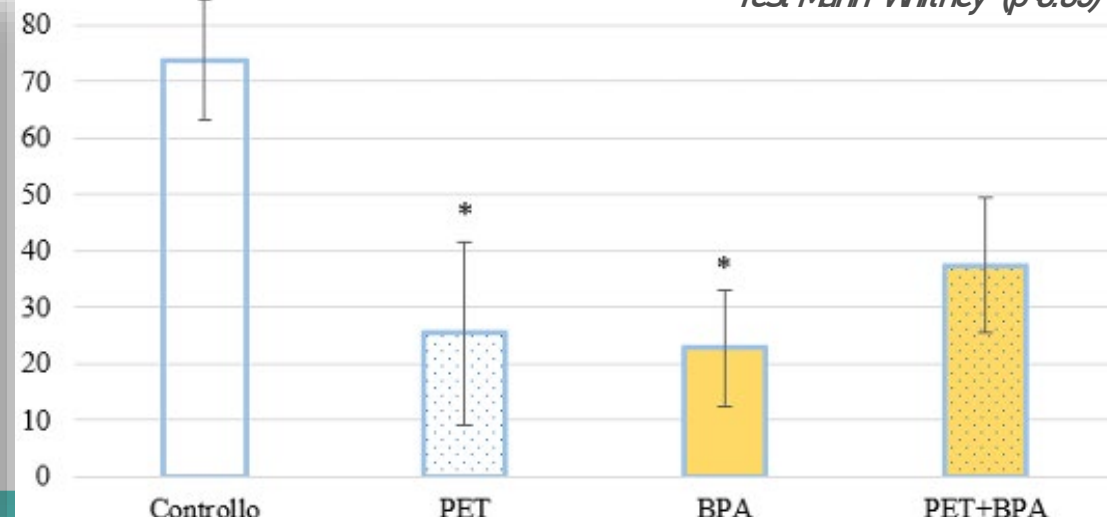
- Indice di condizione: gli animali non hanno presentato una significativa differenza tra il controllo e gli esposti;
- Tasso di filtrazione: è stato sempre inferiore negli animali esposti rispetto al controllo, con significatività statistica solo nei gruppi esposti al PET e BPA.

INDICE DI CONDIZIONE
(peso corpo/peso valve)

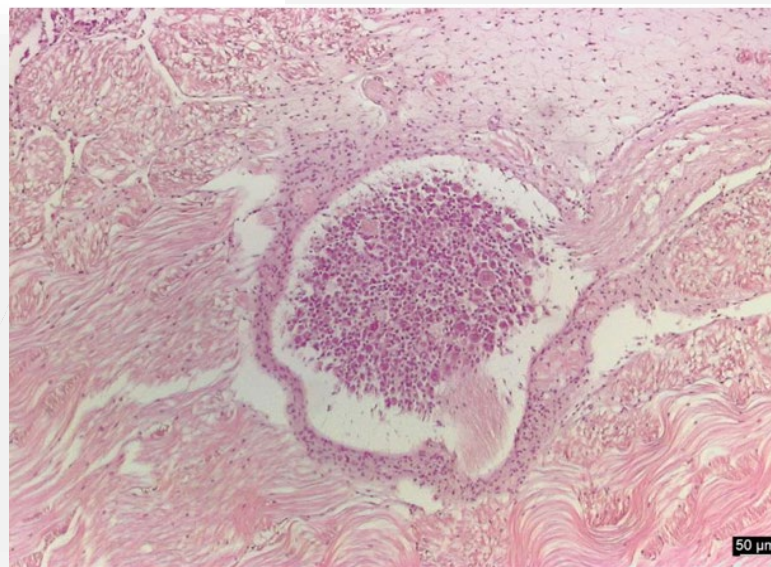


TASSO DI FILTRAZIONE
(litri/ora)

**Test Mann-Whitney ($p < 0.05$)*



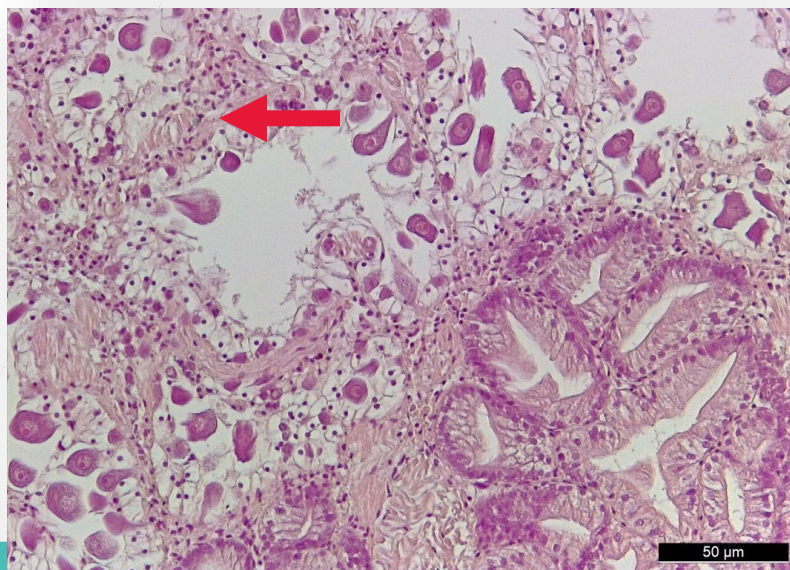
BPA (ID3)



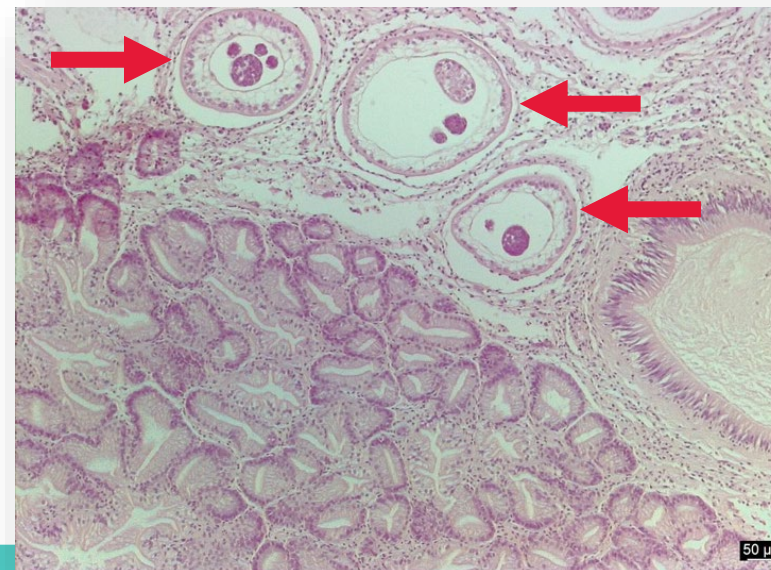
Risultati Esame istologico

- Flogosi nello stroma, branchie e gonadi
- Granulomi
- Proliferazioni batteriche
- Parassiti (trematodi)

BPA (ID1)

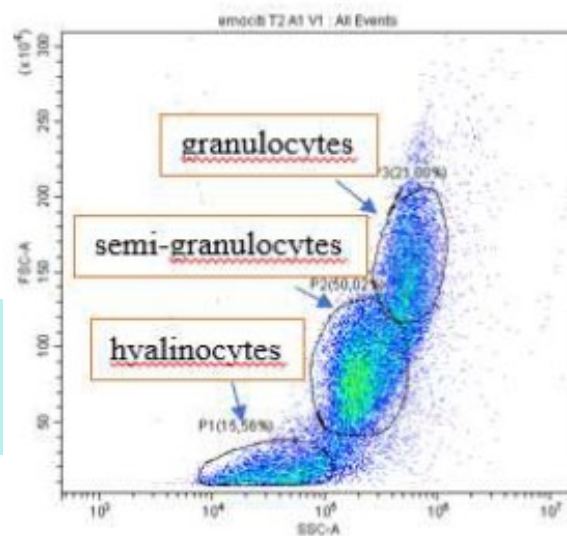


BPA + PET (ID5)



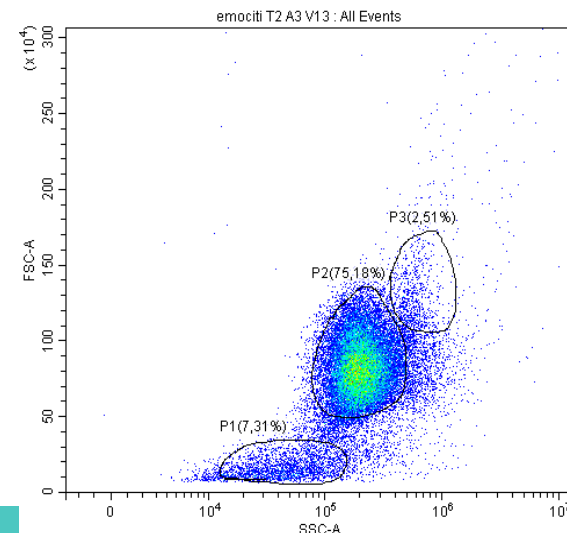
CONTROLLO

- prima individuazione di SEMI-GRANULOCITI



BPA

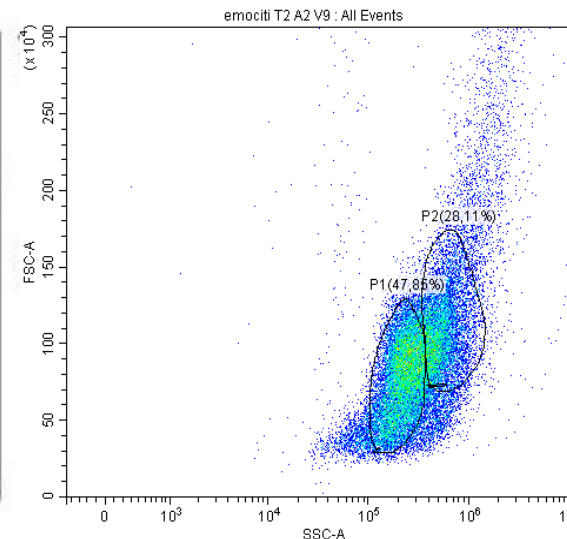
- riduzione o scomparsa ialinociti granulociti
- semi-granulociti stabili



Risultati Analisi citofluorimetrica

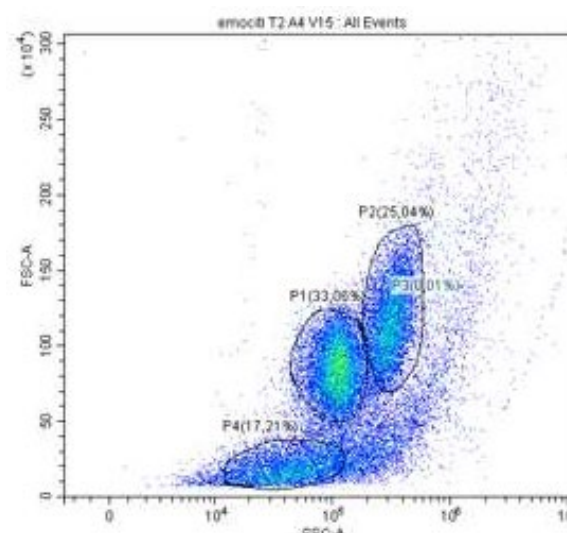
PET

- riduzione o scomparsa ialinociti
- perdita occasionale dei granulociti
- popolazioni meno compatte
- variabilità interindividuale



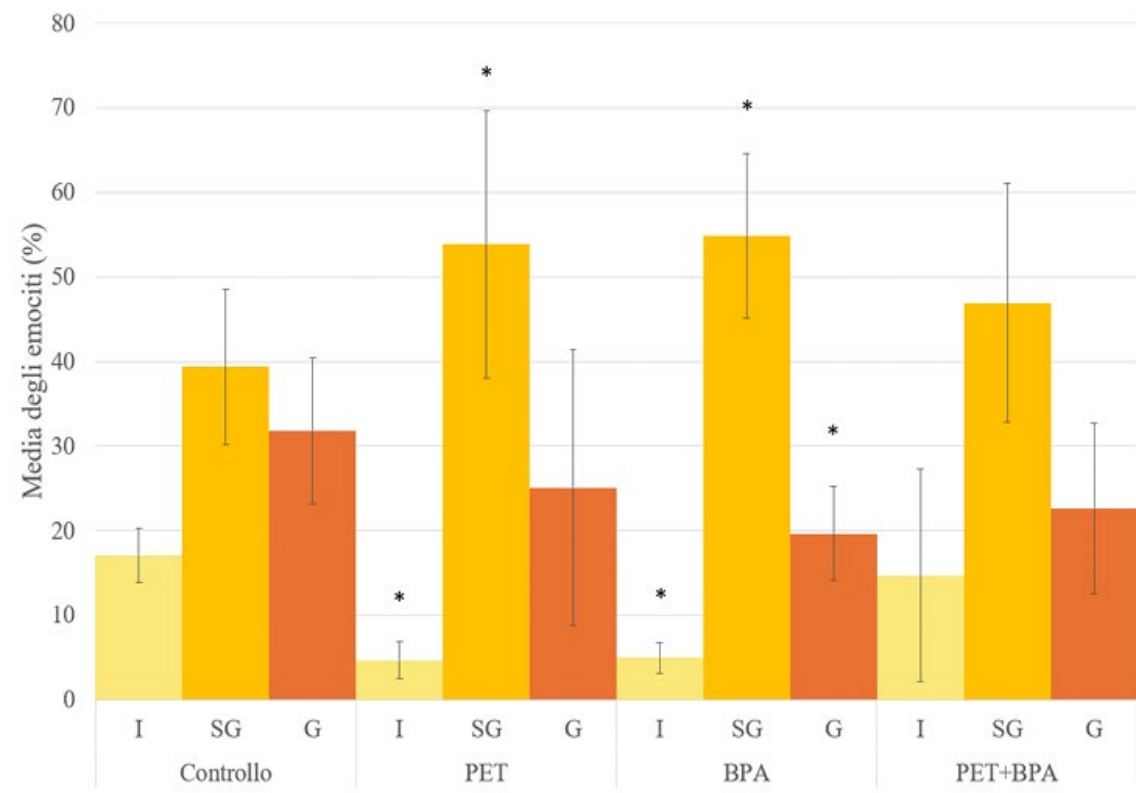
PET+BPA

- profili citometrici disorganizzati
- assenza di una popolazione a elevata granularità



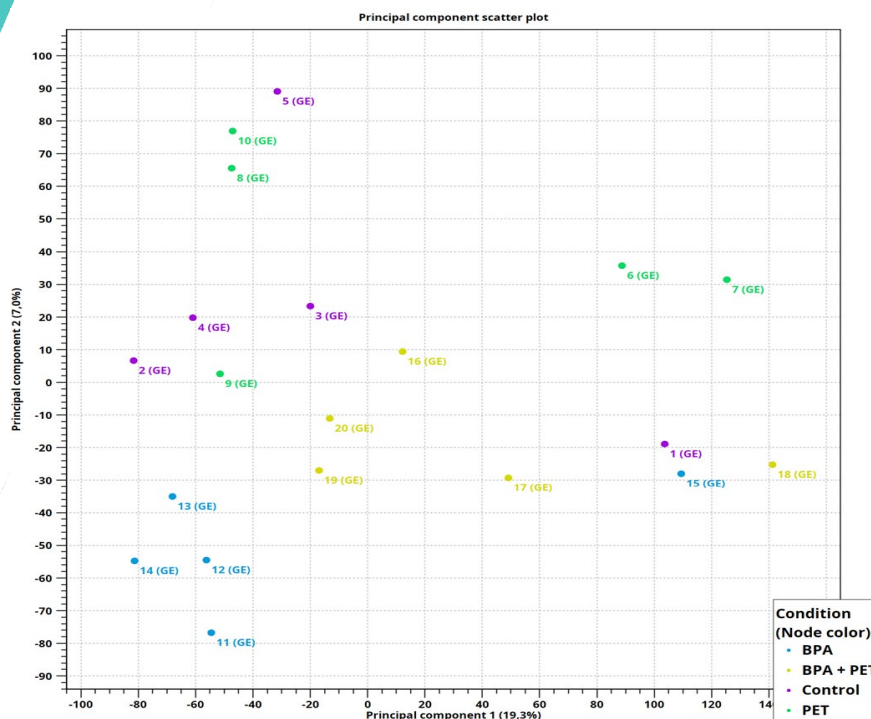
- Differenza significativa % ialinociti e semigranulociti controllo Vs PET e BPA
- % granulociti controllo Vs BPA
- Nessuna differenza significativa nella co-esposizione

Risultati Analisi citofluorimetrica



*Test Mann-Whitney ($p < 0.05$)

- Non rilevata una netta separazione sulla base della PCA
- Ampia variabilità individuale o risposte molecolari molto circoscritte



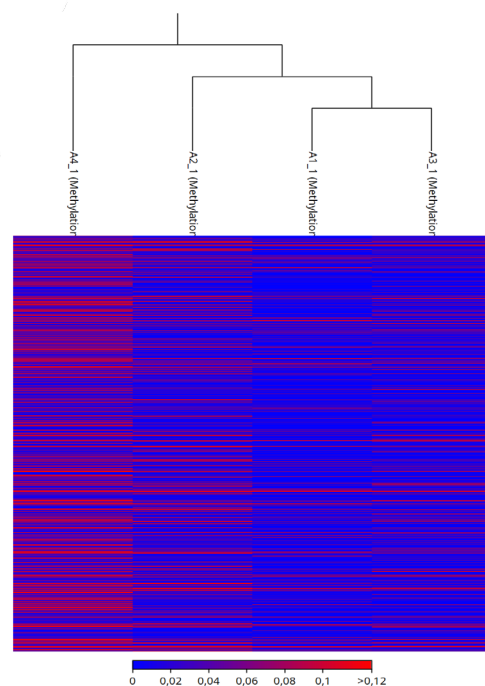
Risultati: Analisi del trascrittoma

PET vs. Control (130)



BPA + PET vs. Control (203) BPA vs. Control (236)

- Ridotta sovrapposizione tra tutti i set di DEG
- Assenza di una risposta trascrizionale robusta e condivisa tra i trattamenti (regolazione genica altamente specializzata)



Risultati: Analisi del profilo di metilazione

- 9517 regioni con profili di metilazione alterati
- Lieve incremento della metilazione nel BPA+PET Vs CTRL

GENI
DIFFERENZIALMENTE
ESPRESSI
(DEG)



REGIONI
DIFFERENZIALMENTE
METILATE
(DMR)



CONFRONTO	GENI COMUNI (No.)
PET vs. CONTROL	33
BPA vs. CONTROL	71
BPA+PET vs. CONTROL	64

Risultati: Valutazione del bioaccumulo

- No differenze significative nel contenuto di PET nel GS PET Vs CTRL
- Contenuto di PET e BPA nel GS coesposto superiore Vs gruppi singola esposizione (effetto sinergico)

GRUPPO SPERIMENTALE	PET (ng/g)	BPA (ng/g)
1 - CONTROLLO	282,01	NON RILEVATO
2 - PET	261,23	0,32
3 - BPA	377,72	1,26
4 - PET + BPA	624,87	2,08

Discussione e conclusioni

- Nel gruppo di controllo la distribuzione degli emociti è risultata in linea con quanto riportato per altre specie di bivalvi in condizioni non stressate (Le Foll et al., 2010). Questo studio costituisce la **prima evidenza** di semigranulociti in *C. gallina*.
- Nei soggetti esposti è stata osservata una riduzione degli ialinociti, un aumento dei semi-granulociti e una diminuzione dei granulociti. Questo può essere riconducibile sia alla presenza di effetti lesivi negli emociti, sia ad un aumento della fagocitosi e della **degranulazione** nei granulociti nonché ad **apoptosi** cellulare (Impellitteri et al., 2022; Fabrello & Matozzo, 2022; Frizzo et al., 2021).
- Negli animali co-esposti, si ipotizza che l'adsorbimento del BPA sulla superficie delle micro e nanoplastiche abbia diminuito temporaneamente la sua **biodisponibilità**, riducendone l'effetto lesivo come evidenziato di recente da Saraceni et al. (2025).
- Dalle analisi istologiche, si ipotizza che gli animali esposti abbiano manifestato una ridotta **risposta immunitaria**, favorendo la proliferazione di batteri e parassiti.



Discussione e conclusioni

- La risposta emocitaria potrebbe rappresentare un indicatore utile per rilevare la presenza di xenobiotici anche a basse concentrazioni, rendendola potenzialmente applicabile nei **monitoraggi ambientali** come segnale di allarme precoce.
- Sono stati individuati set di geni coinvolti a diversi livelli nella risposta agli xenobiotici, che rappresentano candidati prioritari per **futuri studi** mirati sul modello *C. gallina*
- I risultati della co-esposizione mettono in evidenza le complesse interazioni tra materiale in plastica e tossici, evidenziando quanto sia fondamentale analizzare i processi di adsorbimento e desorbimento, anche nell'ottica di una **valutazione del rischio** per il consumatore dei prodotti ittici secondo l'approccio one-health.

IZS

T E R A M O
/

ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

IZSAM – Reparto Biologia delle acque
IZSAM – Reparto Immunologia e Sierologia
Università di Padova – Dipartimento di Biologia
Croatian Veterinary Institute – Split – Croatia

Ringraziamenti

