

IZS

T E R A M O

/

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

Identificazione di indicatori dello stato di salute nella tartaruga marina *Caretta caretta*



10 giugno 2025 - CIFIV
I risultati della ricerca corrente condotta dall'IZS Teramo.
Anno 2024

IZS

T E R A M O

/

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

Obiettivo generale

Identificazione dei biomarcatori più appropriati per la valutazione degli effetti tossicologici causati dai contaminanti, comprese le microplastiche, e le infezioni antropozoonotiche, definendo un indicatore dello stato di salute della popolazione di tartarughe marine del Mediterraneo

Obiettivi specifici

- Valutare la presenza di MPs e contaminati chimici (POPs, PET, PC, PTA, BPA) nei tessuti.
- Sviluppare e applicare tests biomolecolari per l'identificazione di protozoi (*Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp.) dal contenuto G.I.
- Valutare istopatologicamente i MMs, accumulo di glicogeno, lipidi e livelli di perossidazione lipidica.
- Elaborazione statistica dei dati per la definizione di bioindicatori dello stato di salute della *Caretta caretta*

Unità Operative

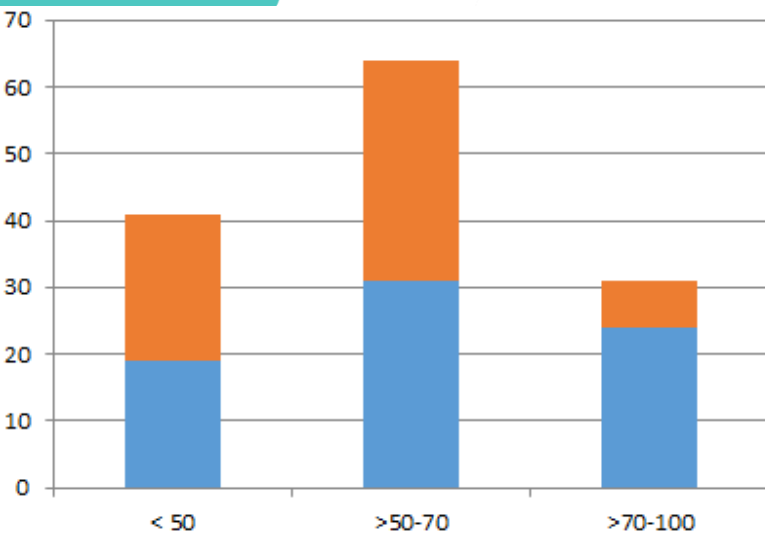
- **U01** F. Di Giacinto; Biologia delle acque – IZS Teramo
- **U02** G. Diletti; LNR per gli inquinanti organici persistenti alogenati nei mangimi e negli alimenti – IZS Teramo
- **U03** E. Nerone; CREMP – IZS Teramo
- **U04** S. Dara, IZS Sicilia, CNR « Benessere, Monitoraggio e Diagnostica delle Malattie delle Tartarughe Marine (C.Re.Ta.M.)
- **U05** I. Pascucci, IZSUM
- **U06** M. Matiddi; Istituto Nazionale per la Protezione e la Ricerca Ambientale – ISPRA
- **U07** G. Gioacchini; Dipartimento di Scienza della Vita e dell'ambiente DISVA Università Politecnica delle Marche
- **U08** E. Listes ; Croatian Veterinary Institute – CVI

WPn	Descrizione	Ruoli delle UUOO
WP1	Raccolta bibliografica e piano di campionamento	Tutte le UUOO coordinate da UO 6 e UO 4
WP2	Rilevamento delle MPs con tecniche combinate	UO1 estrazione e lettura filtri MPs; UO7 RAMAN
WP3	Rilevamento di contaminanti chimici (POPs, PET, PC, PTA, BPA) dai tessuti dell'apparato digerente dei rettili	UO2 (POPs), UO8 (PET, PC, PTA, BPA)
WP4	Sviluppo e applicazione di un protocollo biomolecolare per la rilevazione di protozoi (<i>Giardia lamblia</i> e <i>Cryptosporidium parvum</i>) dal tratto gastroenterico.	UO3
WP5	Valutazione delle caratteristiche isto-patologiche dei tessuti (Fegato e milza)	UO6 con UO1
WP6	Elaborazione dati, risultati e stesura della relazione finale	UO1 con tutte le UUOO Scienze statistiche e GIS analisi dati

WP1 - Analisi Dati da Sistema informativo centralizzato (SIC) e selezione Classe Campionaria

- Analizzati 136 campioni di tartarughe Periodo considerato: 2019–2021 (Lazio, Calabria, Abruzzo e Molise).
- Dati suddivisi per CCL (lunghezza curva del carapace) a classi di 10 cm.
- Classe selezionata per lo studio: CCL 50–70 cm → rappresenta meglio ingestione plastica e cambio alimentare post-giovanile.

Valutazione della frequenze di presenza di plastiche nel contenuto dell'apparato digerente delle tartarughe analizzate dal 2019 al 2021. (blu=non ingestione; arancio= ingestione).

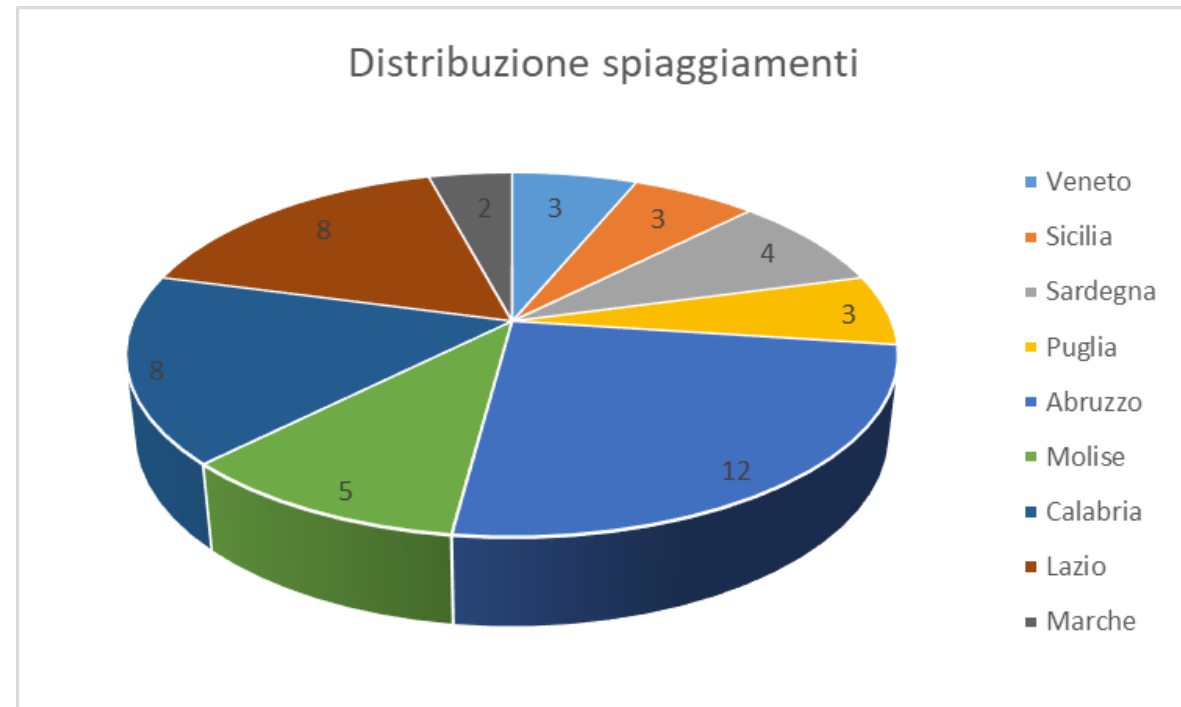


Mappa relativa agli spiaggiamenti delle tartarughe marine con l'indicazione della causa di morte e il sesso



WP1 - Dataset e Analisi Campioni

48 esemplari da 9 regioni italiane sottoposti ad esame autoptico



IZS

T E R A M O

/

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

WP2 – Plastica nel tratto gastrointestinale

- Applicazione protocollo INDICIT per rilevamento di *marine litter* nel tratto gastrointestinale durante le necroscopie
- Materiale di plastica (> 1 mm) rilevato in 21/48 esemplari (43,75%).

IZS

T E R A M O

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

WP2 - Protocollo di estrazione delle MPs da tessuti epatici

- Digestione alcalina in KOH 10%;
- separazione per densità KI 50%;
- etanolo e HCl in estrazione e filtrazione;
- osservazione e catalogazione delle MPs allo stereomicroscopio;
- caratterizzazione chimica con spettroscopia Raman.

Risultati WP2 –MPs nei tessuti epatici

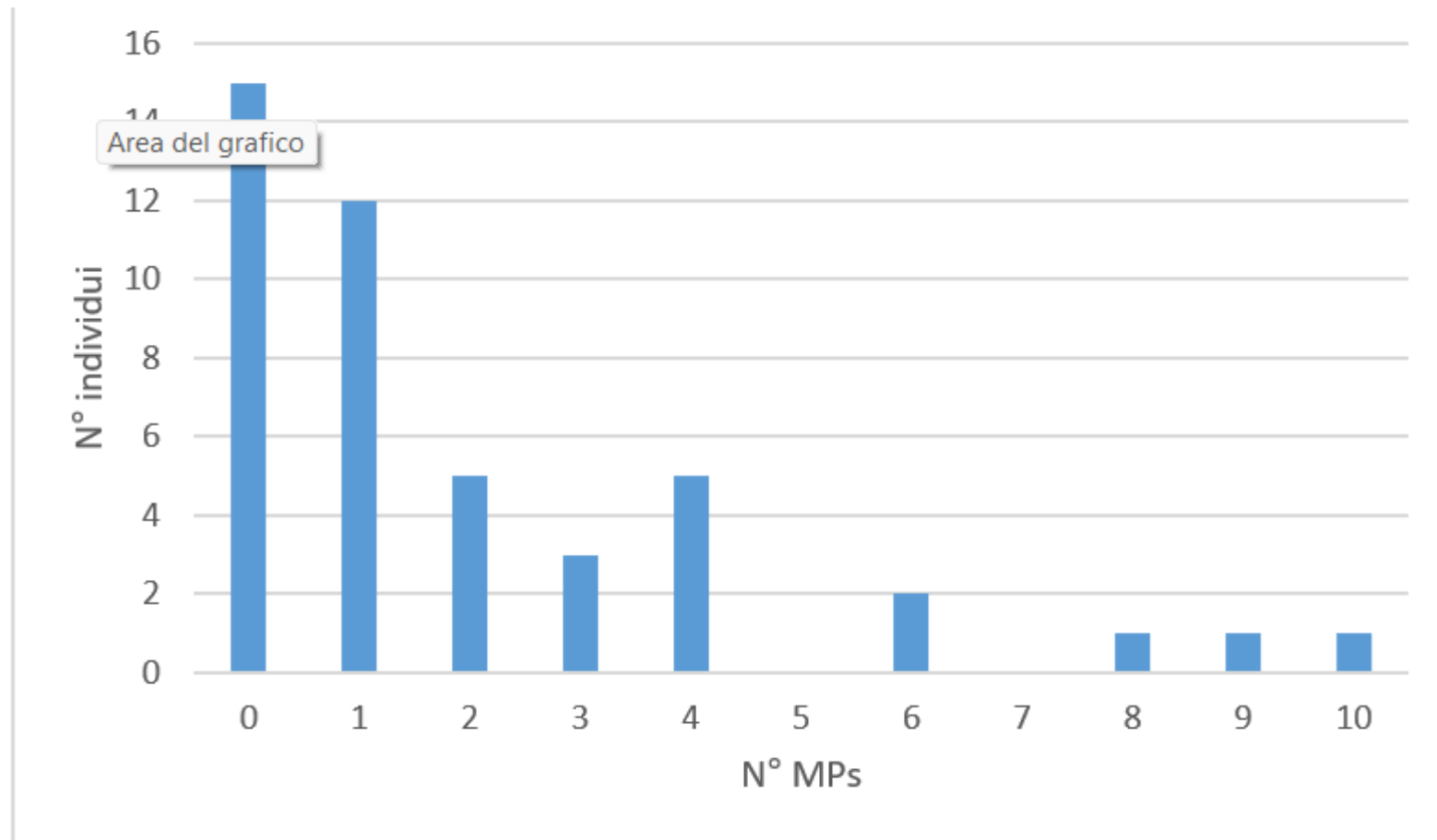
- 31 esemplari (64%) con MPs nel fegato da 0,1 a 2 MPs/g → Totale: 90 MPs rilevate.
- Le MPs avevano dimensioni comprese tra 1–10 µm, simili a quelle osservate in studi su pesci e mammiferi.
- Morfologia prevalente: **sferica**.
- Colori più comuni: nero (28%), trasparente (21%).

IZS

T E R A M O

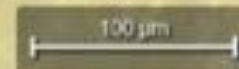
ISTITUTO
ZOOPROFILATTICO
SPERIMENTALE
DELL'ABRUZZO
E DEL MOLISE
"G. CAPORALE"

Abbondanza di microplastiche traslocate nel fegato





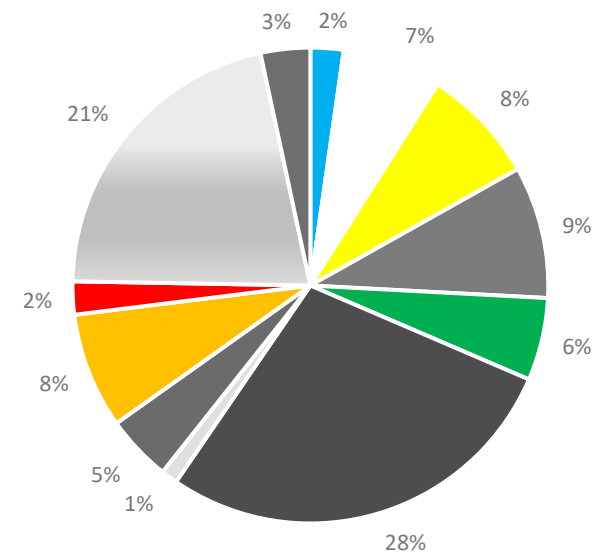
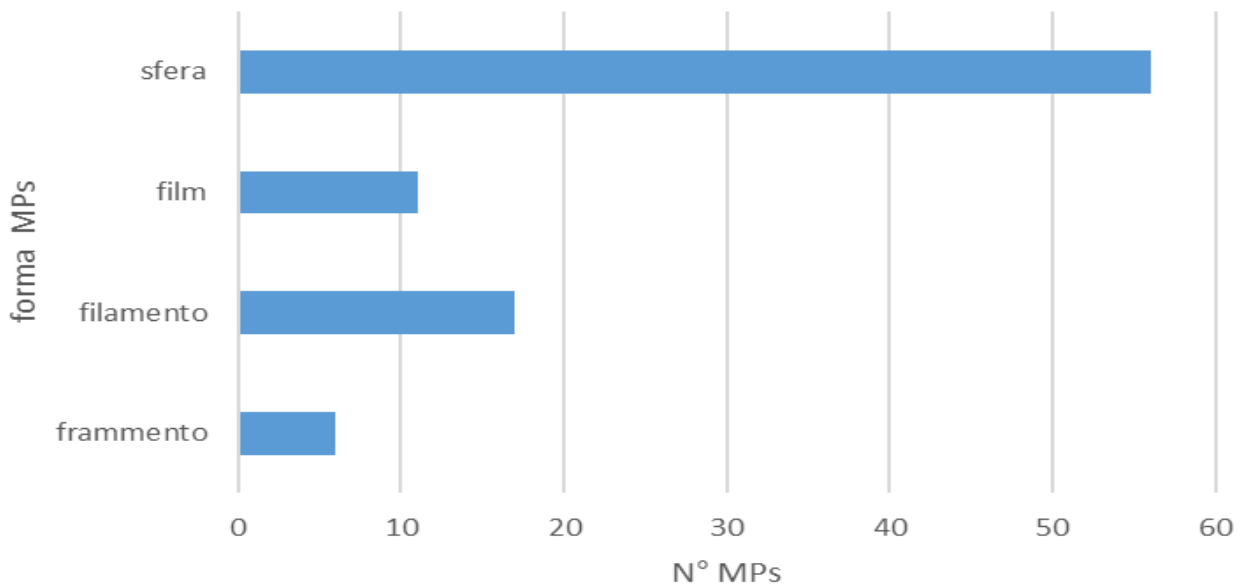
Microplastica sferica trasparente osservata allo stereo microscopio nel fegato della tartaruga ID n. 9 (ingrandimento 10x); caratterizzata al RAMAN come PET.



IZS

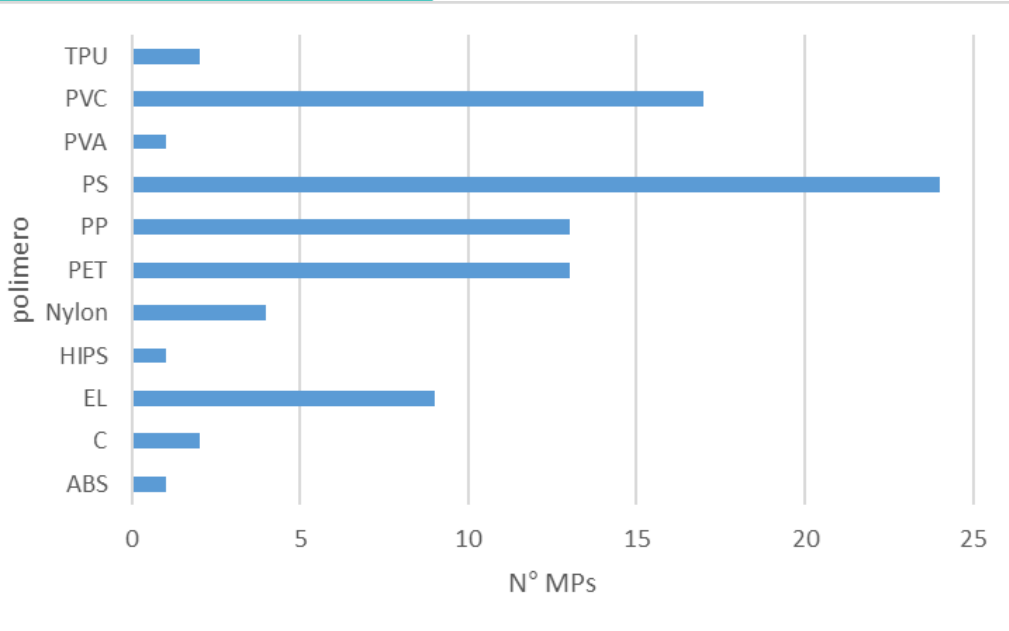
TERAMO

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



■ azzurro ■ bianco ■ giallo ■ grigio ■ verde ■ nero
■ rosa ■ marrone ■ arancione ■ rosso ■ trasparente ■ blu

Identificazione dei Polimeri (RAMAN)



- Polimeri più abbondanti: Polistirene (24), PVC (17).
- Solo il 28% degli esemplari con più MPs ha polimeri omogenei.
- Il 72% mostra MPs di polimeri diversi

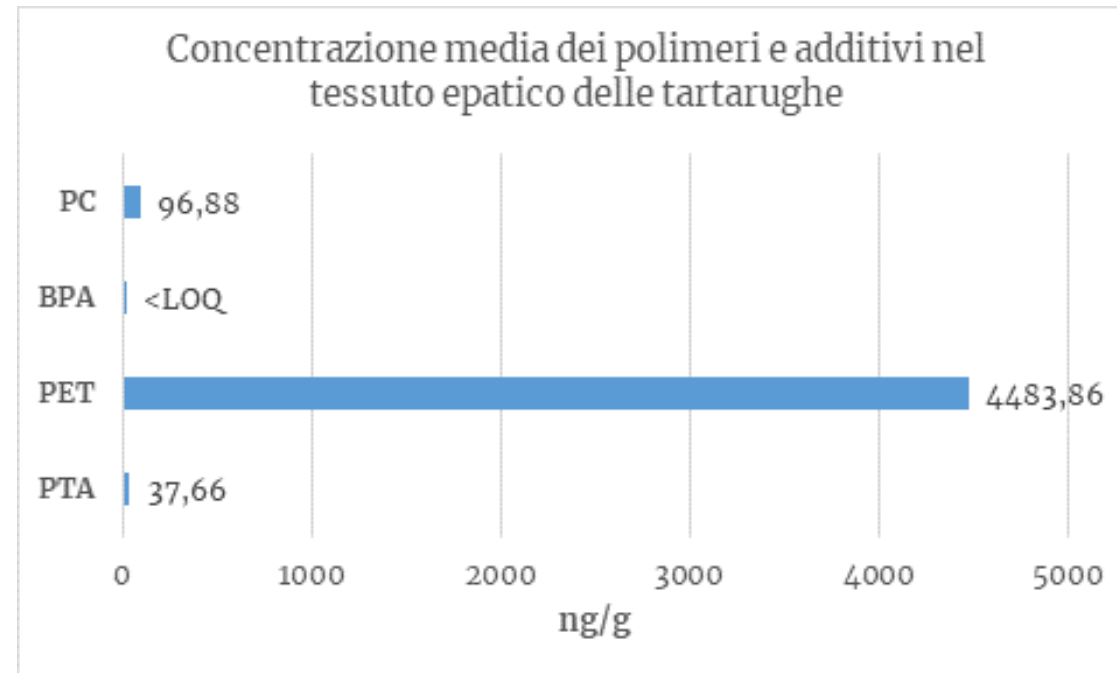
WP3 - contaminanti chimici in tessuto epatico

- Diossine (PCDD/F)
- PCB diossina-simili (DL-PCB)
- PCB non diossina-simili (NDL-PCB)
- Polibromodifenileteri (PBDE) UO 4

ID	$\Sigma 17$ PCDD/F (pg TEQ/g)	$\Sigma 12$ DL-PCB (pg TEQ/g)	$\Sigma 6$ NDL PCB (ng/g)	$\Sigma 8$ PBDE (ng/g)
Media	0,47	1,85	11,41	0,61
Deviazione standard	0,40	1,97	8,57	0,47
Mediana	0,36	1,31	9,35	0,51
Massimo	2,03	12,65	48,93	3,05
Minimo	0,04	0,15	1,29	0,18

WP3 - contaminanti chimici in tessuto epatico

- Polimeri PET e PC
- Additivi PTA e BPA (UO 8)



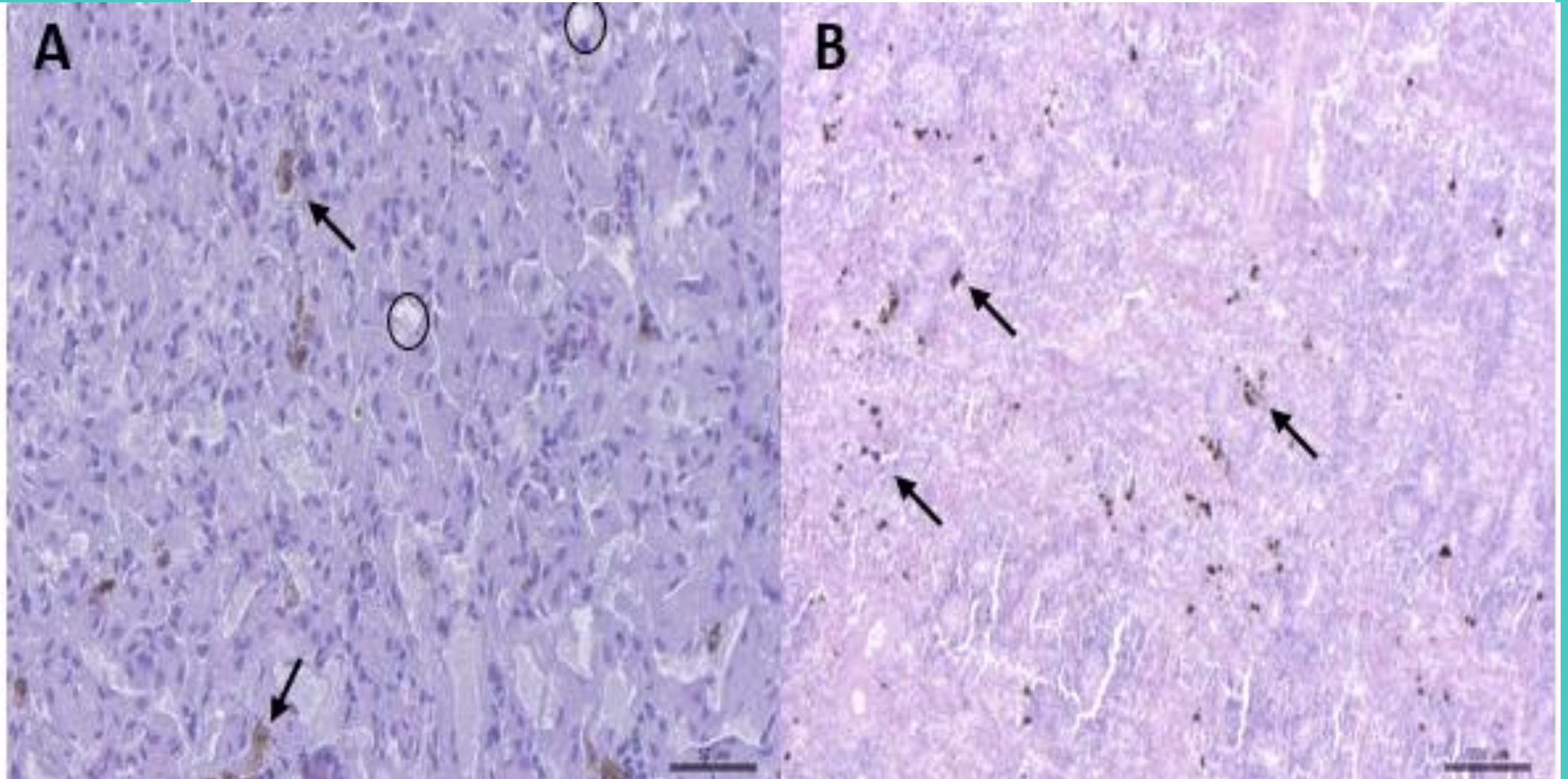
WP4 - rilevazione di protozoi



- 40 campioni di DNA sottoposti ad analisi molecolare, 13/40 (32%) sono risultati positivi alla PCR per *C. parvum* e 0/40 e negativi alla *G. lamblia*.
- Per quanto riguarda gli animali indagati, *Cryptosporidium* è stato identificato in 11 individui spiaggiati, un individuo by-catch e un individuo morto in un centro di recupero

WP5 - Valutazione delle caratteristiche isto-patologiche dei tessuti

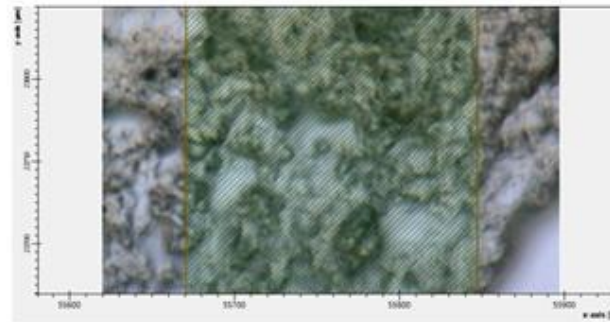
- Melanomacrofagi indicatori di attivazione immunitaria e di accumulo di materiali estranei (MMs): abbondanti in fegato e milza
- Ottimizzati protocolli per la quantificazione istologica e statistica dei MMCs
- Ottimizzati protocolli per la determinazione dei lipidi, del glicogeno e della perossidasi lipidica macromolecolare (FTIR)



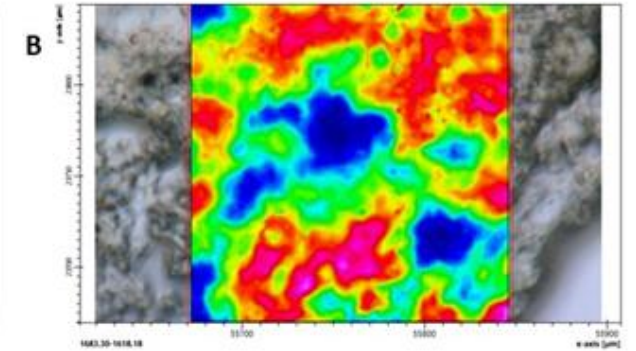
Sezioni rappresentative di fegato e milza con MMs(frecce) e presenza di lipidi (cerchi neri)

Fotomicrografia di un campione di fegato sezionato al criostato (A), rappresentazione della distribuzione delle proteine (B), dei lipidi (C) e dei lipidi che sono andati incontro a perossidazione (D) valutati tramite microspettroscopia FPA-FTIR. La distribuzione è rappresentata secondo una scala colorimetrica che va da valori massimi espressi in rosso fino ai valori minimi espressi in blu/nero

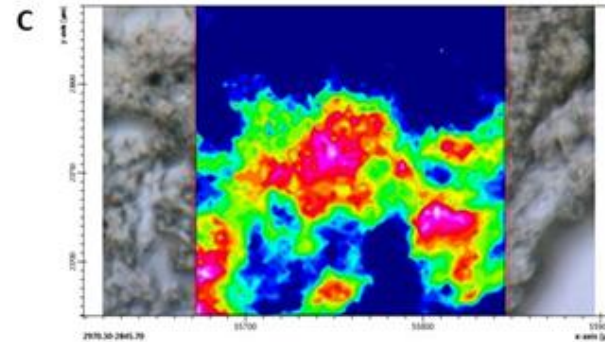
MICROFOTOGRAFIA CAMPIONE FEGATO(15x)



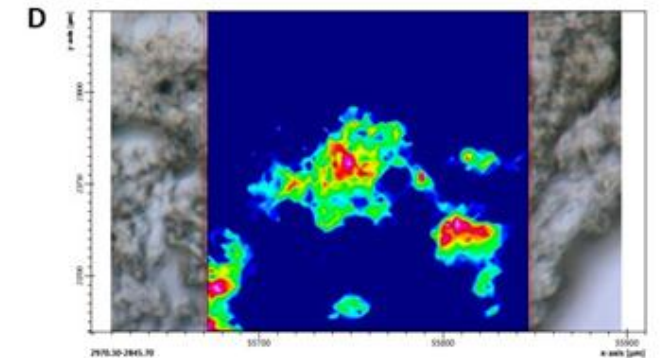
DISTRIBUZIONE PROTEINE



DISTRIBUZIONE LIPIDI



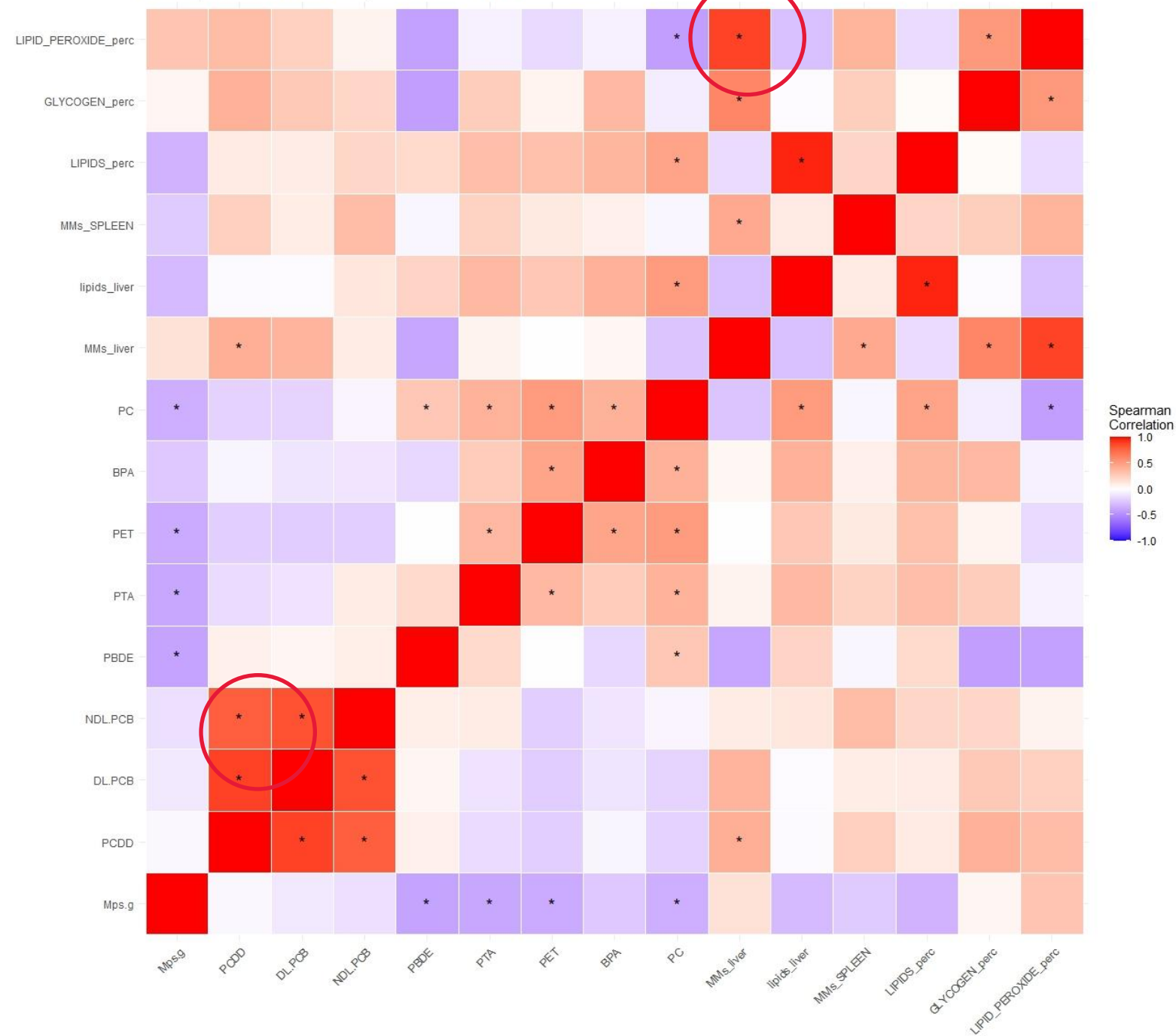
DISTRIBUZIONE LIPIDI/PEROSSIDAZIONE



WP6 – correlazioni statistiche

1. tra tutti gli analiti e i biomarkers (MMs fegato, MMs milza, perossidazione lipidica epatica, glicogeno epatico %, lipidi epatici %);
2. tra i biomarker con la contaminazione da plastiche (MPs/g, PET, PTA, BPA, PC, rifiuti marini);
3. dei biomarker con i patogeni;
4. dei biomarker con i contaminanti persistenti (DL-PCB, NDL-PCB, PCDD, PBDE);
5. degli animali prelevati nel Mar Adriatico e nel Mar Tirreno;
6. tra plastiche e gli inquinanti ambientali persistenti compresi polimeri;
7. stato di salute degli animali (distinto in “stato di nutrizione” e “causa di morte”) e tutti i risultati di laboratorio.

Heatmap delle Correlazioni di Spearman con P-Value



- biomarker di perossidazione lipidica epatica e di MMs epatici; DL-PCB e NDL-PCB e PCDD.
- biomarker glicogeno epatico con MMs epatici;
- biomarker perossidazione lipidica epatica con glicogeno epatico;
- Biomarker percentuale lipidi con PC;
- PC con PET;
- MMs milza con MMs epatici;
- MMs epatici con PCDD;
- PC con BPA, PBDE, PTA;
- BPA con PET;
- PET con PTA.

Discussioni

- Dati finora disponibili sui contaminanti mai correlati con ulteriori inquinanti, patogeni e biomarker
- Eseguita un'analisi esaustiva su ricerca di Mps ingerite e quantificazione di polietilene tereftalato (PET), di policarbonato (PC), di acido paraftalico (PTA) e di bisfenolo A (BPA) nei tessuti epatici.
- I biomarker di perossidazione lipidica e gli MMs e MMCs epatici possono essere utilizzati indistintamente come biomarcatori per la valutazione dello stato di salute degli animali.

Discussioni e Conclusioni

- Il monitoraggio di uno di questi due biomarcatori si potrebbe applicare per continuare ad analizzare lo stato di salute della popolazione di tartarughe marine nel Mar Mediterraneo.
- I risultati ottenuti evidenziano una prevalenza non trascurabile di *Cryptosporidium parvum*.

Ringraziamenti al Ministero, agli Enti e colleghi collaboranti, all'ufficio progettazione

IZS

TERAMO

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

