

PROGRAMMA FINALIZZATO AL MIGLIORAMENTO DELLA PRODUZIONE
E COMMERCIALIZZAZIONE DEL MIELE - Annualità 2005 - 2006

Propoli e cannella contro la peste americana

di G. Formato*, F. Riccardi*, S. Saccares*, R. Fritz⁽²⁾, M.J. Eguaras^(1,3), M. Palazzetti³, B. Gende Liesel^(1, 2, 3)

INTRODUZIONE

La peste americana (PA) è la più grave malattia batterica della covata delle api (*Apis mellifera*). L'agente causale è il *Paenibacillus larvae* (Genersch *et al.*, 2006). Molti sforzi sono stati fatti per controllare questa patologia sia mediante antibiotici (Lindstrom, 2006) che con altre sostanze ad azione antimicrobica (Alippi *et al.*, 1996; Gende *et al.*, 2005a).

L'impiego di antibiotici nel trattamento della peste non è autorizzato nella Comunità Europea ed è ormai noto che il ricorso alle suddette molecole comporta diversi svantaggi in termini di: antibioticoresistenza (Alippi, 2000; Miyagi *et al.*, 2000), immagine per i prodotti dell'alveare, sicurezza alimentare, possibili sanzioni e ripercussioni penali, ecc.

Si è deciso quindi, anche grazie alle conoscenze già acquisite dai colleghi ricercatori argentini dell'Università Nazionale di Mar del Plata

L'impossibilità di ricorrere agli antibiotici o ai chemioterapici spinge i ricercatori a trovare nuove molecole efficaci nel controllo della peste americana. Nel presente lavoro è stata valutata l'efficacia di molecole a basso impatto ambientale, quali la propoli e la cannella. E' comunque bene tener presente che gli sforzi fatti dai ricercatori in questo senso rappresentano solo un primo passo, che dovrà essere necessariamente seguito dal riconoscimento e dalla approvazione ufficiale da parte della normativa comunitaria delle sostanze il cui effetto terapeutico verrà eventualmente ritenuto valido prima del loro impiego negli apiari

(UNMDP) (Gende *et al.*, 2006; Antunez *et al.*, 2006), di testare, su un ridotto numero di famiglie malate di peste americana, due sostanze naturali

con attività antimicrobica nota: la propoli e l'olio essenziale di cannella.

La prova è stata condotta su 21 famiglie, sotto il diretto controllo dei Servizi Veterinari della ASL di Viterbo, presso un apiario ubicato in Acquapendente (VT) nei mesi di giugno e luglio 2006.

La prova si proponeva di realizzare due diversi tipi di valutazioni per

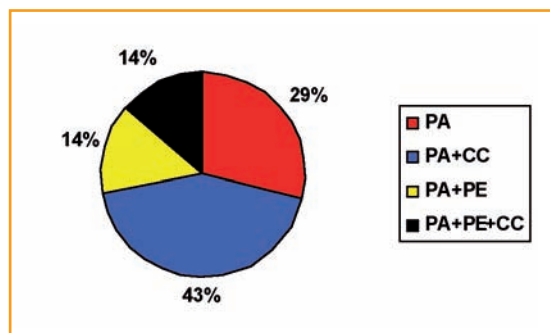
la propoli e l'olio essenziale di cannella:

1. VALUTAZIONE DELLA "CAPACITÀ DI CONTRASTARE L'INFEZIONE"

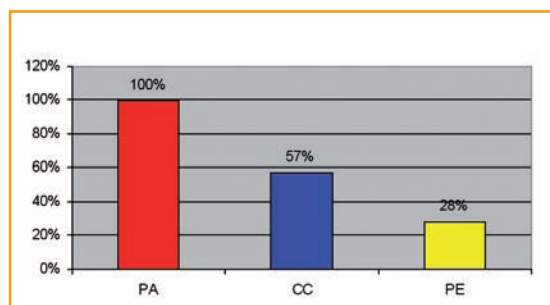
Per verificare l'andamento dell'infezione all'interno delle arnie infette soggette ai trattamenti, due giorni prima di iniziare i trattamenti è stato inserito in ciascuna famiglia infetta un telaino contenente covata sana (sia opercolata che non opercolata). Quindi, su questo telaino, sono stati effettuati dei conteggi per 6 volte ad intervalli regolari di una settimana, al fine di verificare il numero delle cellette che presentavano i sintomi di peste americana con il progredire del tempo. La conta è stata effettuata su un'area di 100 cm² (cm 10x10), sulla faccia destra ed in posizione centrale di ogni favo introdotto negli alveari.

2. VALUTAZIONE DELLA "ATTIVITÀ ANTIMICROBICA" DEI TRATTAMENTI

E' stato verificato lo stato sanitario delle famiglie trattate, raffrontando il livello di infezione 5 settimane



● Fig. 1
Stato sanitario delle famiglie.



● Fig. 2
Prevalenza delle diverse malattie nell'apiario.

Utilizzo di antimicrobici naturali a basso impatto ambientale nella lotta alla peste americana

di G. Formato*, F. Riccardi*, S. Saccares*, R. Fritz⁽²⁾, M.J. Eguaras^(1,3), M. Palazzetti³, B. Gende Liesel^(1,2,3)

SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI

	Conta del 07/06/06	Conta del 15/06/06	Conta del 21/06/06	Conta del 28/06/06	Conta del 05/07/06	Conta del 12/07/06
GRUPPO "ANTIBIOTICO"	0	0,6	0,2	0,6	0	0
GRUPPO "CANNELLA"	0	0	0	1,2	0,4	5,4
GRUPPO "PROPOLI"	0	0	0,4	4,2	7,4	15,2
GRUPPO "BIANCO"	0	1	2	7	8,4	15

● **Tabella 1**
N° medio di cellette colpite da PA nel telaino sano inserito nelle arnie infette.

dopo l'ultimo trattamento, rispetto a quello riscontrato prima dell'inizio della prova.

MATERIALI E METODI

Al fine di accertare lo stato sanitario (Fig. 1 e Fig. 2) delle famiglie soggette a prova, è stata effettuata una visita di tutti gli alveari, unitamente ad un prelievo di favo da nido per la diagnosi di laboratorio (a cura dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana) secondo i metodi dettati dall'OIE (Ufficio Internazionale per le Epizootie). Le colonie sono state quindi suddivise in 4 gruppi, il più possibile omogenei tra loro rispetto a: presenza delle diverse patologie, livello d'infezione e forza delle famiglie. Per la precisione, 5 alveari sono stati sottoposti a trattamento con antibiotico, 6 a trattamento con olio essenziale di cannella, 5 con propoli e 5 non sono stati trattati (gruppo di controllo).

I trattamenti sono stati effettuati per 3 volte, a distanza di una settimana l'uno dall'altro.

GRUPPO "ANTIBIOTICO"

Ogni alveare appartenente a questo gruppo è stato sottoposto a trattamento con tetraciclina HCl (0,4 g di principio attivo + 0,4 g di zucchero a velo), somministrata per tre volte ad intervalli di una settimana

GRUPPO "CANNELLA"

È stato sottoposto a 3 somministrazioni ad intervalli di una settimana uno dall'altro di olio essenziale di cannella (*Cinnamomum zeylanicum* Blume). In questo caso, per la scelta del dosaggio ci si è riferiti alle esperienze già effettuate dai ricercatori dell'UNMDP con test sia in vitro (Gende *et al*, 2005b) della MIC (minima concentrazione inibente) e della tossicità per le api, che su campo. Il primo trattamento è stato effettuato somministrando nel nutritoire a tasca del nido 250 ml di sciroppo/famiglia contenenti una concentrazione di olio essenziale di cannella disciolto in soluzione alcoolica pari a 2000 mg/L (ppm); gli ultimi 2 trattamenti sono stati

effettuati somministrando 250 ml di sciroppo zuccherino contenenti 1000 mg/L (ppm) di cannella disciolta in soluzione alcoolica.

In sede di primo trattamento si è deciso di provare a somministrare in un alveare la cannella in soluzione zuccherina direttamente mediante aspersione per gocciolamento sulle api. Questa modalità di somministrazione ha però comportato la morte della famiglia trattata in tempi molto rapidi. Fortunatamente questa prova è stata effettuata solo su una colonia.

GRUPPO "PROPOLI"

Ciascun alveare di questo gruppo è stato alimentato, mediante il nutritoire a tasca del nido, con 250 ml di sciroppo (2 parti di zucchero ed 1 parte di acqua) contenente il 6% di propoli (in soluzione alcoolica). Il trattamento è stato somministrato una volta a settimana, per 3 volte.

GRUPPO "BIANCO" ("CONTROLLO")

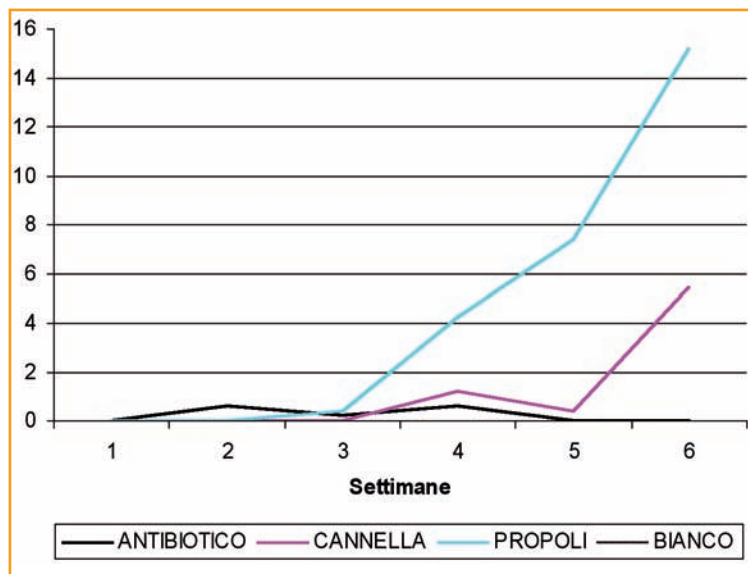
L'ultimo gruppo di 5 alveari non è stato sottoposto ad alcun tipo di trattamento. È stato infatti somministrato solamente sciroppo (2 parti di zucchero ed 1 parte di acqua), in quantità pari a 250 ml nel nutritoire a tasca del nido, una volta a settimana per 3 volte.

RISULTATI

Nelle 21 famiglie soggette a prova, si presentavano (Fig. 1):

- 6 casi (29%) di peste americana (PA);
- 9 casi (43%) di peste americana insieme alla covata calcificata (PA+CC);
- 3 casi (14%) di peste americana insieme alla europea (PA+PE);
- 3 casi (14%) di peste americana insieme alla peste europea ed alla covata calcificata (PA+PE+CC).

Per la precisione, l'incidenza delle diverse malattie in apiario era la seguente (Fig. 2): 21 casi di peste americana (tutte le famiglie); 6 casi



● **Fig. 3**
N° medio di cellette con sintomi di PA.

Utilizzo di antimicrobici naturali a basso impatto ambientale nella lotta alla peste americana

di G. Formato*, F. Riccardi*, S. Saccares*, R. Fritz⁽²⁾, M.J. Eguaras^(1,3), M. Palazzetti³, B. Gende Liesel^(1,2,3)

DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APIT

● Tabella 2

N° medio di celle colpite da CC durante la prova nel telaino sano inserito nelle arnie infette.

	Conta del 15/06/06	Conta del 21/06/06	Conta del 28/06/06	Conta del 05/07/06	Conta del 12/07/06
GRUPPO "ANTIBIOTICO"	0,2	0,4	0,2	1,8	0,6
GRUPPO "CANNELLA"	0,4	0,2	0,2	0	0
GRUPPO "PROPOLI"	0,6	0,2	0,2	0	0,8
GRUPPO "BIANCO"	0	0,2	0	0,4	1,4

● Tabella 3

Livello d'infezione di PA nelle famiglie prima e dopo i trattamenti.

	LIVELLO D'INFEZIONE DELLE FAMIGLIE PRIMA DEI TRATTAMENTI	punteggio assegnato (prima)	LIVELLO D'INFEZIONE DELLE FAMIGLIE 5 SETTIMANE DOPO I TRATTAMENTI	punteggio assegnato (dopo)
GRUPPO "ANTIBIOTICO"	4 famiglie in stadio avanzato, 1 famiglia in stadio lieve	13	3 famiglie guarite, 2 famiglie in stadio lieve	2
GRUPPO "CANNELLA"	4 famiglie in stadio avanzato, 1 famiglia in stadio lieve	13	4 famiglie in stadio lieve, 1 famiglia in stadio medio	6
GRUPPO "PROPOLI"	4 famiglie in stadio avanzato, 1 famiglia in stadio lieve	13	2 famiglie spopolate, 1 famiglia in stadio medio, 2 famiglie in stadio lieve	12
GRUPPO "BIANCO"	4 famiglie in stadio avanzato, 1 famiglia in stadio medio	14	4 famiglie spopolate, 1 famiglia in stadio lieve	18

di peste europea e 12 casi di covata calcificata.

VALUTAZIONE DELLA "CAPACITÀ DI CONTRASTARE L'INFEZIONE"

Per verificare l'andamento dell'infezione nel tempo all'interno delle arnie soggette ai diversi trattamenti, sono state contate le cellette con sintomatologia di peste americana su un'area di 100 cm² posta sulla faccia destra ed in posizione centrale di ogni favo, inizialmente sano, immesso negli alveari due giorni prima di iniziare la prova. La conta è stata effettuata per 6 settimane, una volta a settimana, a partire dal giorno del primo trattamento.

Nella **Tabella 1** e nella **Figura 3** è possibile verificare l'andamento del numero medio di cellette di covata che hanno manifestato segni di PA nelle 6 settimane di osservazione. Dall'inizio dei trattamenti fino alla terza settimana, le colonie trattate con cannella non hanno presentato sintomi d'infezione. Dalla terza set-

timana il livello d'infezione negli alveari trattati con cannella è aumentato rispetto agli alveari trattati con tetraciclina, rimanendo pur sempre su valori significativamente più bassi rispetto ai trattamenti effettuati con

la propoli ed al gruppo di controllo. I dati raccolti non sono stati sufficienti per interpretare l'azione di propoli e cannella nei confronti del *Melissococcus plutonius*, principale agente responsabile della peste europea. Lo stesso discorso è valido per l'*Ascosfera apis*, agente responsabile della covata calcificata, anche se per questo patogeno la cannella sembrerebbe avere effetto inibente la crescita, a differenza dell'antibiotico che, addirittura, sembrerebbe favorirne la comparsa (**Tabella 2** e **Figura 4**). Ulteriori studi andrebbero comunque condotti per avvalorare tali ipotesi.

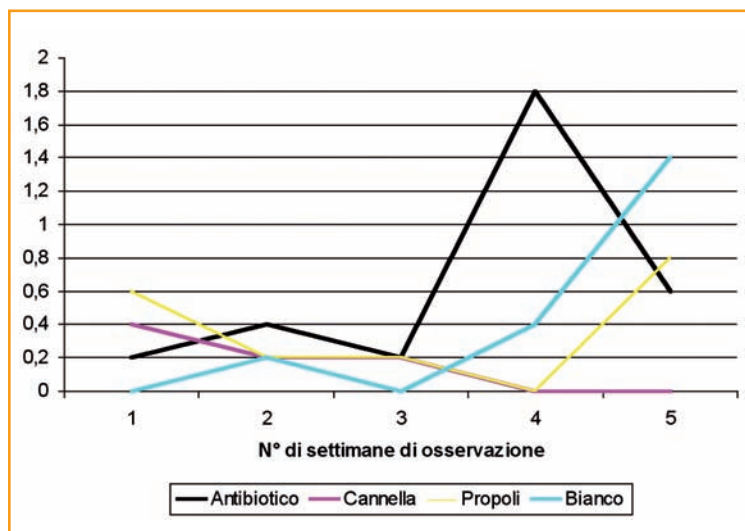
VALUTAZIONE DELLA "ATTIVITÀ ANTIMICROBICA" DEI TRATTAMENTI

Per la valutazione su campo della attività antimicrobica dei diversi trattamenti verso il *P. larvae*, è stato confrontato il livello d'infezione di PA delle famiglie prima dell'inizio della prova, con quello rinvenuto nelle stesse famiglie 5 settimane dopo l'ultimo trattamento (**Fig. 5**). A tal fine, è stato assegnato un punteggio in funzione del livello d'infezione riscontrato nelle famiglie soggette a prova (**Tab. 3**):

- **ALTISSIMO** ("spopolamento"), cui è stato assegnato un punteggio pari a 4;
- **ALTO** (+++), cui è stato assegnato un punteggio pari a 3;
- **MEDIO** (++) , cui è stato assegnato un punteggio pari a 2;
- **BASSO** (+), cui è stato assegnato un punteggio pari a 1;

● Fig. 4

N° di cellette colpite da covata calcificata in 5 settimane di osservazione dall'inizio dei trattamenti.



Utilizzo di antimicrobici naturali a basso impatto ambientale nella lotta alla peste americana

di G. Formato*, F. Riccardi*, S. Saccares*, R. Fritz⁽²⁾, M.J. Eguaras^(1,3), M. Palazzetti³, B. Gende Liesel^(1, 2, 3)

GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA · GLI SPECIALI DI APITALIA

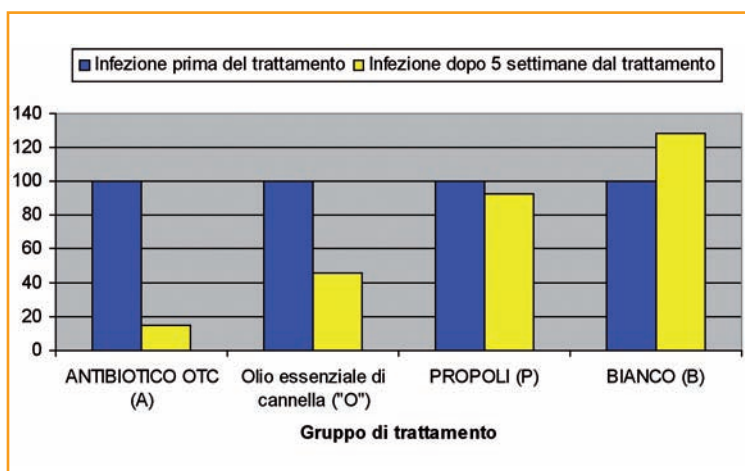
• **ASSENTE** (“sana” o “guarita”), cui è stato assegnato un punteggio pari a 0.

Confrontando il punteggio assegnato ai diversi gruppi di trattamento prima e dopo la somministrazione dei principi attivi, è possibile ricavare la percentuale di miglioramento (o di peggioramento) del livello d’infezione di PA, come riportato nella **Tabella 4** e nella **Figura 5**. Come è possibile vedere dal grafico (**Fig. 5**), tutti gli alveari trattati hanno presentato, dopo 5 settimane dall’ultimo trattamento, un livello d’infezione più basso rispetto agli alveari non trattati (controllo). Il gruppo “cannella” è quello che però più si avvicina alla riduzione dell’infezione avvenuta nel gruppo “antibiotico” (di ben 84,6%). Anche nel gruppo “propoli” scende, ma di solo il 7,7% il livello d’infezione iniziale (**Tab. 4**); risultato comunque non trascurabile, considerando la continua esposizione alla malattia delle famiglie durante il periodo di prova.

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

L’olio essenziale di cannella e la propoli hanno dimostrato di avere su campo effetti antimicrobici complessivamente diversi. Mentre la cannella ha una capacità di contrastare l’infezione di peste americana abbastanza simile a quella dell’antibiotico, quella della propoli è più simile al gruppo di controllo (bianco). L’attività antimicrobica dell’olio essenziale di cannella è avvalorata anche dagli studi effettuati sia *in vitro* che su campo da Carta e Floris (1990). E’ anche importante considerare che, nella prova di campo sopra riportata, tutte le arnie soggette a sperimentazione presentavano un livello iniziale di infezione molto elevato (molto probabilmente, in arnie meno infette i risultati avrebbero potuto essere migliori). Per quanto concerne la capacità di contrastare l’infezione di covata calcificata (dovuta all’*Ascospfera apis*), la propoli sembrerebbe dare buoni risultati e la cannella ottimi. Approfondimenti andrebbero comunque fatti per confermare tali ipotesi, per ora solo a carattere indicativo. Anche per quanto concerne il livello d’infezione di peste

	LIVELLO D’INFEZIONE IN % DOPO I TRATTAMENTI (considerando un livello pari al 100% dei trattamenti)	DIFFERENZA (MIGLIORAMENTO) IN % DEL LIVELLO D’INFEZIONE
GRUPPO “ANTIBIOTICO”	15,4	84,6
GRUPPO “CANNELLA”	46,1	53,7
GRUPPO “PROPOLI”	92,3	7,7
GRUPPO “BIANCO”	128,6	-28,6



● **Tabella 4**
Differenza % del livello d’infezione di PA nei diversi gruppi, 5 settimane dopo la fine dei trattamenti

● **Fig. 5**
Livello di infezione di Peste Americana dopo 5 settimane dalla fine dei trattamenti

americana prima/dopo il trattamento, vi sono forti differenze tra la propoli e la cannella: seppure entrambe le sostanze sono dotate di una certa efficacia nel ridurre il livello d’infezione, tale efficacia è molto più elevata nella cannella (53,7%) rispetto alla propoli (7,7%). Ci siamo trovati quindi di fronte a sostanze che, da sole, non riescono a risolvere completamente il problema della peste, ma che, probabilmente, utilizzate a scopo preventivo o comunque in associazione ad altri metodi (es. messa a sciame), potrebbero dare risultati soddisfacenti. Indubbiamente ci troviamo di fronte ad un settore in cui vale la pena investire per trovare le giuste vie di somministrazione, la posologia e l’abbinamento più efficace per svilupparne le potenzialità migliori.

RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia l’Associazione di Apicoltori APILAZIO per aver contribuito direttamente alla realizzazione del progetto; l’Apicoltura Manfredini per la disponibilità prestata nel mettere a disposizione gli alveari

per lo svolgimento delle suddette prove di campo; UNMDP e CONICET per aver consentito alla ricercatrice argentina di poter effettuare il viaggio in Italia.

Giovanni Formato*,
Francesca Riccardi*,
Stefano Saccares*

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

Gende Liesel B.^(1, 2, 3),
Fritz Rosalia⁽²⁾,
Eguaras Martin J.^(1, 3)

⁽¹⁾Departamento de Biología y

⁽²⁾Departamento de Química.

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Universidad Nacional de Mar del Plata.

Funes 3350 (7600).

T.E: (51)(0223) 475-6167.

FAX: (51)(0223) 475-3150.

Mar del Plata. Buenos Aires. Argentina.

lgende@mdp.edu.ar

⁽³⁾CONICET

Massimo Palazzetti³

³Azienda USL Viterbo USL

La bibliografia è disponibile presso gli Autori