

Roma, 7 maggio 2014

Giornata Studio

Attività di Ricerca Corrente presso IZS Lazio e Toscana



INDAGINE SULLE POSSIBILI CAUSE DELLO SPOPOLAMENTO E MORTE DEGLI ALVEARI E LORO IMPATTO SULLA SICUREZZA DELLA FILIERA MIELE

IZSLT08/08 RC



Dott. Giovanni Formato
Unità Operativa di Apicoltura



Stato dell'arte

í ..correva l'annoí í 2007

scoppia

l'emergenza «MORIA ALVEARI»

Perdite di colonie in Europa

Country	Losses	When	where
Germany	~10% > 30%	2005 to 2008 2007/08	Monitoring project in south
Austria	8 to 15%	2007-2008	depending of regions
Poland	20% >30%	2007/08 2007/08	from questionnaires from samples
USA	30% < 17%	08.07.2006 before	
Belgium	8 to 18%	2006-2007	
Croatia	16% 25%	2005-6 Winter 2007-8	
Finland	16% 34% 10%	98-02 2002-03 2003-07	
Italy	30-40% 10-30%	2007 2007	North South
Greece	5 to 25%	2007	survey (166 questionnaires) depending on the area
Switzerland	30% 10-30 %	2007-8 2002-7	
Denmark	15,9 22-25%	1986- 2006 2007-2008	
Netherlands	13-26%	2003-08	
Bulgaria	6%	2007	
Turkey	40% 10%	2007 2007	<i>Carnica & caucasica</i> <i>Anatolica</i>
Sweden	devastating	2002-3	
Slovenia	27% 20%	last winter 2007	

Data from 2nd CoLoss meeting, Feb. 2008

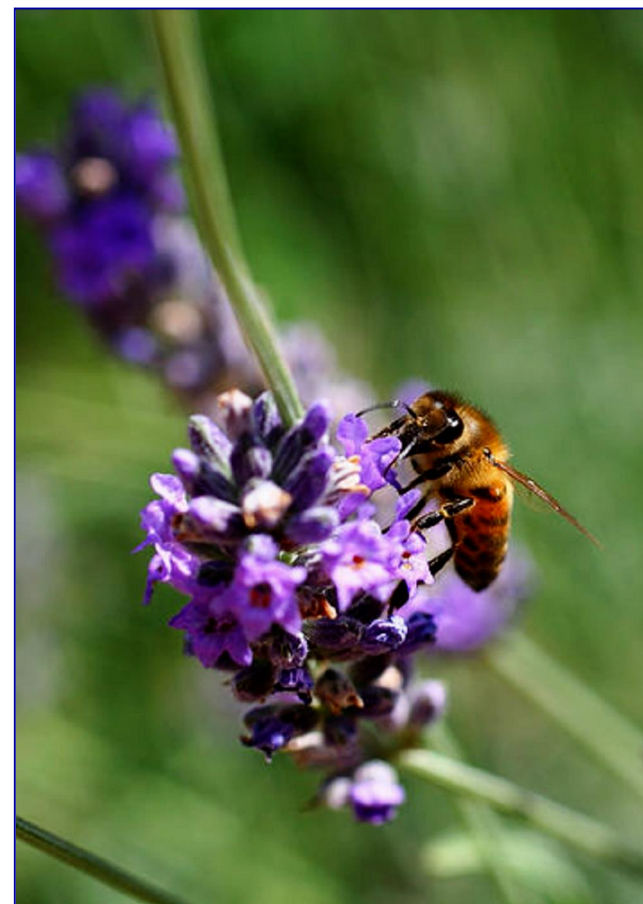
ITALIA

Perdita stimata nel 2007:

200.000 alveari

Danno da 40 milioni di euro/annui

(ISPRA, 2008)



Problematiche da affrontareí í í í

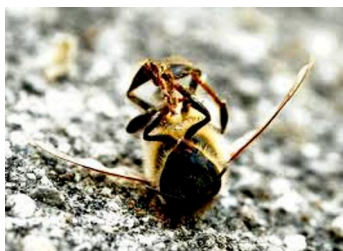
1.Imprevedibilità dei casi di moria da poter studiare

2.Procedure di laboratorio

3.Protocolli di intervento in campo

4.Metodologia di raccolta ufficiale dei dati sulle morie

5.í la natura stessa dell'argomento



Uno studio multidisciplinare si rendeva necessario

Per valutare se, ed in che maniera, i diversi fattori (biologici, chimici, fisici) potevano essere effettivamente associati ai fenomeni di spopolamento e morte degli alveari.



Esistenza di una eventuale correlazione tra questi e l'impatto sulla sicurezza della filiera miele.

L'attività del progetto si è sviluppata nell'arco di tre anni e mezzo.



Unità Operative partecipanti	Responsabile di U.O.
D. O. Diagnostica Generale IZSLT	Dott. ssa Alessia Franco
Ufficio di Staff Biotecnologie IZSLT	Dott.ssa Antonella Cersini
D.O. Produzioni Zootecniche IZSLT	Dott.ssa Maria Concetta Campagna
Ufficio di Staff Biotecnologie IZSLT	Dott. Raniero Lorenzetti
Ufficio di Staff Biotecnologie IZSLT	Dott.ssa Giusy Cardeti
Microscopia Elettronica Reparto di Virologia IZSLER- Brescia	Dott. Antonio Lavazza
Osservatorio Epidemiologico IZSLT	Dott.ssa Paola Scaramozzino
D.O. Chimico IZSLT	Dott. Alessandro Ubaldi
Centro di Referenza Nazionale per l'Apicoltura IZSVe	Dott. Franco Mutinelli

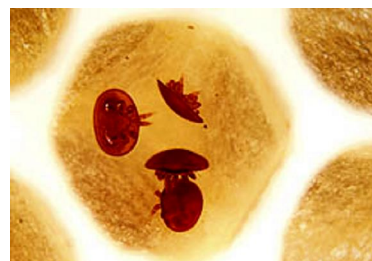
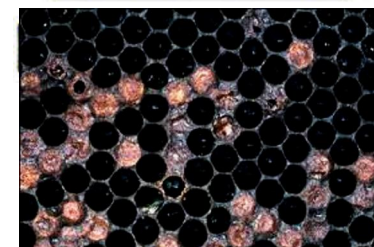


Responsabile Scientifico: Dr. Giovanni Formato - UO Apicoltura IZSLT

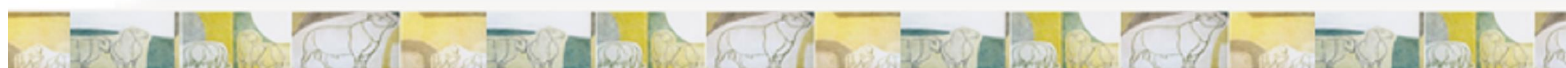
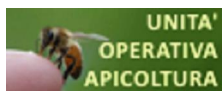


Attività del Progetto

1. Messa a punto di procedure di laboratorio
2. Costruzione e distribuzione di questionari per raccolta dati dagli apicoltori
3. Sopralluoghi in apiari interessati da fenomeni di spopolamento e morte degli alveari (messa a punto di procedura di intervento in apiario per raccolta dati e campionamenti)
4. Studio osservazionale longitudinale

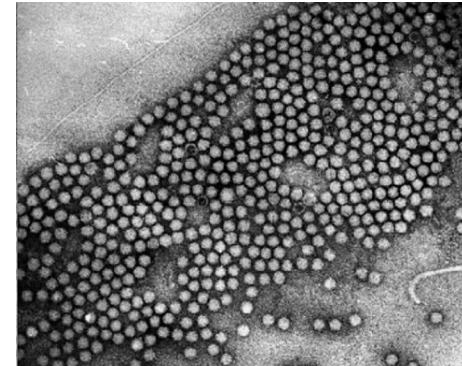


1. La messa a punto delle procedure di laboratorio

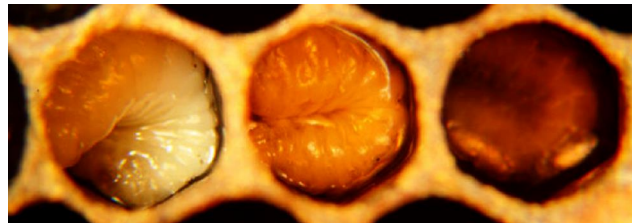


Diagnosi delle virosi mediante PCR

*Principali 7 virus della api.
In particolare : KBV e IAPV*

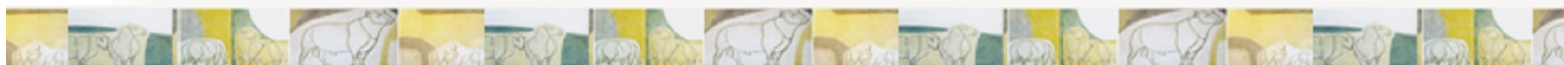


Diagnosi di Peste europea (PCR)



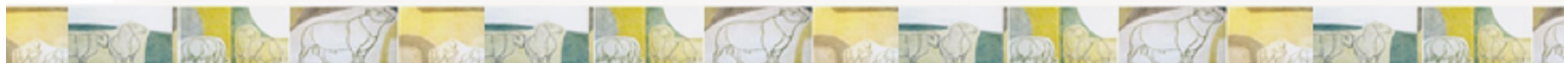
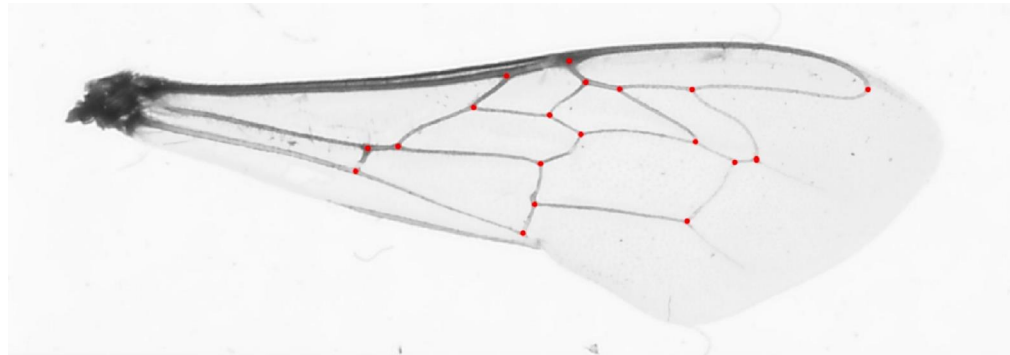
Ricerca di prodotti fitosanitari

Neonicotinoidi in primis, ma anche: organoclorurati, organofosforati, piretroidi, carbammati da matrici dell'alveare (spt. matrice **api**)



Identificazione morfometrica subspecies

Apis mellifera (POS ACC 007 INT) - accreditamento



Isolamento e identificazione di *Paenibacillus larvae* - POS ACC NOR 003

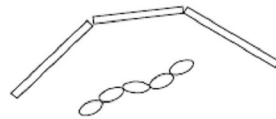
(agente eziologico della peste americana)



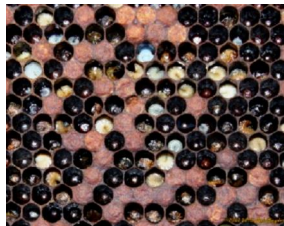
a



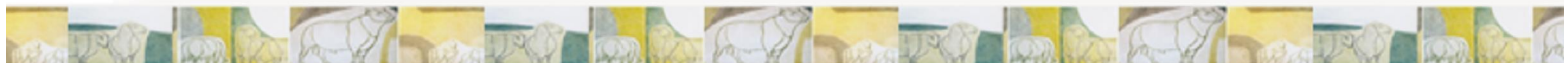
b



c



*Procedura per la gestione dei campioni positivi alle
malattie denunciabili delle api (PG ACC 008)*

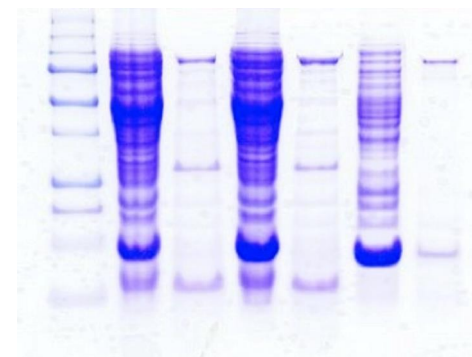
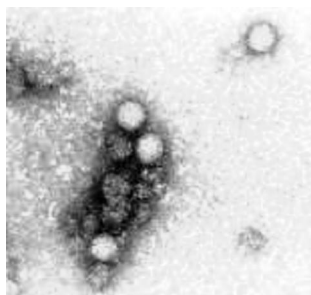


Esame melissopalinoologico

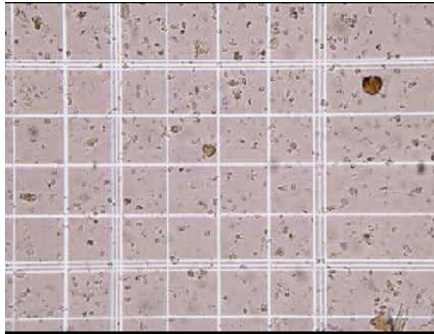
al microscopio ottico ó DIA ACC 006 NOR



Diagnosi di virosi delle api tramite TEM/IEM/ELISA



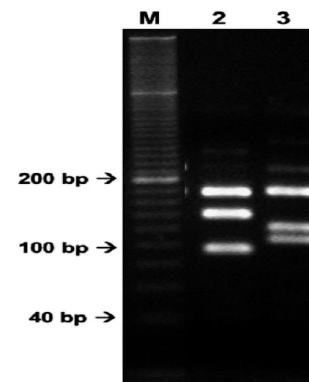
Diagnosi di nosemiassi



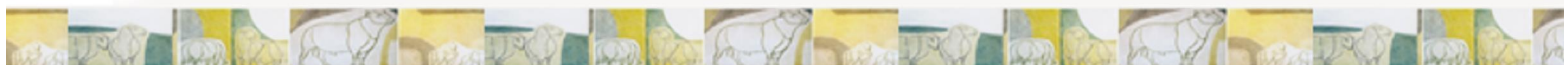
(microscopia ottica ó conta spore)
POS ACC 004 NOR



o (tramite PCR)



(M = marcatore; 2 = *Nosema apis*;
3 = *Nosema ceranae*)



Test di sensibilità agli antibiotici

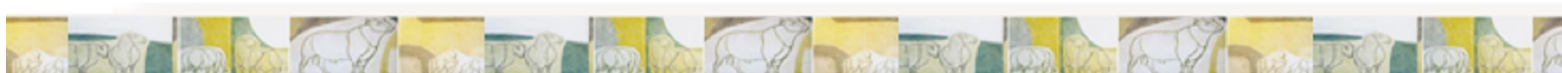
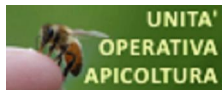
per l'agente causale della Peste americana (*Paenibacillus larvae*) e per l'agente causale della Peste europea (*Melissococcus plutonius*)

Gli isolati di *Paenibacillus larvae* sono stati sottoposti al saggio della sensibilità agli antibiotici secondo la tecnica di diffusione in agar con le modalità descritte nel documento M31-A3 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), nei confronti delle molecole tetraciclina, sulfissoxazolo, streptomicina e tylosina.



Per gli isolati di *Melissococcus plutonius* era stato inizialmente ipotizzato di poter applicare la tecnica di diffusione in agar nelle condizioni di crescita specifiche per l'agente in questione e di impiegare un panel di molecole ampio già testate nei confronti di altri batteri Gram +ve tra cui eritromicina, ampicillina, tetraciclina sulfamidici e tylosina.

Ricerca di radionuclidi da api e miele



2. Indagine conoscitiva mediante questionari epidemiologici



Questionario sul rilevamento delle morie e degli spopolamenti degli alveari

MODULISTICA PER RILEVAMENTO MORIE/SPOPOLAMENTI DI ALVEARI
Luogo e data: 5/4/2010

DATI ANAGRAFICI: Viene segnalata morte di alveari presso l'apicoltore del sig./rappresentante legale/società:
Lo Cleare Francesco
Indirizzo apicoltore: _____
residente nel Comune di: Aprilia, in via: Carga 11, Prov.: LT, tel.: 06/9259726 - 8479155768
codice aziendale IT 001 LT A42

UBICAZIONE DELL'APIARIO
L'apiario è sito nel Comune di: LATINA, Prov.: _____, CAP: _____
Loc.: Via VIA MARIO SCILIANO _____
Coordinate geografiche del fapiario (GPS): _____

Tipo di zona: ☐ Pianura ☐ Collina ☐ Montagna
Destinazione d'uso (specificare la percentuale): ☐ Agricoltura intensiva (___%) ☐ Agricoltura estensiva (___%)
☐ Boschi (___%) ☒ Pascoli (___%) ☒ Ambienti (___%) ☒ Industriale (___%) ☐ Altro: _____

ENTITÀ DELLA MORIA:
L'apiario era composto (prima della morte) da N. totale di alveari: 11. Il N. di alveari riscontrati spopolati-MORIBONDI è di: 8.

Sono eventualmente stati riscontrati alveari vivi ma spopolati, fortemente ridotti di numero? ☐ Sì. Se sì, quanti? 1. Sono state invertite bene ma sono arrivate in primavera spopolate anche senza sintomi clinici evidenti (tramendo dalle api)

Nota: _____

A quando risale la mortalità? (specificare mese e anno) MARZO-APRILE 2010
Sono già stati segnalati dall'apicoltore altri casi di morte (avvenuti a partire dal 2008 degli alveari posseduti negli ultimi 5 anni)?
☐ Sì, regolarmente ☐ Sì, occasionalmente ☐ No, è la prima volta

A chi/ cosa è stata imputata la causa delle morie gravi (2008 nel passato)? (specificare: es. varroa, neozantr, avvelenamento, peste americana, peste europea, eremo o trattamento, etc.)? 5 anni fa avevano 50 cassette in apiario: durante gli inverni si riducono di numero, ultimo evento di grossa morte risale a 2 anni fa. Causa ipotetica: prodotti fitosanitari

Come è venuta accertata la causa di morte? ☐ Laboratorio di analisi ☐ Apicoltore più esperto ☒ È solo un sospetto

NELL'ATTUALE FENOMENO DI MORIA, quale causa viene sospettata?
Avvelenamento

Come è stata accertata la causa di morte? ☐ Laboratorio di analisi ☐ Apicoltore più esperto ☒ È solo un sospetto

Le api morte sono state acquistate nell'ultimo anno? ☐ Sì ☒ No ☐ In parte

MODULISTICA PER RILEVAMENTO MORIE/SPOPOLAMENTI DI ALVEARI
Specificare quanti alveari sono morti rispetto al totale di quelli eventualmente acquistati: _____/_____

Sono presenti FONTI DI INQUINAMENTO NEL RAGGIO DI 1,5 KM DALL'APIARIO? ☐ No

In piante industriali (specificare il tipo): _____ Azienda vinicola di piante da vitigno _____ ☐ Sì, discariche
Ora carica di liquori (calcestruzzo): _____

☐ Sì, pesticidi impiegati in agricoltura intensiva (es. funtetti, mab, glifosato, etc.): _____

Note e us. eventualmente includere informazioni sugli interventi fitosanitari eseguiti nelle 2 settimane precedenti la morte / spopolamento, se noto: _____

Sono presenti altri apiari nel raggio di 1,5 Km _____ ☒ No ☐ Sì ma sono presenti con la fioritura dell'uliveto

PRATICHE DI ALLEVAMENTO:
In media, quanti telari vengono sostituiti per anno, ogni anno? (scrivere il numero) 6-7

L'apicoltore procede ad una periodica sostituzione delle regine? ☐ No ☒ Sì. In questo caso ogni quanti anni? 1

Le Regine sono di produzione propria? ☐ Sì ☐ No ☐ In parte (specificare la %)

Le api vengono alimentate con miele? ☐ No ☒ Sì. In tal caso, il miele è: ☐ Apicoltore ☐ Acquistato

Trattamenti eseguiti in apiario 1 mese prima della morte e durata del trattamento:
TRATTAMENTI ANTIVARROA REALIZZATI NELL'ULTIMO ANNO:

1) Trattamento Invernale: ☐ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO COCCOLATO
Acido ossalico di idrato miscelato con acqua e poi fatta evaporare l'acqua: acido ossalato e farina (reazione di acqua evaporata dall'acido ossalico viene dato a ogni famiglia a cadenza mensile per un totale di 8-9 volte, reazione per contatto e per goccia)

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato)

☐ Altro (specificare di _____ anno _____, per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

2) Trattamento Estivo: ☐ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO COCCOLATO

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato)

☐ APIVAR ☒ APIGUARD ☐ API LIFE VAR ☐ TIMOLO IN CRISTALLI

☐ Altro (specificare): Talco trappole per allucinare varroa.

Eseguito nel mese di _____ AGOSTO _____ anno _____ 2009, per un totale di (specificare il numero di volte) _____

3) Altri Trattamenti Effettuati (cosa, quando e come): _____

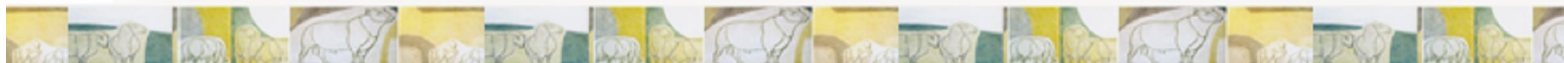
DESCRIVERE I SEGNI OSSERVATI NELLE FAMIGLIE COLPITE (condire i sintomi osservati): api morte nel predellino di volo o nel fondo dell'arancio, api con tremori, inerte, disorientate, aggressive, piccole, nere, con ali deformi, con varroa nel corpo, addetti ai piedi all'ingresso dell'arancio, moricemento forti, scucchiaggio, assenza di corredo, larve o puppe morte davanti all'arancio o nel predellino; opercoli forati, bei suoni, cavi non compatti, larve morte, api morte in fase di disallineamento, assenza di corredo, presenza di escrementi nel predellino di volo o nell'arancio; perdita spopolamento fino a morte; scomparsa improvvisa delle famiglie; sono morte le famiglie più forti. Altri segni (descrivere): AL SULFONDO DELL'ARANCIA MORTE; API CON TREMORI, LE FAMIGLIE SONO SCOMPARSE IMPROVVISAMENTE. LE API MORTE APPARTENGONO ALLE FAMIGLIE PIÙ FORTE



Distribuzione dei questionari

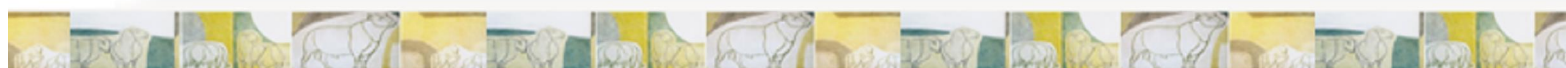
Questionario somministrato con l'aiuto delle associazioni di categoria.

Numerosità campionaria stabilita con Osservatorio Epidemiologico.

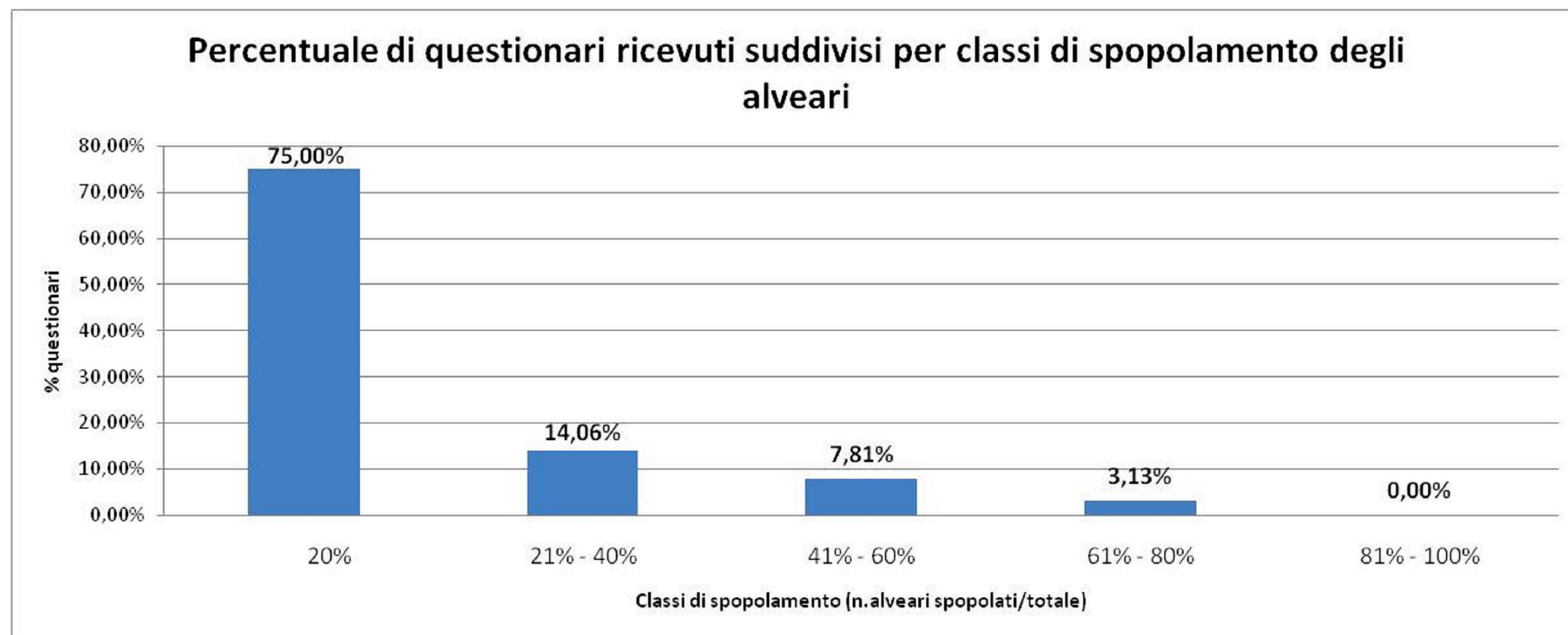


Questionari raccolti

108 questionari inerenti
segnalazioni di fenomeni di
moria o spopolamento di
alveari

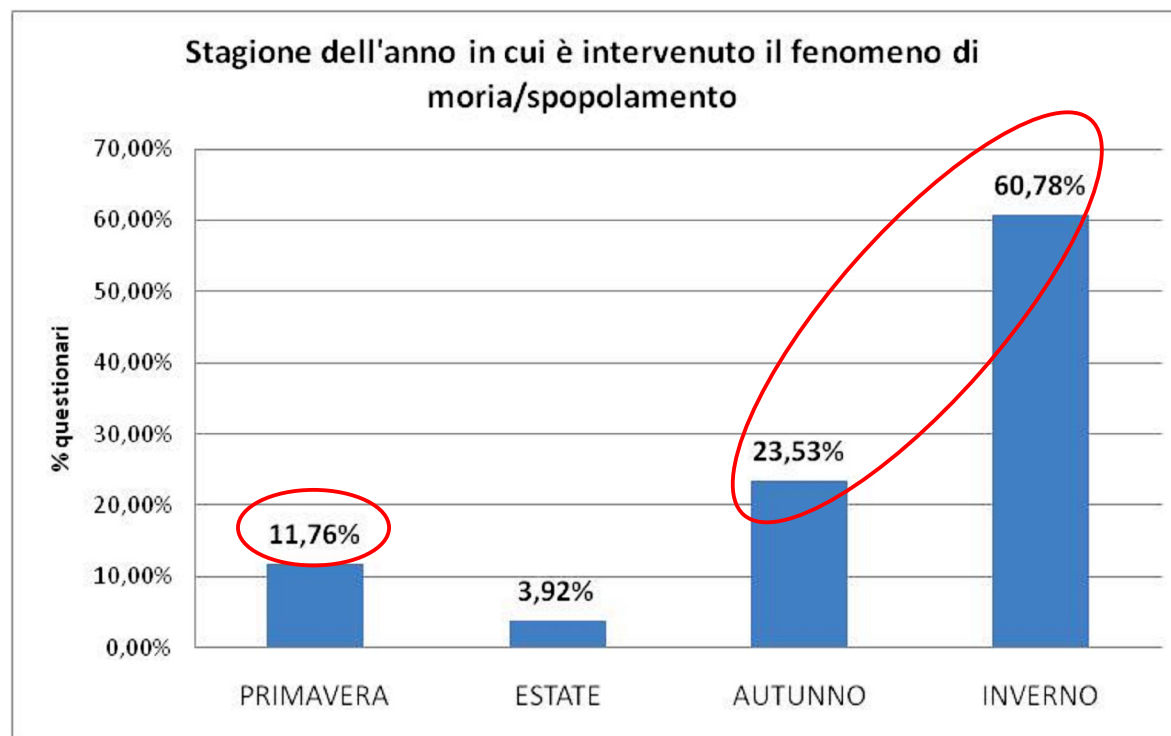


Risultati (1) ó quantità di alveari morti/spopolati

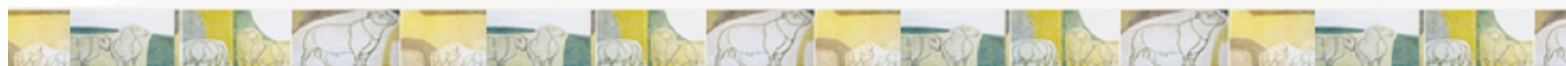
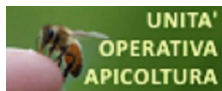


Nel 75% dei casi di moria e spopolamento,
interessati fino al 20% degli alveari

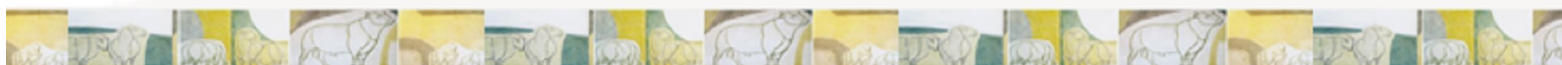
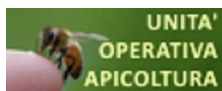
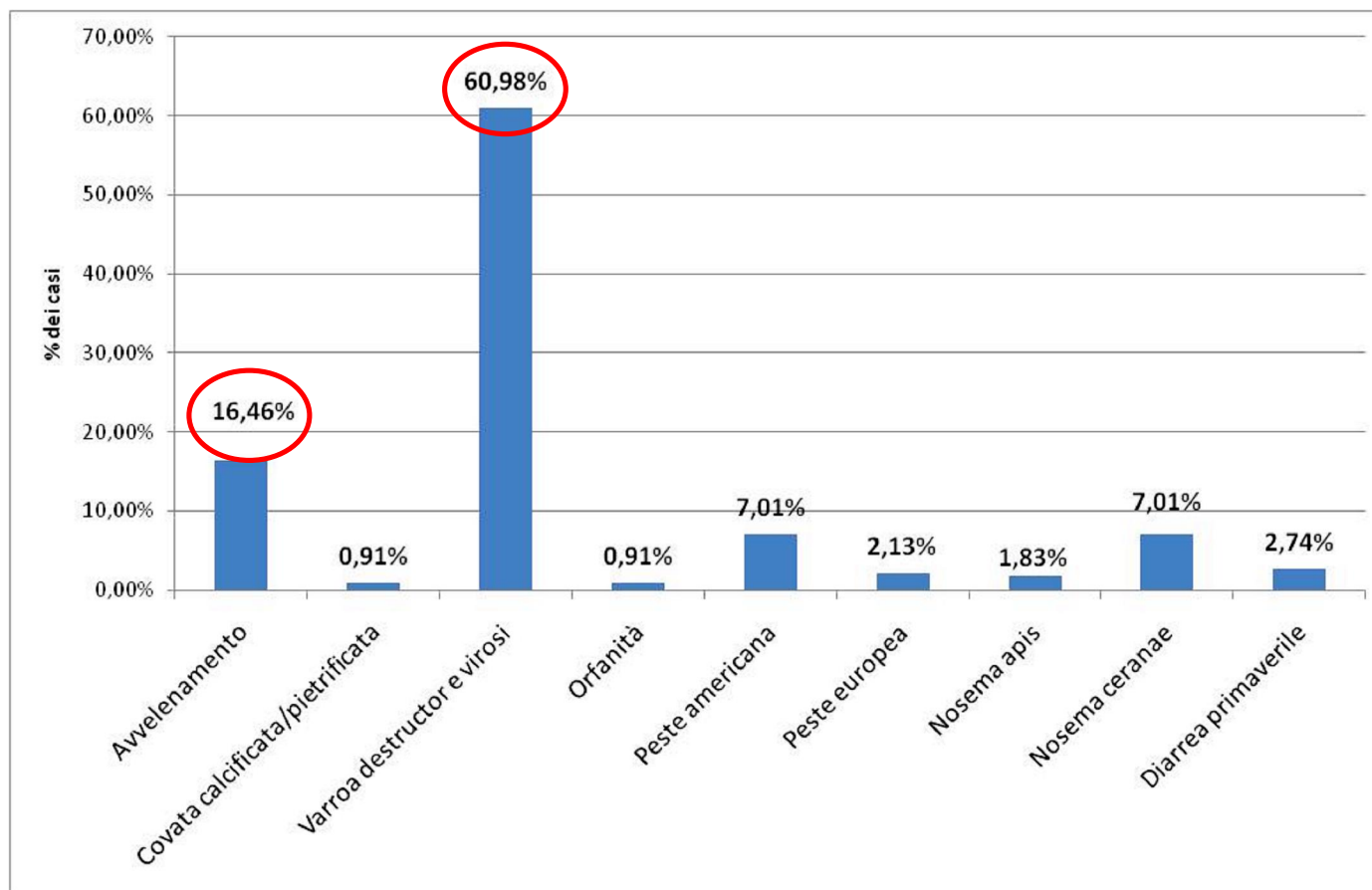
Risultati (2) - periodo dell'anno in cui è intervenuto il fenomeno di moria/spopolamento



Nel 60,78% dei casi di moria/spopolamento segnalati il fenomeno è intervenuto nella stagione invernale.

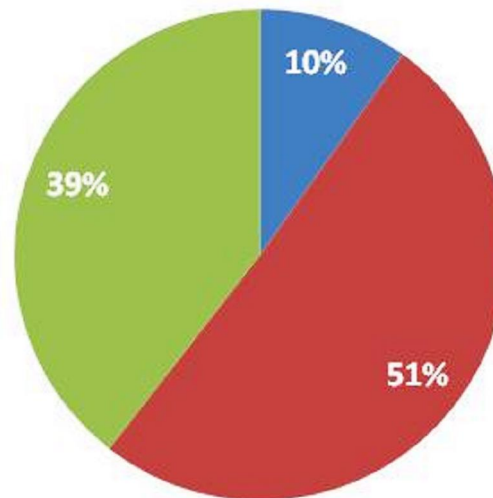


Risultati (3) - cause di morte ipotizzate dagli apicoltori



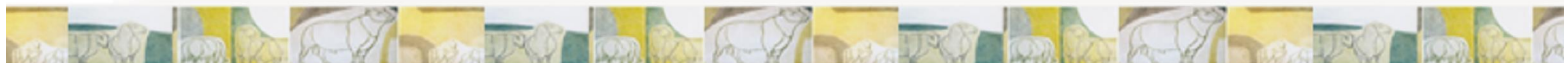
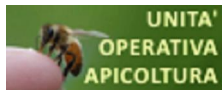
Risultati (4) ó modalità di accertamento delle cause di moria/spopolamento

■ LABORATORIO DI ANALISI ■ E' SOLO UN SOSPETTO ■ DA UN APICOLTORE ESPERTO



Solo nel 10% dei casi avviene un accertamento delle cause mediante il laboratorio di analisi.

Manca ancora un riferimento ad una figura tecnica ufficiale (SVP-lab ufficiale)



3. Sopralluoghi IZSLT in apiari interessati a fenomeni di spopolamento e morte degli alveari



Attività svolte



1. Individuazione dei «casi»

(mortalità $>20\%$ + > 10 alveari)

2. Compilazione del questionario

3. Visita clinica agli alveari



4. Campionamenti



5. Analisi di laboratorio



6. Interpretazione risultati



Procedure di campionamento

In totale sono stati realizzati **15 sopralluoghi** su altrettanti casi di moria/spopolamento segnalati all'IZSLT.

Regioni coinvolte:
Lazio, Toscana ed Umbria

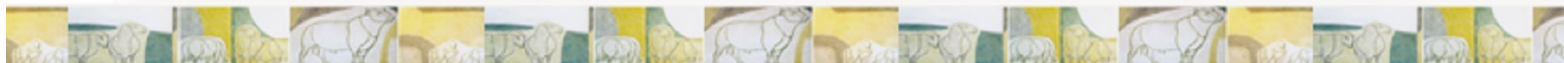


©201



Procedure di campionamento

Alveari suddivisi in 3 gruppi:
sani, spopolati, morti.



Matrici campionate

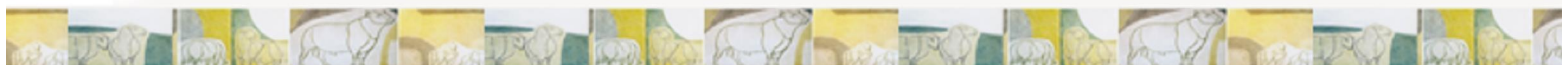
API MORTE O MORIBONDE:

viene effettuato un campione in pool dagli alveari dei diversi gruppi (almeno 250 api) per analisi tossicologiche.



MIELE:

un unico campione in pool di miele, possibilmente non operante, dai diversi gruppi di alveari sopra indicati (>600 g) per accertamenti tossicologici, radionuclidi e melissopalir



API BOTTINATRICI:

55 api bottinatrici in entrata nell'alveare (pool da ciascuno dei gruppi)

Accertamenti: virologici (PCR e microscopia elettronica),

nosemiasi (microscopia ottica e PCR), flora intestinale

Dai patogeni delle api isolati: verifiche di antimicrobicoresistenza.



FAVI DI COVATA MALATA:

Un campione di larve malate da tutti gli alveari con malattie della covata per i seguenti accertamenti sanitari: peste americana, peste europea, virosi, covata calcificata ed antimicrobicoresistenza.

Una porzione di favo con covata da tutti gli alveari spopolati per i seguenti accertamenti: analisi microbiologiche e virologiche.

Una porzione di favo con covata ogni 4 alveari, dal gruppo degli alveari sani per analisi microbiologiche e virologiche.

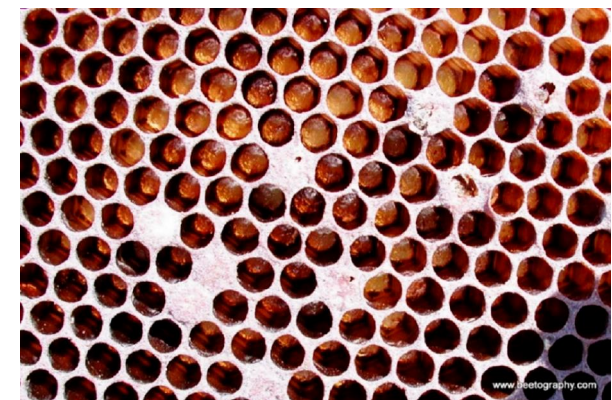
API NUTRICI (DENTRO L'ALVEARE):

40 api giovani vive

per accertamenti genetici (esame morfometrico)

ogni 4 alveari per il gruppo sani

e da ciascun alveare appartenente agli altri gruppi.



Caso di spopolamento per sospetto avvelenamento



Sopralluogo presso: Aprilia, Latina

N° alveari spopolati/totale: 4/20

Periodo moria api: l'evento è stato rilevato a partire dal 18 agosto fino al 31 agosto 2011.

Sospetta causa della moria e dello spopolamento: avvelenamento a dosi sub letali da neonicotinoidi (vigneti, oliveti, orticoltura) con conseguente spopolamento delle famiglie.

Api bottinatrici non sono rientrate in alveare. Api morte rinvenute sul fondo dell'arnia e davanti l'alveare.

Le api intossicate davanti le arnie presentavano sintomi di disorientamento, movimenti non coerenti su se stesse ed incapacità di volo.

Non si sono mai presentate morie negli anni precedenti.

Risultati

Fattori interferenti con la vitalità delle api	N. casi	%
<u>Varroatosi e virosi associate</u> (ABPV, CBPV, DWV, SBV e BQCV)	<u>6</u>	<u>40%</u>
<u>Avvelenamento da prodotti fitosanitari</u> (imidacloprid e acetamipride)	<u>3</u>	<u>20%</u>
Varroatosi e virosi associate	1	6,7%
Varroatosi, virosi associate, PA, PE, noseмиasi	2	13,3%
Avvelenamento + PA	1	6,7%
Avvelenamento+ PA+ Varroa+ virosi	1	6,7%
Varroatosi e virosi associate+PA	1	6,6%

**I sopralluoghi realizzati hanno confermato
quanto riscontrato
dai questionari raccolti dagli apicoltori**



4. Lo studio osservazionale longitudinale

Alla luce delle attività realizzate nei primi 2 anni di progetto

- elaborazione dei 108 questionari epidemiologici
- risultati ottenuti dai 15 sopralluoghi

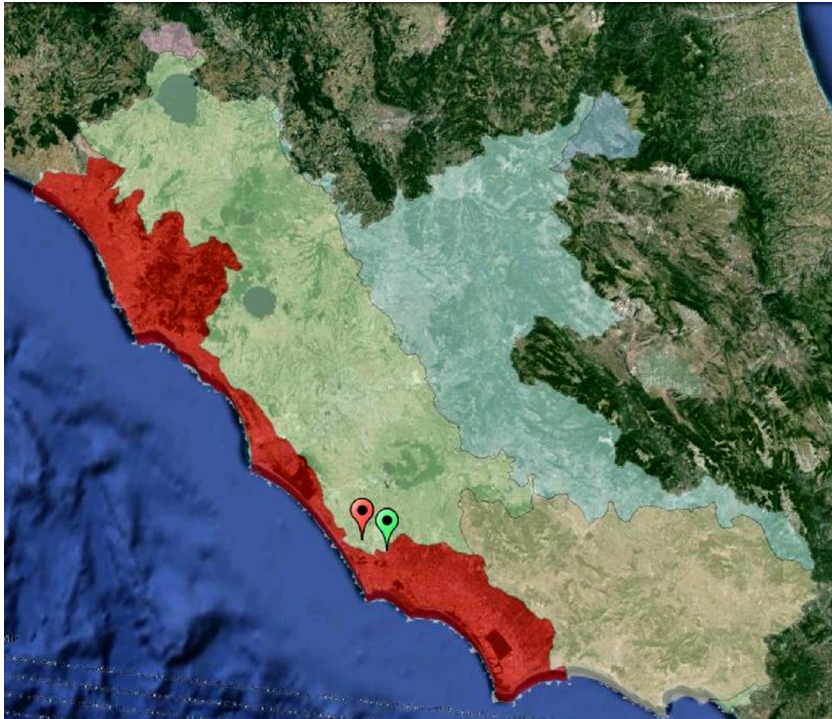
vengono monitorati 6 apiari per i fattori condizionanti lo spopolamento e morte delle api.



Studio osservazionale-longitudinale

Apiario	Ubicazione apiario	Esposizione a fattore di rischio	Fattore di rischio	Numero di alveari
1	Azienda Agricola dell Papaveröö, Via Apriliana snc ö 04011 Aprilia	SI	<i>Varroa destructor</i>	10
2	Via Esino 1 ö 04011 Aprilia	NO	<i>Varroa destructor</i>	10
3	Coop. Agricoltura Nuova, Via Valle di Perna 315 ö 00040 Pomezia	SI	Agrofarmaci	10
4	Via della Vignaccia snc ö Roma	NO	Agrofarmaci	10
5	Via delle Vittorie 19 ö 00040 Pomezia	SI	Agrofarmaci	10
6	Appia Antica ö Roma	NO	Agrofarmaci	10

Fattore di rischio varroatosi

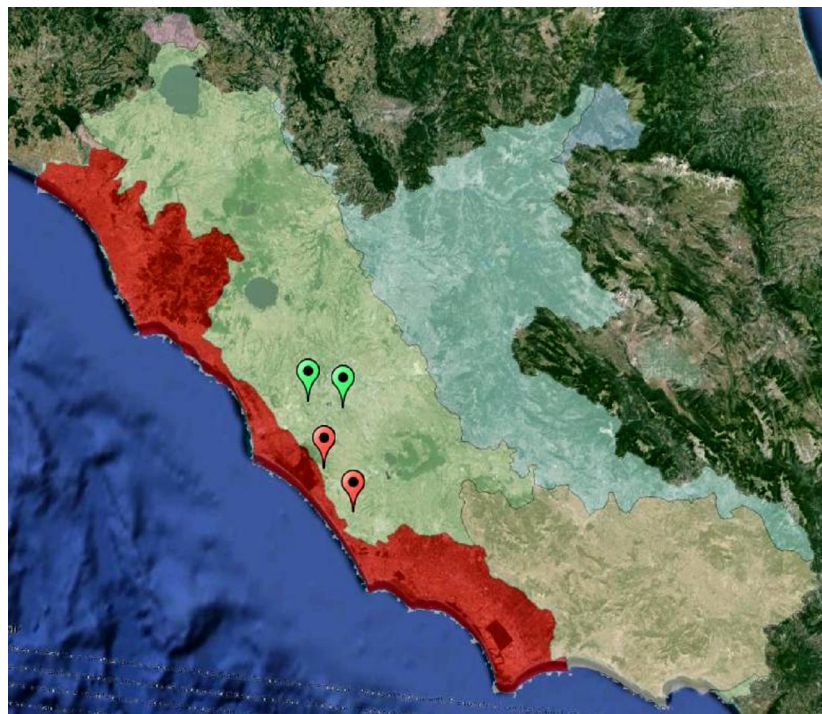




Apiari esposti al fattore di rischio varroa



Apiari non esposti al fattore di rischio varroa

Fattore di rischio òavvelenamentoö



 Apiari esposti al fattore di rischio agrofarmaci  Apiari non esposti al fattore di rischio agrofarmaci

Attività svolte

1. Predisposizione e compilazione schede

Allegato 1 - Scheda progetto 9 SPO - Scheda apiario

Data campionamento: Maggio 2012 ☐ Giugno 2012 ☐ Agosto 2012* ☐ Ottobre 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

APIARIO ☐ ESPOSTO (S/No) ☐ Varroa/Agrofarmico ☐ DATA

PRELIEVO CAMPIONE POLINE ☐

(Prelevare dalle cellette poline fino ad ottenere almeno 30 g per apiario (circa 1 g per alveare))

PRELIEVO PER VARROE (300 ml/alveare pari a un barattolo da 120 ml)

Maggio 2012 ☐ Agosto 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

TRATTAMENTI ANTIVARROA REALIZZATI NELL'ULTIMO ANNO
(COMPIRE SOLTanto PER IL PRIMO E ULTIMO SOPRALLUOGO, RISPETTIVAMENTE MAGGIO 2012 E MARZO 2013)

1) Trattamento invernale: ☐ APISTAR (ACIDO OSSALICO SOCCOLATO) ☐ NESSUNO
☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____
eseguito nel mese di _____ anno _____ per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

2) Trattamento estivo: ☐ APISTAR ☐ ACIDO OSSALICO SOCCOLATO ☐ NESSUNO
☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____
☐ APIVAR ☐ APIQUARTO ☐ APIFEE VAR ☐ TIMOLO IN CRISTALLI _____
eseguito nel mese di _____ anno _____ per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

3) Altri trattamenti eventualmente effettuati (data, quando e come) _____

*N.B.: AD AGOSTO CAMPIONAMENTO DI MIELE PRODOTTO A FINE SARELATURA (1 kg) ☐



2. Visita clinica agli alveari



3. Campionamenti di matrici dell'alveare



4. Analisi di laboratorio



Predisposizione del modulo per rilievi di campo e dei campionamenti in apiario

Scheda apiario

Allegato 1 - Scheda progetto 9 SPO – Scheda apiario

Data campionamento: Maggio 2012 ☐ Giugno 2012 ☐ Agosto 2012* ☐ Ottobre 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

APIARIO ESPOSTO (Sì/No) ☐ Varroa/Agrofarmaco DATA

PRELIEVO CAMPIONE POLLINE ☐

(Prelevare dalle cellette polline fino ad ottenere almeno 10 g per apiario (circa 1 g per alveare))

PRELIEVO PER VARROE (300 api/alveare pari a un barattolo da 120 ml)

Maggio 2012 ☐ Agosto 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

TRATTAMENTI ANTIVARROA REALIZZATI NELL'ULTIMO ANNO
(COMPILARE SOLO PER IL PRIMO E ULTIMO SOPRALLUOGO: RISPETTIVAMENTE **MAGGIO 2012 E MARZO 2013**)

1) Trattamento Invernale: ☒ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO GOCCIOLATO ☐ NESSUNO

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____

☐ Altro (specificare): _____
eseguito nel mese di _____ anno _____, per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

2) Trattamento Estivo: ☒ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO GOCCIOLATO ☐ NESSUNO

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____

☐ APIVAR ☒ APIGUARD ☒ APILIFE VAR ☒ TIMOLO IN CRISTALLI

☐ Altro (specificare): _____
eseguito nel mese di _____ anno _____, per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

3) Altri Trattamenti eventualmente effettuati (cosa, quando e come) _____

*N.B.: AD AGOSTO CAMPIONAMENTO DI MIELE PRODOTTO A FINE SMIELATURA (1 Kg) ☐



Scheda singolo alveare

Allegato 2 - Scheda progetto 9 SPO - Scheda alveare n. ____

Data campionamento: Maggio 2012 ☐ Giugno 2012 ☐ Agosto 2012 ☐ Ottobre 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

APIARIO ☐ ESPOSTO (Sì/No) ☐ Varroa/Agrofarmaco ☐

MORTALITA' ☐ ANNO ☐ MESE ☐ DEFUNTO ☐

SPOPOLAMENTO ☐ ANNO ☐ MESE ☐

ATTIVITA' DI VOLO ☐ BOTTINATRICI CON POLLINE ☐

REGINA ☐ PRESENTE ☐ ASSENTE ☐

SEGNII DI AVVELENAMENTO	Presenza Sì/No	Campionamento Sì/No
RIGURITO DEL CONTENUTO DELLA BORSA MELARIA		
INCAPACITA' DI VOLO		
MAGGIORE AGGRESSIVITA'		
MOVIMENTI SCORDINATI/TREMORI		
PARALISI AGLI ARTI/IMMOBILITA'		
DISORIENTAMENTO		
API MORTE DAVANTI ALVEARE		
API MORTE DENTRO ALVEARE		
ODORI ANOMALI		
GRADUALE SPOPOLAMENTO FINO A MORTE		
SCOMPARSA IMPROVVISA DELLE FAMIGLIA		
SONO MORTE LE FAMIGLIE PIU' FORTI		

SEGNII DI VARROATOSI/VIROSI	Presenza Sì/No	Campionamento Sì/No
ORFANITA' ALVEARI (non sostituzione regina)		
API NERE		
API MALFORMATE		
API PICCOLE		
API CON ALI DEFORMI		
PRESENZA DI VARROA SUL CORPO		
PUZZA DI COVATA MORTA (ODORE FETIDO)		
ANNERIMENTO FAVI		
COVATA NON COMPATTA		
API MORTE IN FASE DI SFARFALLAMENTO		
GRADUALE SPOPOLAMENTO FINO A MORTE		
SCOMPARSA IMPROVVISA DELLE FAMIGLIA		
SONO MORTE LE FAMIGLIE PIU' FORTI		

Allegato 2 - Pagina 1 di 2

Scheda riassuntiva

Allegato 3 - Scheda progetto 9 SPO - Scheda riassuntiva

Data campionamento: Maggio 2012 ☐ Giugno 2012 ☐ Agosto 2012 ☐ Ottobre 2012 ☐ Marzo 2013 ☐

APIARIO ☐ ESPOSTO (Sì/No) ☐ Varroa/Agrofarmaco ☐ DATA ☐

NUMERO ALVEARE	TOTALE PATOLOGIE RINVENUTE	TOTALE SEGNII DI VARROATOSI AVVELENAMENTO	TOTALE API	TOTALE COVATA	TOTALE UOVA	TOTALE MIELE OP	TOTALE MIELE NOP	TOTALE POLLINE
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
TOTALE								

AVVERSITA': 1. Peste americana, 2. Peste europea, 3. Virosi, 4. Acariosi, 5. Nosemiasi, 6. Varroasi, 7. Avvelenamento, 8. Saccheggio, 9. Covata a sacco, 10. Covata calcificata, 11. Orfanità, 12. Spopolamento, 13. Mortalità

% MORTALITA' : N°ALVEARI MORTI/TOTALE _____

% SPOPOLAMENTO : N°ALVEARI SPOPOLATI/TOTALE _____

Allegato 3 - Pagina 1 di 1

Campionamenti eseguiti

Polline (10g):

campione in pool al fine di verificare la presenza di pesticidi;



Miele (1Kg):

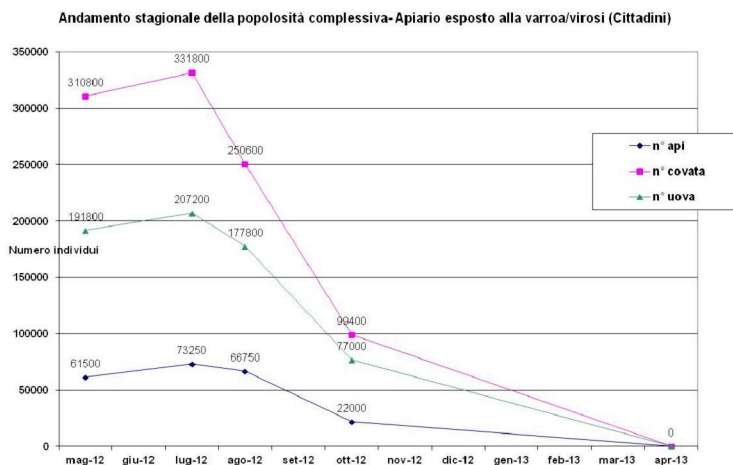
per la ricerca di pesticidi fosforati, neonicotinoidi e sostanze acaricide somministrate agli alveari;



Api adulte (300) al fine di valutare il livello di infestazione da varroa



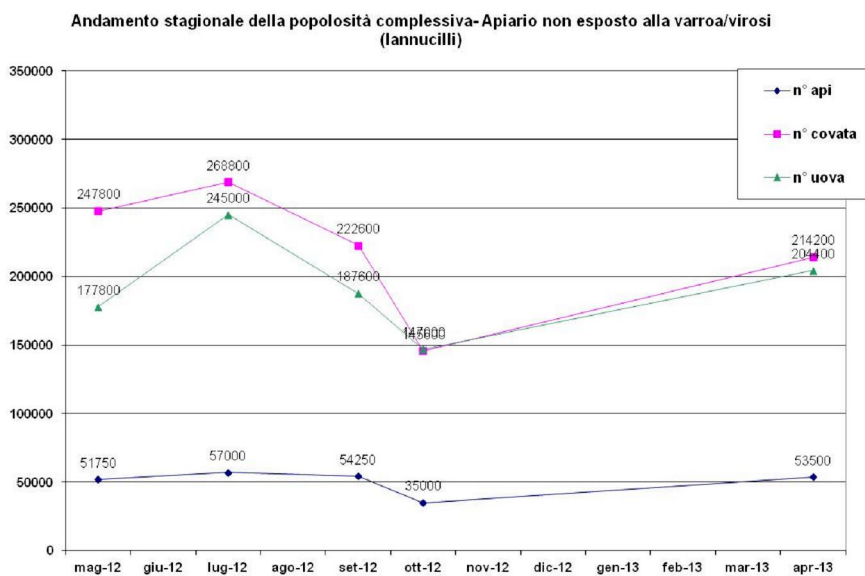
Risultati (1) ó Fattore «varroa associato a virosi»



Apiario esposto a varroa: nessuna famiglia sopravvissuta dopo 11 mesi di monitoraggio (100% mortalità).



Apiario non esposto a varroa:
il 70% degli alveari è sopravvissuto
dopo un anno di monitoraggio
(30% mortalità).



Risultati (2): Fattore «esposizione ad agrofarmaci»

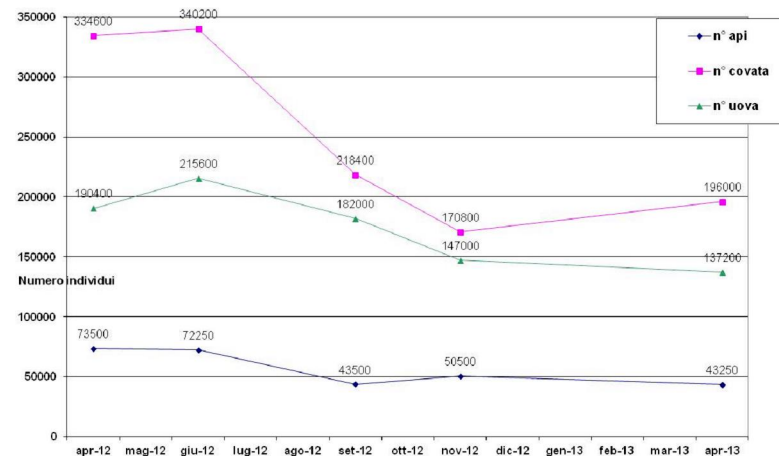
Apiario esposto ad agrofarmaci:
30% di mortalità dopo un anno
di monitoraggio



Apiario 2 esposto ad agrofarmaci:
il 40% di mortalità dopo un anno
di monitoraggio



Andamento stagionale della popolosità complessiva- Apiario1 esposto ad agrofarmaci (Ferri)

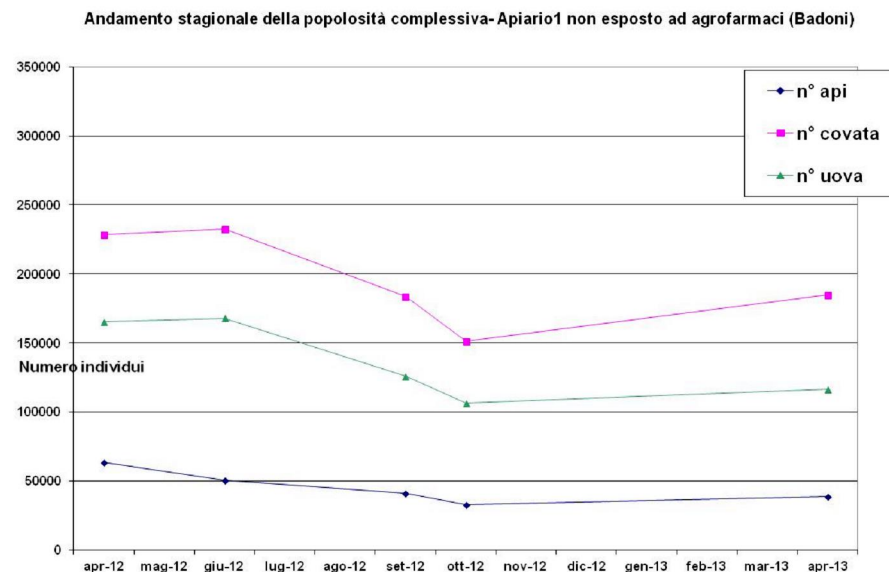


Andamento stagionale della popolosità complessiva- Apiario2 esposto ad agrofarmaci (Macori)

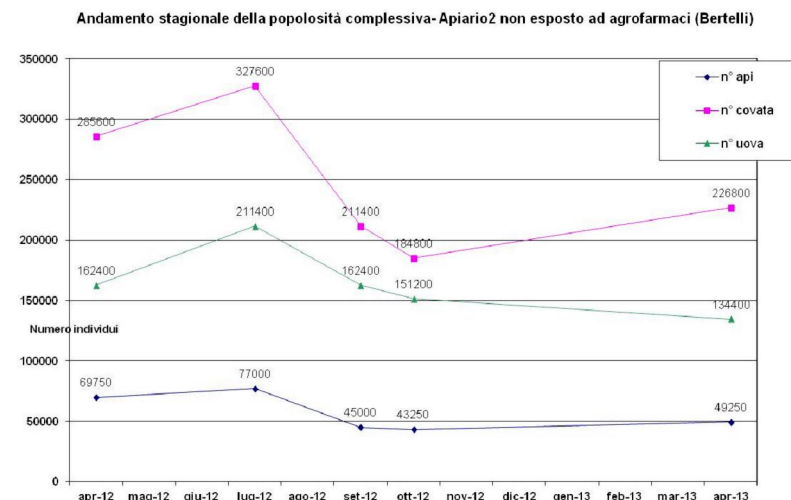




Apiario1
non esposto ad agrofarmaci:
 40% di mortalità dopo un anno
 di monitoraggio



Apiario2
non esposto ad agrofarmaci:
 20% di mortalità dopo un anno
 di monitoraggio



Ricerca di pesticidi fosforati, neonicotinoidi, sostanze acaricide

Tutti i campioni sono risultati negativi, presentando un $< \text{LOD}$
= inferiore la limite di rilevabilità $< 0,01 \text{ mg/Kg}$



Conclusioni

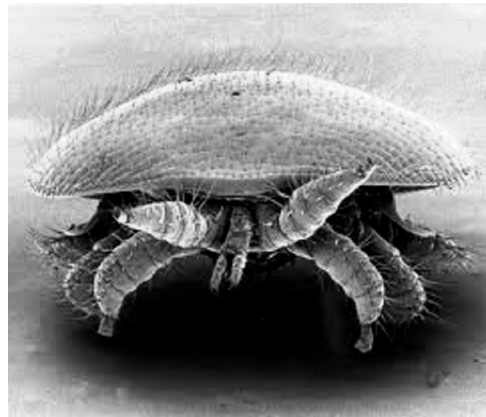
Esposizione a Varroa destructor

Apiario esposto al rischio varroa: alcun trattamento contro la parassitosi

Tutti gli alveari deceduti dopo 11 mesi di osservazione

30% di alveari morti nell'apiario non esposto

situato nella stessa zona geografica e sottoposto alle stesse pratiche apistiche
ad esclusione del trattamento antivarroa.



Il test esatto di Fisher, utilizzato per campioni piccoli, conferma la differenza statisticamente significativa della mortalità nei due apiari ($p=0.003$), che è stata evidenziata nel sopralluogo di ottobre 2012 e di aprile 2013.

Esposizione ad agrofarmaci

Vicinanza degli apiari esposti a terreni sottoposti ad agricoltura intensiva

Apiario1 esposto : coltivazioni di cocomero, colza, grano e trifoglio

Apiario2 esposto: cocomero, meloni, frutteti e piante ornamentali

Apiari non esposti: terreni sottoposti ad agricoltura biologica.

I 4 apiari (2 esposti e 2 non esposti) erano posizionati tutti nella zona sud della provincia di Roma ad una distanza massima di 25.9 chilometri l'uno dall'altro ed erano gestiti con le stesse pratiche apistiche, trattamento antivarroa incluso.

L'analisi statistica (χ^2) non ha rilevato differenze di frequenza nella mortalità tra gli alveari esposti ad agrofarmaci e non esposti



Sicurezza della filiera miele

Pesticidi fosforati, neonicotinoidi, sostanze acaricide:
possibile contaminazione della cera,
ma completa assenza di residui nella matrice miele (idrofobicità)



OUTPUT

Pubblicazioni

Journal of Apicultural Research 50(2): 176-177 (2011)
DOI 10.3896/IBRA.1.50.2.12

© IBRA 2011

NOTES AND COMMENTS

First detection of Israeli acute paralysis virus (IAPV) in Italy



Giovanni Formato^{1*}, Alessandra Giacomelli¹, Ma'ayan Olivia², Lucie Aubin², Eitan Glick², Nitzan Paldi², Giusy Cardeti¹, Antonella Cersini¹, Iliaria Maria Ciabatti¹, Massimo Palazzetti³, Anna Granato⁴ and Franco Mutinelli⁴

Journal of Apicultural Research 52(2) 54-55 (2013)
DOI 10.3896/IBRA.1.52.2.08

© IBRA 2013

NOTES AND COMMENTS

First isolation of Kashmir bee virus (KBV) in Italy



Antonella Cersini¹, Valter Bellucci², Stefano Lucci², Franco Mutinelli³, Anna Granato³, Claudio Porri⁴, Antonio Felicioli⁵ and Giovanni Formato^{1*}

5563



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
della Lombardia e dell'Emilia Romagna

APIMONDIA XXXXIII International Apicultural Congress

29 September – 04 October 2013
Kyiv



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
delle Regioni Lazio e Toscana

Biochemical characteristics and susceptibility to antimicrobials of *Paenibacillus larvae* isolated in outbreaks of American foulbrood of honey bees occurred in Italy and Argentina

Marcella Milito¹, Alessandra Giacomelli¹, Alessia Franco¹, Andrea Caprioli¹, Antonella Cersini¹, Martina Pizzariello³, Gessica Cordaro¹, Antonio Battisti¹, Francesco Scholli¹, Stefano Bassi², Elena Carra², Elena Dell'Aira¹, Salvatore Macri¹, Liesel Gende Brenda³, Marco Pietropaoli¹, Giovanni Formato^{1*}

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna





XV Congresso Nazionale S.I.D.I.V. - 23-25 Ottobre 2013, Monreale (PA), Italia



Isolamento di *Paenibacillus larvae* in api importate dall'Argentina: confronto della sensibilità agli antibiotici dei ceppi isolati con quella di ceppi italiani



Bassi S.¹, Milito M.², Giacomelli A.², Carra E.¹, Cordaro G.², Cersini A.², Formato G.², Pizzuto A.¹, Amoroso R.², Franco A.²

¹Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna- Sezione di Modena

²Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

Prime segnalazioni in Italia del virus della paralisi acuta israeliana.

Pietropaoli M., Giacomelli A., Cersini A., Cardeti G., Puccica S., Palazzetti M., Micarelli G., Formato G. (2011).
Apitalia 7-8:48-49.

Identificazione di Kashmir Bee Virus (KBV) in Italia.

Cersini A., Cardeti G., Marchesi U., Antognetti V., Zini M., Puccica S., Barcaioli R., Granato A., Mutinelli F., Formato G. (2011).
IV Workshop nazionale di virologia veterinaria. Brescia 9-10 Giugno 2011. Riassunti pag. 31 (ISSN 0393-5620. ISTISAN Congressi 11/C3.)



Normativa della Regione Lazio



Deliberazione 3 luglio 2013, n.159

Disciplina igienico-sanitaria del Settore Apistico



Possibili applicazioni delle metodiche Real Time PCR ed ELISA per il virus delle ali deformi (DWV)

Real Time PCR:

Per monitorare l'evoluzione della virosi in una colonia durante l'anno per poter comprendere i meccanismi di associazione della virosi con lo scatenamento della CCD

Per associare l'evoluzione del titolo virale in una colonia con varroatosi per comprendere il ruolo di questa come attivatore/vettore della replicazione virale

Per comprendere i meccanismi di replicazione del virus nell'acaro vettore



ELISA:

Tecnica di screening per esaminare un elevato numero di campioni a basso costo

Potenziale sviluppo di test on site (pen side test) per il virus DVW

WORK IN PROGRESS

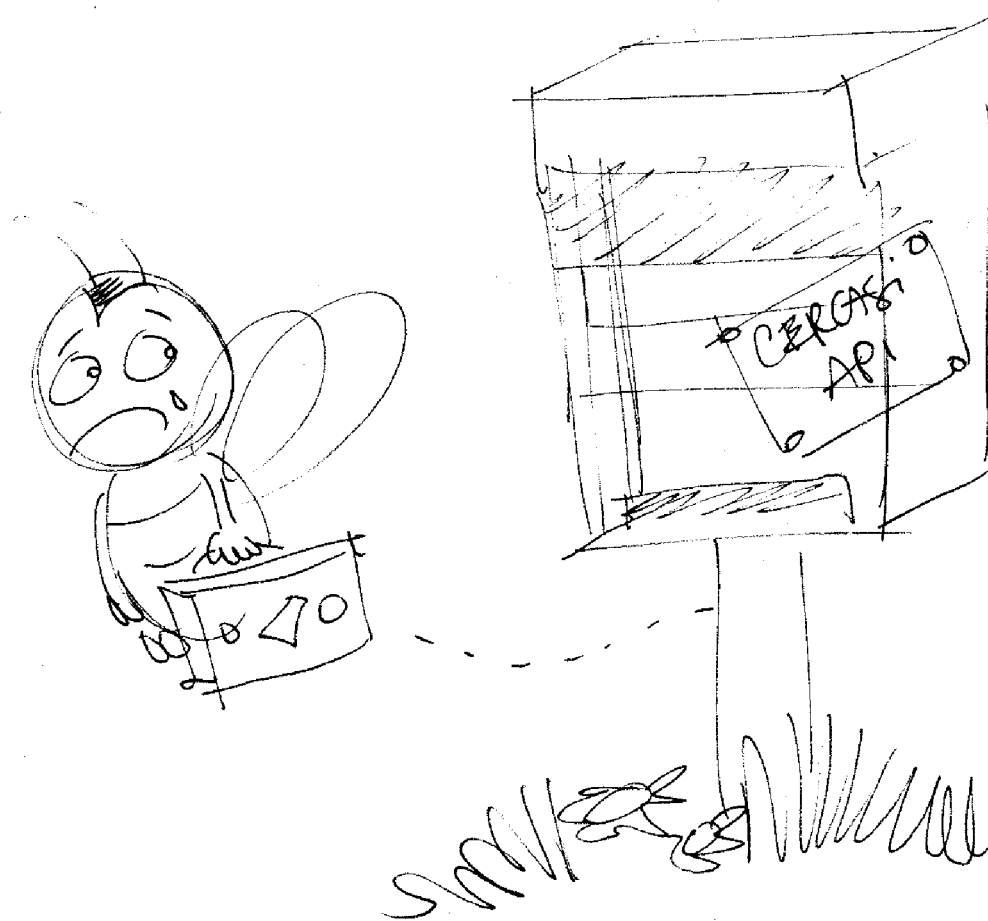
Gruppo di Lavoro MATTM

Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare
Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro
per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi
Proposta dell'indicatore «moria delle api».



Ministero della Salute

Procedura standard per l'intervento dei Servizi Veterinari sul territorio nazionale in caso di
fenomeni di avvelenamento delle api.

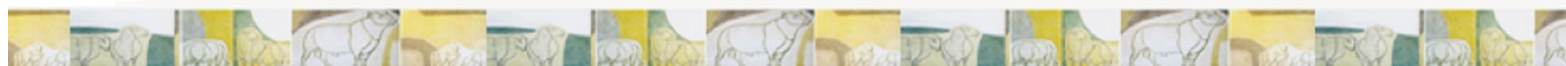
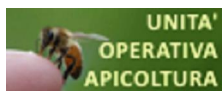


Grazie per la gentile attenzione

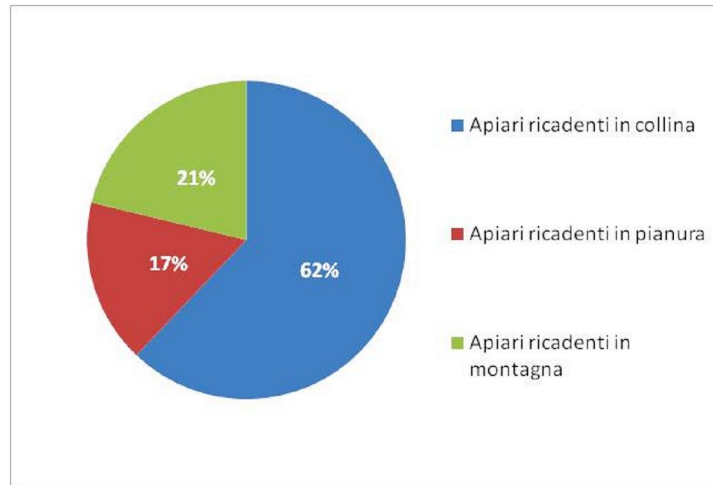
feroli

Cause ipotizzate dall'apicoltore quali responsabili dell'evento di moria/spopolamento registrato

Causa ipotizzata dall'apicoltore	Numero di segnalazioni (%)
<i>Varroa destructor</i>	36%
<i>Nosema spp.</i>	3%
Peste americana	3%
Peste europea	0%
Trattamenti errati	2%
Avvelenamento	6%

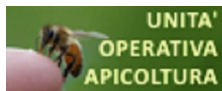
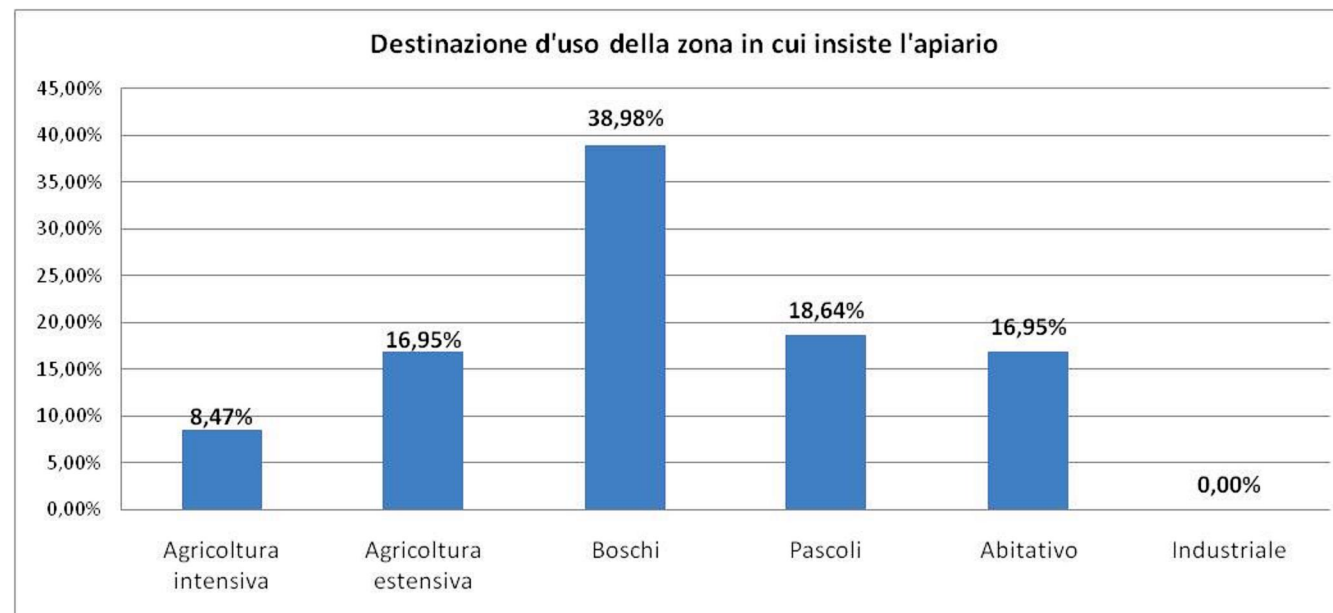


Ubicazione degli apiari interessati dai fenomeni di moria/spopolamento



Il 62% degli alveari in cui sono stati registrati fenomeni di moria/spopolamento erano ubicati in zone collinari; il 21% ricadevano in montagna mentre il 17% erano ubicati in pianura.

Destinazione d'uso della zona (1,5 Km) in cui insiste l'apiario



Mortalità complessiva degli alveari negli apiari monitorati sia per quanto riguarda il fattore di rischio varroa e virosi che per il fattore di rischio agro farmaci

FATTORE DI RISCHIO: VARROA/VIROSI	<i>ALVEARI VIVI</i>	<i>ALVEARI MORTI</i>	<i>TOTALI</i>	<i>% Mortalità</i>
ALVEARI ESPOSTI	0	10	10	100%
ALVEARI NON ESPOSTI	7	3	10	30%
FATTORE DI RISCHIO: AGROFARMACI	<i>ALVEARI VIVI</i>	<i>ALVEARI MORTI</i>	<i>TOTALI</i>	
ALVEARI ESPOSTI	13	7	20	35%
ALVEARI NON ESPOSTI	14	6	20	30%

Emergenza sulla moria degli alveari

I fenomeni di morie influenzano negativamente in termini economici:

- produzioni di miele e degli altri prodotti dell'alveare
- colture agrarie a causa della mancata attività di impollinazione delle api.

Le cause di questo fenomeno sembrano molteplici e sono riconducibili ad agenti patogeni emergenti delle api (*Nosema ceranae*), recrudescenza di malattie delle api note da tempo (es. varroatosi e virosi), agrofarmaci, fattori climatici od ambientali.



Prevention of Honey Bee Colony Losses

Monitoraggio in Italia settentrionale



Gravi perdite invernali (2007): 30-40% fino al 60%

Apicoltori che hanno registrato assenza di perdite
o nei limiti fisiologici: 5-10%

Distribuzione irregolare nel territorio

Nella stessa area apiari con gravi perdite, altri indenni o quasi

Fine marzo: prime segnalazioni di morie a seguito di trattamenti fitosanitari (albicocche)



cporrini@entom.agrsci.unibo.it
agsabatini@inapicoltura.org
dvetpietro@ulss22.veneto.it
gserra@inapicoltura.org
andrea.besana@conapi.it
mlodesani@inapicoltura.org



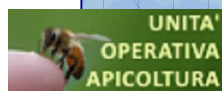
Italia centrale



Gravi perdite invernali (2007)

Spopolamenti molto spesso associati
a varroatosi, virus, Nosema spp.

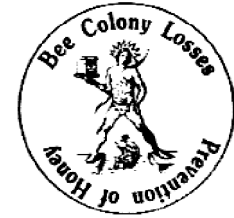
Distribuzione irregolare nel territorio



gioformato@yahoo.es

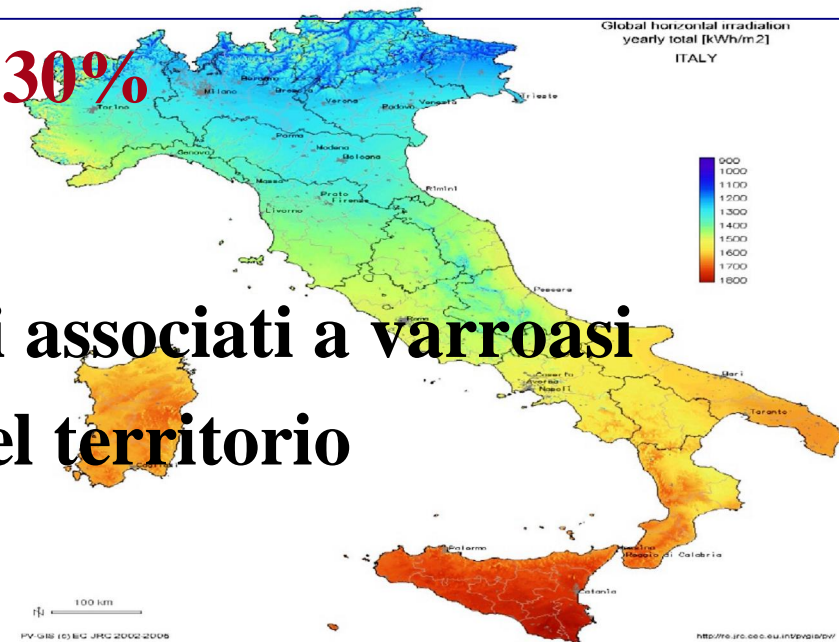


Italia meridionale



Perdite invernali (2007): 10-30%

Molto spesso spopolamenti associati a varroasi
Distribuzione irregolare nel territorio



Altre cause:

Condizioni meteo, mancanza di fioriture, pratiche apistiche

pietro.arculeo@izssicilia.it



Questionario sul rilevamento delle morie e degli spopolamenti degli alveari

Valutazioni:

l'entità; il periodo dell'anno;

la frequenza; il quadro sintomatologico osservato;

le cause ipotizzate e le modalità

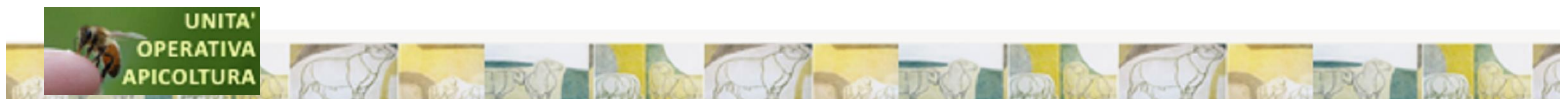
per il loro accertamento.

Ubicazione degli apiari.

Fonti di inquinamento nel raggio di 3 Km dall'apiario.

Pratiche di allevamento adottate in apiario: rimonta esterna (di sciami e regine); quantità media di telaini sostituiti/anno; sostituzione delle regine; alimentazione.

Strategie di lotta alla varroa: protocolli di lotta adottati nel corso dell'anno (es. periodo, scelta dei principi attivi e loro modalità di somministrazione alle api).



Questionario sul rilevamento delle morie e degli spopolamenti degli alveari da utilizzare durante i sopralluoghi e da inviare agli apicoltori

MODULISTICA PER RILEVAMENTO MORIE/SPOPOLAMENTI DI ALVEARI

Luogo e data: ____/____/2010

DATI ANAGRAFICI: Viene segnalata morte di alveari presso l'apario del sig./rappresentante legale/società:

Lo Cicero Francesco

Indirizzo email: _____

residente nel Comune di: ____Aprilia____ in via ____Carga 11____ Prov. ____LT____ tel. ____06/9269726 - 8479155768____

codice aziendale IT 001 LT A42

UBICAZIONE DELL'APIARIO

L'apiario è sito nel Comune di ____LATINA____ Prov. ____CAP ____

Loc. ____Via VIA MARIO SICILIANO____

Coordinate geografiche dell'apario (GIS) _____

Tipo di zona: ☐ Pianura ☐ Collina ☐ Montagna
Destinazione d'uso (specificare la percentuale): ☐ Agricoltura intensiva (____/____) ☐ Agricoltura estensiva (____/____)

☐ Boschi (____) ☒ Pascoli (____) ☐ Abitazioni (____) ☐ Industriale (____) ☐ Altro _____

ENTITA' DELLA MORIA:

L'apiario era composto (prima della morte) da N. totale di alveari: ____11____. Il N. di alveari riscontrati spopolati-MORIBONDI è di: ____2____.

Sono eventualmente stati riscontrati alveari vivi ma spopolati; fortemente ridotti di numero? ____Sì____. Se sì, quanti? ____tutti____ sono state inventate bene ma sono arrivate in primavera spopolate anche senza sintomi clinici evidenti (tremolio delle api)

Note _____

A quando risale la mortalità? (specificare mese e anno) MARZO-APRILE 2010

Sono già stati segnalati dall'apicoltore altri casi di morie (mortalità superiore al 20% degli alveari posseduti) negli ultimi 5 anni?

☐ Sì, regolarmente ☐ Sì, occasionalmente ☐ No, è la prima volta

A chi/cosa è stata imputata la causa delle morie gravi (>20%) nel passato? (specificare: es. varroa, nosemat, avvelenamento, peste americana, peste europea, erronéo trattamento, etc.)? 5 anni fa avevano 50 cassette in apario: durante gli inverni si riducono di numero, ultimo evento di grossa moria risale a 2 anni fa. Causa ipotetica: prodotti fitosanitari _____

Come venne accertata la causa di morie? ☐ laboratorio di analisi ☐ apicoltore più esperto ☒ è solo un sospetto

NELL'ATTUALE FENOMENO DI MORIA, quale causa viene sospettata?

Avvelenamento

Come è stata accertata la causa di morie? ☐ laboratorio di analisi ☐ apicoltore più esperto ☒ è solo un sospetto

Le api morte sono state acquistate nell'ultimo anno? ☐ Sì ☒ No ☐ In parte

MODULISTICA PER RILEVAMENTO MORIE/SPOPOLAMENTI DI ALVEARI

specificare quanti alveari sono morti rispetto al totale di quelli eventualmente acquistati: ____/____

Sono presenti FONTI DI INQUINAMENTO NEL RAGGIO DI 1,5 KM DALL'APIARIO?

☐ No

Impianti industriali (specificare il tipo) ____Azienda vibratoria di piante da vitaro____ ☐ Sì, discarica ____
Dis carica di inerti (calcinacci) ____

☐ Sì, pesticidi impiegati in agricoltura intensiva (es. frutteti, mais, girasole, etc.): _____

Note (es. eventualmente includere informazioni sugli interventi fitosanitari eseguiti nelle 2 settimane precedenti la moria

/s popolamento, se noti) _____

Sono presenti altri apiari nel raggio di 1,5 Km ____No____ Sì ma sono presenti con la fioritura dell'eucalipto ____

PRATICHE DI ALLEVAMENTO:

In media, quanti totali vengono sostituiti per anno, ogni anno? (scrivere il numero) ____6-7____

L'apicoltore procede ad una periodica sostituzione delle regine? ☐ No ☒ Sì; in questo caso ogni quanti anni? ____1____

Le Regine sono di produzione propria? ☒ Sì ☐ No ☐ In parte (specificare la %): _____

Le api vengono alimentate con miele? ☐ No ☒ Sì. In tal caso, il miele è: ☒ proprio ☐ acquistato

Trattamenti eseguiti in apiario 1 mese prima della moria e durata del trattamento:

TRATTAMENTI ANTIVARROA REALIZZATI NELL'ULTIMO ANNO:

1) **Trattamento Invernale:** ☐ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO COCCIOLOATO

Acido ossalico di idrato miscelato con acqua e poi fatta evaporare l'acqua: acido ossalico e farina (reazione di acqua evaporata dall'acido ossalico) viene dato ad ogni famiglia a cadenza mensile per un totale di 8-9 volte, razione per contatto e per grooming

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____

☐ Altro (specificare di _____, per un totale di (scrivere il numero di volte) _____

2) **Trattamento Estivo:** ☐ APISTAN ☐ ACIDO OSSALICO COCCIOLOATO

☐ ACIDO OSSALICO SUBLIMATO (specificare il modello di sublimatore usato) _____

☐ APIVAR ☒ APIGUARD ☐ API LIFE VAR ☐ TIMOLO IN CRISTALLI

☐ Altro (specificare): Tefaleo trappole per eliminare varroa _____

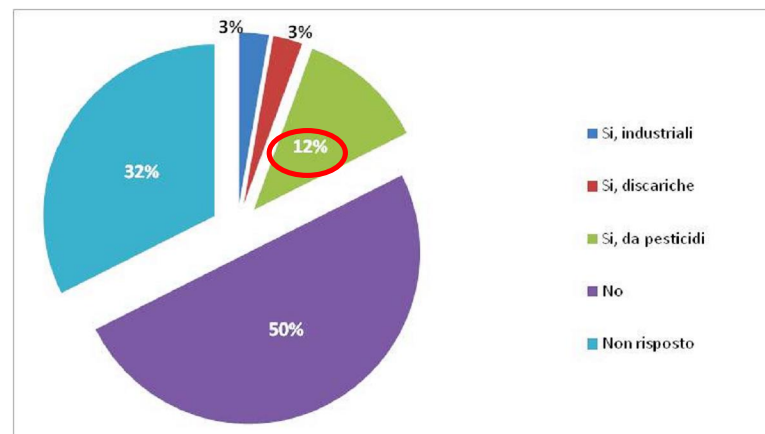
è seguito nel mese di ____AGOSTO____ anno ____2009____, per un totale di (specificare il numero di volte) ____

3) **Altri Trattamenti Effettuati (cosa, quando e come)** _____

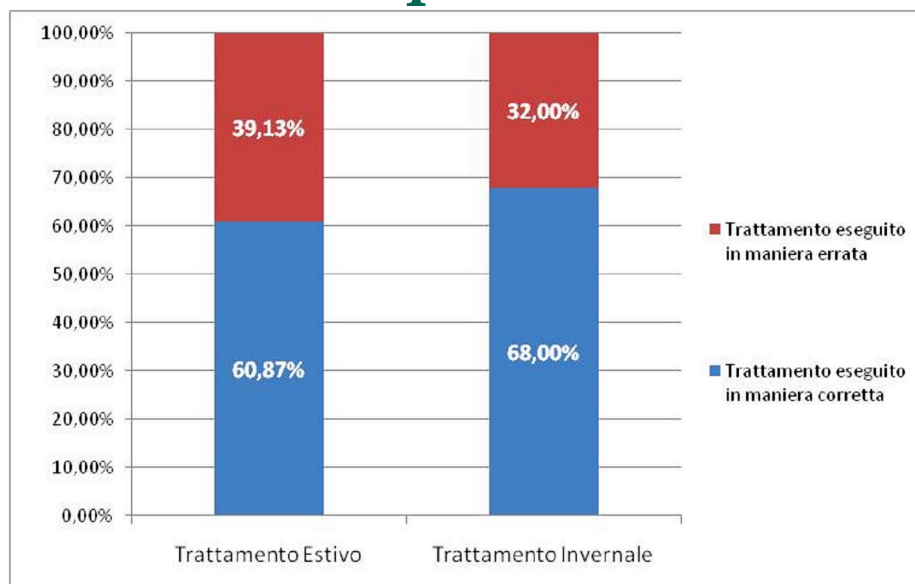
DESCRIVERE I SEGNI OSSERVATI NELLE FAMIGLIE COLPITE (cerciare i sintomi osservati): api morte sul predellino di volo o sul fondo dell'arnia; api che tremano, inebetite, disorientate, aggressive, piccole, nere, con ali deformi, con varroa sul corpo; odori anomali all'apertura dell'arnia; assottigliamento; acciugamento; assenza di covate; larve e/o puppe morte davanti all'arnia o sul predellino; opercoli forati, favi assenti, covata non compatta, larve filanti, api morte in fase di sfilamento; assenza di covate; presenza di escrementi sul predellino di volo o sull'arnia; graduale spopolamento fino a morte; scomparsa improvvisa delle famiglie; sono morte le famiglie più forti. Altri segni (descrivere): API SUL FONDO DELL'ARNIA MORTE; API CON TREMORI, LE FAMIGLIE SONO SCOMPARSE IMPROVVISAMENTE. LE API MORTE APPARTENGONO ALLE FAMIGLIE PIU' FORTI



Fonti di inquinamento nel raggio di 1,5 Km dall'apiario



Pratiche apistiche adottate: trattamenti antivarroa



39,13% dei trattamenti estivi
32% dei trattamenti invernali
Errori gestionali



Cause:

Avvelenamento da agrofarmaci

Apiario di Aprilia

IMIDACLOPRID: 0,200 µg/g di ape e positività del polline raccolto

Grado di contaminazione più che sufficiente a giustificare lo spopolamento dell'alveare oggetto della determinazione.

Apiario di Torricchia- Roccasinibalda, Rieti

ACETAMIPRIDE a livello di 0.0009 µg/g di ape

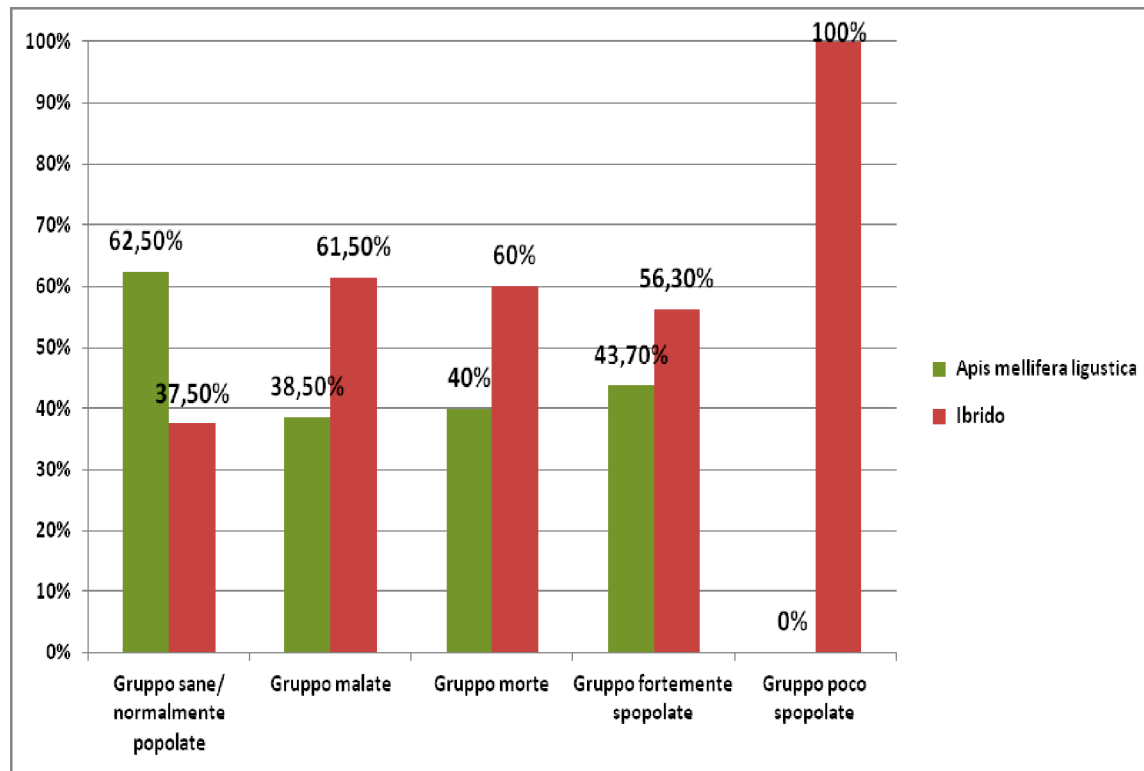


Virosi associata a varroatosi

I patogeni in grado di concorrere nei fenomeni di moria/spopolamento risultano essere:

Il virus della paralisi acuta sacco ed il virus della cella reale nera con prevalenze comprese tra il tra il 2,94% e il 100%.

Identificazione di sottospecie di *Apis mellifera*



Da quanto emerge dai risultati ottenuti
gli alveari appartenenti alla sottospecie *Apis mellifera ligustica* sembrerebbero essere
più resistenti ai fenomeni di spopolamento e morte.