

PROGETTO DI RICERCA CORRENTE IZS LT 05/12 RC



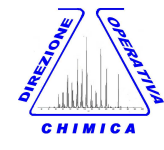
***Apis mellifera* quale animale sentinella per la rilevazione
dell'inquinamento agro-ambientale**



Principi del monitoraggio ambientale con le api

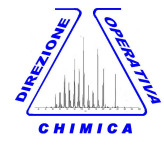
L'ape è un valido bioindicatore in quanto:

- campiona quasi tutte le matrici ambientali in un'area di circa 7km²
- Gli effetti dell'inquinamento possono manifestarsi come estesa mortalità delle colonie o accumulo nei prodotti dell'alveare
- Basso costo
- Ubiquitarietà
- Elevato numero di campioni prelevati sul territorio



Le UU.OO. del progetto

1. IZSLT – Unità Operativa di Apicoltura - Dr. Giovanni Formato
2. IZSLT – Direzione Operativa Chimico - Dr. Alessandro Ubaldi
3. IZSLT – Direzione Operativa Produzioni Zootecniche - Dr.ssa Maria Concetta Campagna
4. IZSLT – Osservatorio Epidemiologico - Dr. Pasquale Rombolà
5. IZSLT – Diagnostica Firenze - Dr. Franco Corrias
6. Istituto Superiore di Sanità - Dr. Paolo Stacchini
7. IZSPLV - Dr.ssa Paola Mogliotti
8. ISPRA - Dr. Valter Bellucci



Obiettivi

Predisporre delle linee guida per la rilevazione della contaminazione ambientale tramite le api ed i prodotti dell'alveare comprensive di:

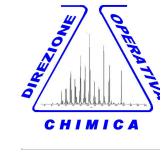
- le modalità di gestione degli alveari impiegati;
- la scelta della matrice più appropriata in base al tipo di inquinante da ricercare;
- le modalità di prelievo dei campioni;
- la gestione dei campioni;
- le metodiche di laboratorio da impiegare.



Postazioni di monitoraggio

Arezzo, area industriale CHIMET

Metalli pesanti (Pb, Cd, Ni, Cr)



Valle del fiume Sacco

B-HCH

Roma, IZSLT

IPA

Maccarese

Agrofarmaci



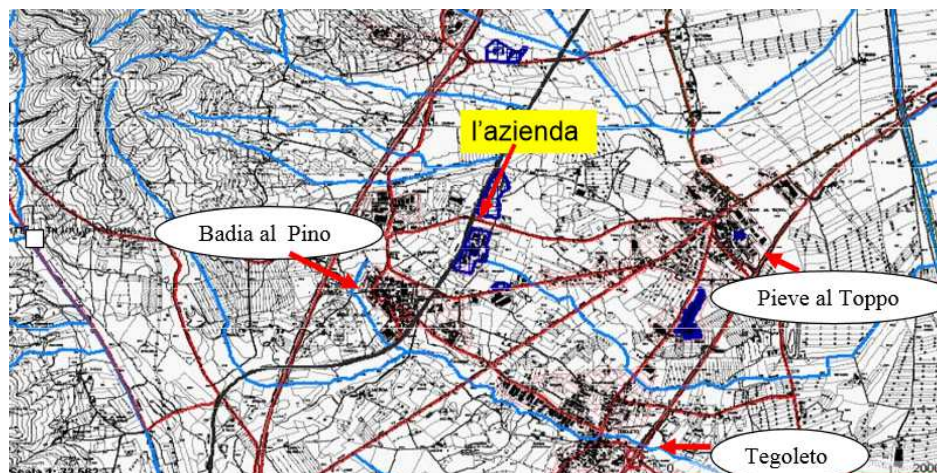
Apiario Arezzo – Civitella Val di Chiana

Area industriale CHIMET





Nella frazione di Badia al Pino del comune di Civitella in Val di Chiana è ubicata l'azienda CHIMET.



Attiva fin dai primi anni '70, si occupa principalmente del trattamento, recupero e affinazione di **metalli preziosi** provenienti da rifiuti prevalentemente nel settore orafo ma anche da altre attività industriali (marmitte catalitiche, catalizzatori esausti, bagni galvanici, radiografie, ecc.). L'attività nello stabilimento di Badia al Pino inizia il 26/05/1976.

Da circa 10 anni incenerisce **anche rifiuti speciali, pericolosi e ospedalieri**.

L'azienda, costruita in una zona agricola, in prossimità dell'autostrada A1, è distante pochi km da un inceneritore municipalizzato.

A poca distanza dall'impianto sono presenti diversi centri abitati.



Indagine della Procura di Arezzo per inquinamento ambientale, in atto



In collaborazione con :

Agenzia Regionale di Sanità (ARS)

Azienda USL 8 Arezzo

Dip.Ingegneria dell'Informazione -Università Di Siena

Dip.Provinciale di Arezzo (ARPAT)

Laboratorio Sanità Pubblica – Area Vasta Sud Est



**” STUDIO DI MONITORAGGIO BIOLOGICO PER LA VALUTAZIONE DELLA
POSSIBILE ESPOSIZIONE RESIDENZIALE DA INQUINANTI EMESSI
DALL’IMPIANTO CHIMET**

E

**STUDIO DI FATTIBILITA’ PER LA VALUTAZIONE DI EFFETTI SANITARI
LEGATI ALLE POSSIBILI ESPOSIZIONI AVVENUTE NEL PASSATO”**



Indagini forensi: rinvenimento di Metalli Pesanti (Selenio), betaHCH, IPA, Radionuclidi

Studio IZSLT (Dott.ssa Nocentini)

Studio di matrici alimentari di prodotti locali (latte e miele) da campioni provenienti dalla zona limitrofa lo stabilimento CHIMET: Cd, Cr, Ni

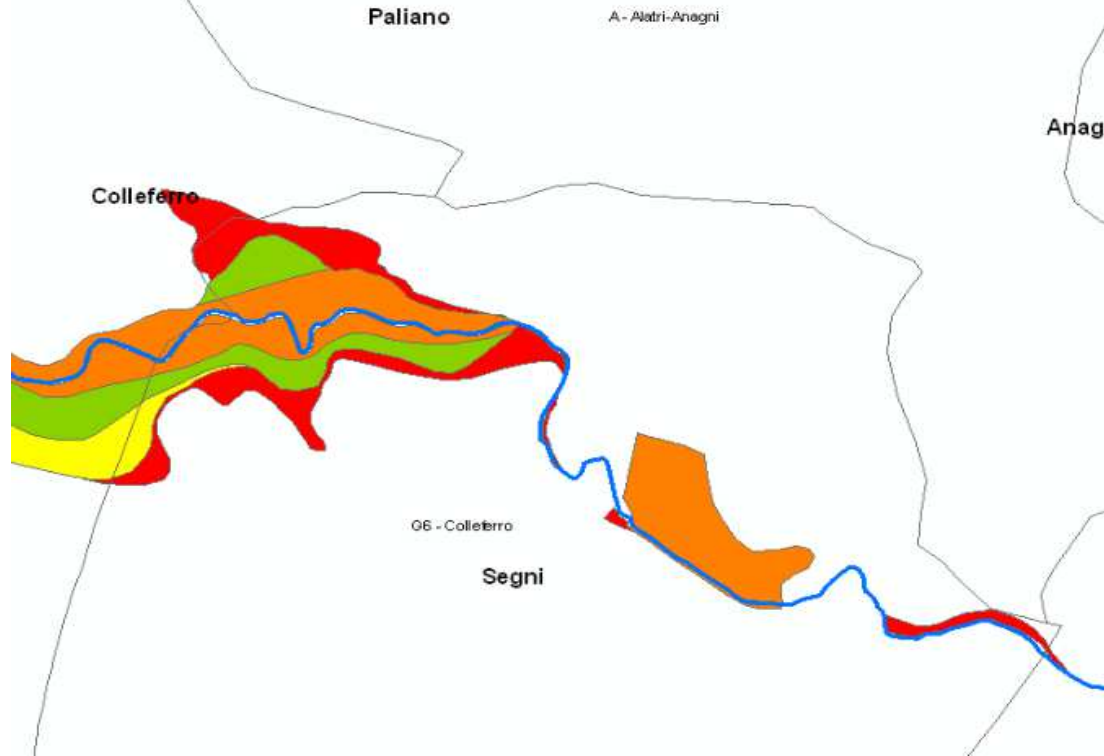


Apiario Valle del fiume Sacco

Gavignano



Valle del Sacco: aree di esondazione del fiume Sacco



Risulta interessante posizionare gli alveari entro 100 metri dalla sponda fluviale lungo il tratto di asta fluviale che passa nel comune di Segni
possibilmente anche interessato dalle specie erbacee specificate nel campo matrici ambientali.

Specie arboree come *Cytisus striatus* (ginestre), *Avena sativa*, *Vicia sativa* (veccia), *Solanum nigra* (erba morella), *Chenopodium vulgare* (farinello) si sono dimostrate idonee all'assorbimento e all'accumulo del contaminante. Anche i pioppi.



Apiario Valle del Sacco



Valle del Sacco



Apiario Valle del Sacco



Apiario Valle del Sacco: polline



Apiario Valle del Sacco



La esondazione
del fiume
Sacco.....



Apiario Roma

IZSLT



Roma



Apiario Maccarese





Montalto di Castro

Contaminante prevalente: [Radionuclidi](#)

Altri contaminanti:

Sito: [Montalto di Castro formato decimale \(DD\) Lat 42.369861 Long 11.552944](#)

Comune: [Civitavecchia](#)

Provincia: [RM](#)

contam. accertata (si/no):

Anno accert.: [2012](#)

"Matrice ambientale"*: [suolo](#)



Coinvolgimento della ASL/VT

Dottor Massimo Palazzetti

Apicoltore con apiario all'interno dell'area della centrale Termo elettrica.



I sopralluoghi in apiario sono stati effettuati senza impiego di affumicatore.

Per i prelievi sono state utilizzate pinze e bisturi sterili e sostituiti i guanti in lattice monouso ad ogni alveare visitato

Divieto per gli apicoltori di aprire gli alveari



Campionamenti



Periodo	Cadenza di campionamento	Numero di campionamenti
aprile 2015 – settembre 2015	Mensile	6
ottobre 2015-novembre 2015	Bimensile	1
Totale		7

Cadenza di campionamento
a coprire tutto il periodo di produzione delle api:
 da aprile 2015 a ottobre 2015 e da febbraio 2016 ad aprile 2016



Analisi di laboratorio

1. Prodotti fitosanitari – PPP:

carbammati, piretroidi, organofosforati, organoclorurati

2. Metalli pesanti:

Pb, Cr, Cd, Ni

3. beta-HCH

4. Radionuclidi gamma-emittenti:

Cesio (^{134}Cs e ^{137}Cs), Iodio (^{131}I) e Potassio (^{40}K)



Quantitativo di campione da prelevare per ciascun alveare (poi si fa un pool per ciascun apiario)

Radionuclidi:

Miele: 300g
Polline: 200g
Api: 200g
Cera: 300g

Matrici di elezione:
polline, cera, miele

Metalli pesanti:

Miele: 20 g
Polline: 20 g
Covata: 20 g (api in 200
opercoli, pari a 10x10 cm)
Api: 20 g (200 api)
Cera (di opercolo): 20 g

Matrici di elezione:
covata, miele, api, pane d'api

Beta-HCH:

Miele: 20 g
Polline: 20 g
Covata: 20 g (api in 200
opercoli, pari a 10x10
cm)
Api: 20 g (200 api)
Cera (di opercolo): 20 g

Matrici di elezione:
miele, pane d'api, cera,
api

Prodotti fitosanitari:

Miele: 20 g
Polline: 20 g
Covata: 20 g (api in 200 opercoli, pari a 10x10
cm)
Api: 20 g (200 api)
Cera (di opercolo): 20 g

Matrici di elezione: api, pane d'api, cera

IPA:

Miele: 50 g Polline: 10 g
Api: 20g (200 api)
Cera: 50 g

Matrici: api, pane d'api

Matrici apistiche da campionare

- Api adulte
- Miele: non opercolato
- Polline: da trappola
- Cera: di opercolo



Protocollo operativo

Realizzazione di pacchi d'ape
(solo api adulte senza telaini con covata e scorte)
esenti da contaminazione pregressa



Nel pacco d'ape per le prove rimangono

Api adulte
ed ape regina

Senza nessun telaino costruito
precedentemente.



Solo telaini con una listarella di
foglio cereo bio (9telaini)
+ 1 nutritore a tasca per
alimentare con sciroppo bio.



Identificazione univoca degli alveari e dei melari

Impiegare un codice univoco che identifichi l'apiario in osservazione (per esempio con lettere dell'alfabeto: A per Montalto di Castro: B per Arezzo.....)ed un numero progressivo per ognuno dei cinque alveari predisposti per ogni postazione.

I melari di ogni alveare saranno identificati con il medesimo codice univoco.

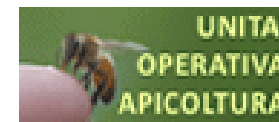


Per esempio: l'alveare 1 di Montalto di Castro sarà identificato come A1. L'alveare 2 sarà identificato A2.
L'alveare 1 di Arezzo sarà identificato come B1 e così via.





Trasferirei pacchi di apeformati
nell'apiario di destinazione e non spostarli fino alla esecuzione
dell'ultimo campionamento in apiario previsto per luglio 2015



Campioni

Sulla provetta/busta presto chiusa con cui saranno realizzati i campionamenti, verranno riportati, con pennarello indelebile, le seguenti indicazioni:

1. l'identificativo dell'alveare campionato,
2. la postazione,
3. la data del campionamento.



Protocollo per il campionamento di matrici apistiche

Api bottinatrici

Dopo aver provveduto a chiudere la porticina ed aver atteso che un sufficiente numero di api bottinatrici si sia accumulato sul predellino di volo, si campiona da ogni alveare le api bottinatrici con l'ausilio di buste presto-chiuse sterili

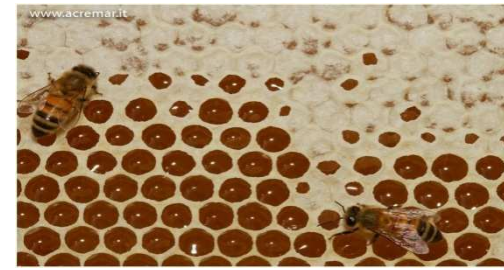


I campioni di api saranno immediatamente conservati in borse refrigerate con ghiaccio secco osiberini.

La catena del freddo sarà poi garantita fino alla consegna dei campioni ai laboratori di analisi(-20°C).



Miele da nido



Da ogni alveare si realizzerà un campionamento di miele da nido non opercolato.

Con bisturi monouso si ritaglierà un sesto di telaino da nido contenente miele non opercolato, da ciascun alveare in sperimentazione, da posizionarsi in busta presto-chiusa sterile.



Polline fresco da trappola

Da ciascun alveare soggetto a sperimentazione sarà prelevato il polline accumulato nelle 24-48 h precedenti nella trappola per il polline opportunamente posizionata, per raggiungere un quantitativo minimo in pool di 150 g per quanto riguarda la ricerca di radionuclidi
Il polline sarà conservato dal suo campionamento per tutto il periodo fino alla consegna presso IZSLT a temperatura refrigerata (+4°C).



Cera d'opercolo

Da ogni alveare soggetto a monitoraggio sarà campionato mediante escissione realizzata con bisturi sterile cera di opercolo.



1. Arezzo – Civitella in Val di Chiana

CHIMET : Metalli Pesanti

APIARIO ESPOSTO A METALLI PESANTI

Sono stati determinati gli elementi cadmio e piombo su un totale di 86 campioni così ripartiti: 19 campioni di miele (22%), 4 campioni di polline (5%), 20 campioni di api (23%), 23 campioni di cera (27%) e 20 campioni di covata (23%).



1. Arezzo – Civitella in Val di Chiana

CHIMET : Metalli – RISULTATI CADMIO

		maggio 2015					giugno 2015					luglio 2015				
µg/kg		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Cadmio	Alveare															
	Miele	7± 1			4± 1		8± 1	3± 0,8	4± 1	3± 0,8		2± 0,5	5± 1			12± 2
	Polline	49± 10			67± 14		102± 22	61± 13								
	Api	309± 67			247± 54		342± 75	406± 89 45	506± 111	209±	355± 78	621± 136	378± 83	288± 63	587± 129	399± 87
	Cera	10± 2		12± 2	20± 4		11± 2	13± 2	54± 11	21± 4	20± 4	14± 3	32± 7	8± 1	29± 6	7± 1
	Covata				27± 5		38± 8		25± 5	38± 8	41± 9	20± 4	28± 6	12± 2	45± 9	87± 19
µg/kg		agosto 2015					settembre 2015									
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5					
Cadmio	Alveare															
	Miele	6± 2	3± 0,8	5± 1	3± 0,8	6± 2	8± 1	3± 0,8	9± 1	4± 1	4± 1					
	Polline															
	Api	416± 91	378± 83	198± 43		321± 70	588± 129	412± 90	188± 41		205± 45					
	Cera	3± 0,8	12± 2	23± 5	5± 1	14± 3	14± 3	17± 3	9± 1	12± 2	20± 4					
	Covata	19± 4	35± 7	19± 4	34± 7	26± 5	39± 8	25± 5	16± 3	51± 11	28± 6					

Esiti analitici determinazione
del CADMIO : valore medio +/-
incertezza di misura estesa

1. Arezzo – Civitella in Val di Chiana

CHIMET : Metalli – RISULTATI PIOMBO

µg/kg		maggio 2015					giugno 2015					luglio 2015				
Alveare		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Piombo	Miele	26± 6			78± 20		48± 12	56± 14	32± 8	187± 48		164± 42	87± 22			105± 27
	Polline	166± 43			230± 59		439± 114	113± 29								
	Api	106± 27			206± 53		147± 38	305± 79	189± 49	98± 25	122± 31	225± 58	129± 33	84± 21	91± 23	110± 28
	Cera	24± 6		441± 114	65± 16		79± 20	61± 15	221± 57	98± 25	156± 40	588± 152	306± 79	29± 7	165± 42	62± 16
	Covata				221± 57		198± 51		205± 53	301± 78	247± 64	158± 41	167± 43	208± 54	224± 58	146± 37
µg/kg		agosto 2015					settembre 2015									
Alveare		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5					
Piombo	Miele	332± 86	6± 1	19± 4	35± 9	22± 5	65± 16		31± 8	87± 22	291± 23	46± 11				
	Polline															
	Api	97± 25	85± 22	51± 13			99± 25	109± 28	137± 35	102± 26		155± 40				
	Cera	268± 69	35± 9	240± 62	179± 46	30± 7	2770± 720	471± 122		230± 59		102± 26				
	Covata	128± 33	114± 29	171± 44	201± 52	206± 53	401± 104		382± 99			264± 68				

Esiti analitici
determinazione del
PIOMBO : valore
medio +/- incertezza
di misura estesa



IZS Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Regione Lazio e Toscana



2. Zona ripariale fiume Sacco - confine comune di Segni e Paliano : α e β -Esaclorocicloesano

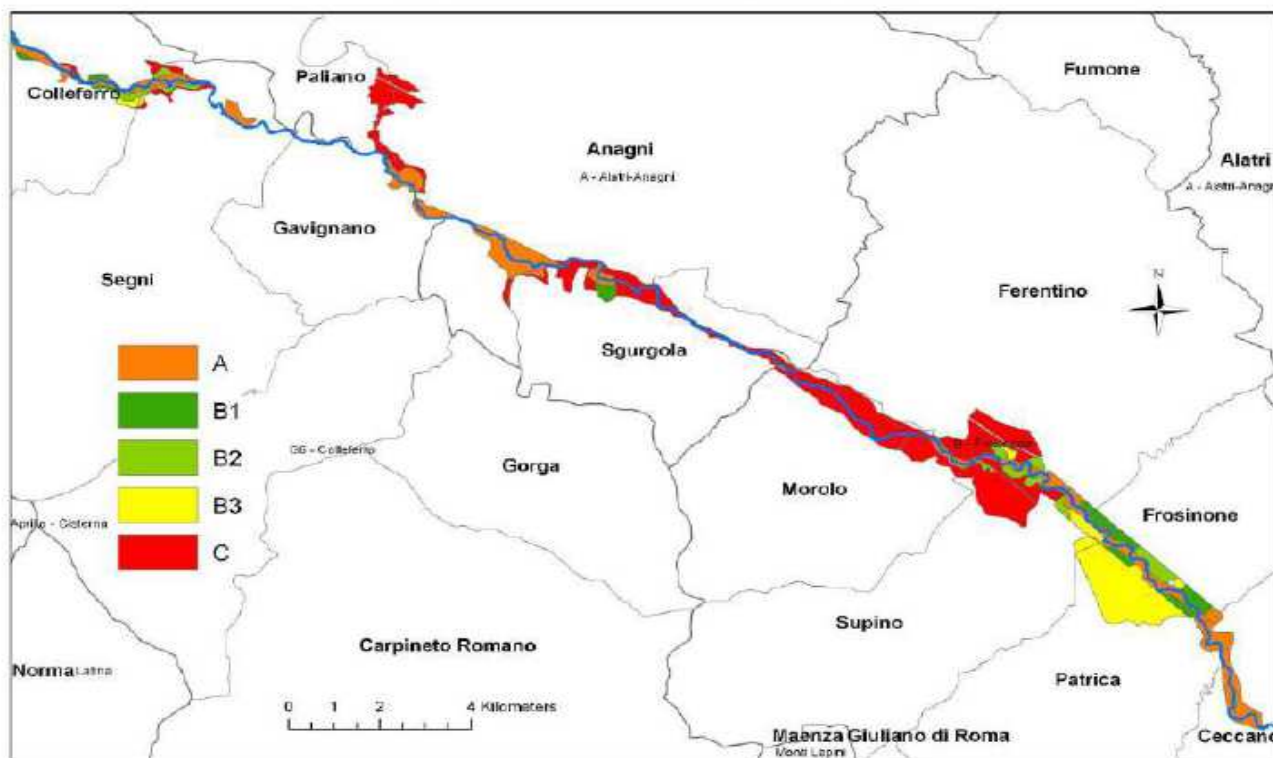
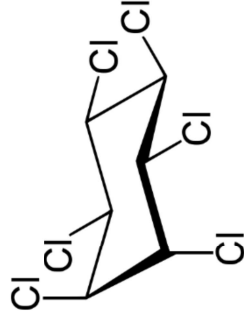


Figura 25 Zone di esondazione del fiume Sacco

2. Zona ripariale fiume Sacco - confine comune di Segni e Paliano : α e β -Esaclorocicloesano



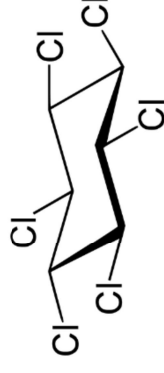
Esiti della ricerca di α -HCH nei campioni analizzati. Valori espressi in $\mu\text{g/Kg}$.

	Maggio 2015	Giugno 2015	Luglio 2015	Agosto 2015
Matrice				
Miele	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Polline	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cera	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Api	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Pupe	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

LOD α -HCH = 0.03 $\mu\text{g/Kg}$.

2. Zona ripariale fiume Sacco - confine comune di Segni e Paliano

: α e β -Esaclorocicloesano



Esiti della ricerca di β -HCH nei campioni analizzati. Valori espressi in $\mu\text{g/Kg}$.

	Maggio 2015	Giugno 2015	Luglio 2015	Agosto 2015
Matrice				
Miele	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Polline	< LOQ	0.69	0.45	N.D.
Cera	< LOD	< LOD	1.2	< LOQ
Api	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Pupe	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

LOD β -HCH cera = 0.2 $\mu\text{g/Kg}$, LOQ β -HCH cera = 1.0 $\mu\text{g/Kg}$, LOD β -HCH altre matrici = 0.05 $\mu\text{g/Kg}$, LOQ β -HCH altre matrici = 0.20 $\mu\text{g/Kg}$.



3. Apiario presso IZSLT – impatto da traffico veicolare e aereo : IPA



In base alle esposizioni sopra indicate è stato scelto l'apiario della sede centrale dell'IZSLT per verificare la presenza di IPA nelle matrici dell'alveare.

3. Apiario presso IZSLT

Risultati IPA

	Benzo (a)Piirene Benzo(a)Antracene Crisene Benzo(Fluorantene)					
	Maggio 2015	Giugno 2015	Luglio 2015	Agosto 2015	APRILE 2016	MAGGIO 2016
MIELE	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
POLLINE	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
CERA	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
API	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
PUPE	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

LOD : 0,02 ug/Kg



4. Maccarese - Roma: Pesticidi

RISULTATI

LMR : Limite Massimo di Residuo per i prodotti dell'alveare.	CLORFENVIFOS (acaricida non autorizzato in campo apistico)	CLORPIRIFOS (insetticida) LMR 50* ng/g	CLORPIRIFOS-METILE (insetticida) LMR non definito	DIMETOATO (insetticida) LMR non definito	IODOFENFOS (insetticida) LMR non definito	PENDIMETALINA (erbicida) LMR 50* ng/g
	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
MIELE MAGGIO 2015						
MIELE GIUGNO 2015	0,2		0,3	3,1	0,7	0,9
MIELE LUGLIO 2015				1,8		
MIELE AGOSTO 2015						
MIELE APRILE 2016	0,3	3,0				
MIELE MAGGIO 2016	0,2					

Residui di pesticidi rilevati nei campioni di miele prelevati

Presenza di CLORFENVINFOS – sostanza usata impropriamente come acaricida nella lotta contro i parassiti delle api.



4. Maccarese - Roma: Pesticidi

RISULTATI

	BOSCALID (fungicida) LMR 50* ng/g	CLORFENVIFOS (acaricida non autorizzato in campo apistico)	CLORPIRIFOS (insetticida) LMR 50* ng/g	p,p'-DDE (metabolita del DDT) LMR 50 ng/g	DIMETOMORPH (fungicida) LMR 50* ng/g	DIFENILAMMINA (antiossidante) LMR 50* ng/g	IPRODIONE (fungicida) LMR 50* ng/g	PIRACLOSTROBINA (fungicida) LMR 50* ng/g	PENDIMETALINA (erbicida) LMR 50* ng/g	PROTIOCONAZOLO - DESTHIO (fungicida) LMR 50* ng/g	TEBUCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	TOLCLOFOSMETILE (fungicida) LMR 50* ng/g
	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
CERA MAGGIO 2015				1,5								
CERA GIUGNO 2015										1,2		
CERA LUGLIO 2015				1,7								
CERA AGOSTO 2015	2		6,8		14,6	9,9	2,1	18,9	19,1		5,4	0,5
CERA APRILE 2016		3,9	4			9,2	1,0		12,6			0,5

Residui di pesticidi rilevati nei campioni di cera prelevati

Su 12 diversi principi attivi rilevati, 7 appartengono alla classe dei fungicidi.

Presenza di CLORFENVINFOS nel campione di aprile 2016 a concentrazione più elevate rispetto al miele (0,2-0,3 ng/g miele).



4. Maccarese - Roma: Pesticidi

RISULTATI

	AZOSSISTROBINA (fungicida) LMR 50* ng/g	BITERTANOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	CIPROCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	CIPRODINIL (fungicida) LMR 50* ng/g	CLORFENVIFOS (acaricida non autorizzato in campo apistico)	CLORPIRIFOS (insetticida) LMR 50* ng/g	p,p'-DDE (metabolita del DDT)	DIFENOCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	DIETOFENCARB (fungicida) LMR 50* ng/g
	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
POLLINE MAGGIO 2015					ASSENTE	69		7,4	
POLLINE APRILE 2016	5				ASSENTE			4	
POLLINE MAGGIO 2016	2,9	7,2	15,4	5,0	ASSENTE	8,7		18,5	73,4

	ESACONAZOLO (fungicida) LMR non definito	FENBUCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	FENPROPIMORF (fungicida) LMR non definito	IPRODIONE (fungicida) LMR 50* ng/g	PENCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	PIRIMETANIL (fungicida) LMR 50* ng/g	PROTIOCONAZOLO-DESTHIO (fungicida) LMR 50* ng/g	TEBUCONAZOLO (fungicida) LMR 50* ng/g	TETRACONAZOLO (fungicida) LMR 20* ng/g
	ng/g			ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g	ng/g
POLLINE MAGGIO 2015								7,3	9
POLLINE APRILE 2016								5,7	
POLLINE MAGGIO 2016	36,7	8,1	4,8		3,8	10		133	19,6

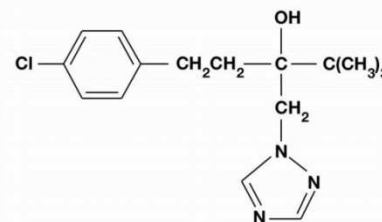
Residui di pesticidi nei campioni di polline analizzati.



4. Maccarese - Roma: Pesticidi

RISULTATI

- Il polline prelevato nel mese di maggio 2016 ha presentato il più elevato numero di molecole rilevate (14 diversi principi attivi rilevati).
- 13 di queste molecole appartenevano alla classe dei fungicidi
- Il TEBUCONAZOLO è stato quantificato a 133 ng/g, valore superiore all' LMR (50 ng/g di prodotto).



- Non si è rilevata la presenza di CLORFENVINFOS sui pollini prelevati nello stesso periodo dei campioni di miele e cera (aprile e maggio 2016) risultati contaminati da questo acaricida: probabile contaminazione non dovuta all'attività bottinatrice dell'ape.



CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

- **Metalli pesanti:** le api rappresentano un ottimo indicatore ambientale per il cadmio (Cd).
- **Valle del Sacco:** β -esaclorocicloesano rinvenuto (seppure a bassi dosaggi) nella cera e nel polline ma non nel miele. Nella valle del fiume Sacco sarebbe quindi ipotizzabile ripopolare con api per la produzione di miele.
- **IPA:** difficilmente rinvenibili impiegando le api, in prossimità di arterie stradali, aeroporto ed inceneritore.
- **Prodotti fitosanitari:** nel miele abbiamo evidenziato (sebbene in piccole quantità) spt. pesticidi organofosforati; nella cera e nel polline spt. fungicidi (fino a 14 diversi p.a.)



Grazie della cordiale attenzione

