ARPA FVG
Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente del Friuli Venezia Giulia

Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente

Agenzie ambientali AssoARPA

Museo di Storia Naturale

POLLnet Rete Italiana di Monitoraggio Aerobiologico

giornata di studio sui

POLLINI

approfondimenti di biologia molecolare, statistica, biodiversità e normativa

ABSTRACTS

24 febbraio 2017

sala consiliare della Provincia, Pordenone

QUALE RUOLO PER IL MONITORAGGIO DEI POLLINI ALL'INTERNO DEL SISTEMA NAZIONALE DELLE AGENZIE

Luca Marchesi - Direttore Generale di Arpa FVG

Il monitoraggio dei pollini è un'attività inizialmente nata e sviluppatasi allo scopo di fornire un servizio di supporto alle persone che soffrono di allergie, quindi per finalità prettamente collegate alla Sanità. A livello nazionale in 17 Regioni o Province Autonome questo servizio è gestito dalle Agenzie per la protezione dell'Ambiente, mentre in 4 regioni il servizio di monitoraggio viene gestito in ambito accademico od ospedaliero e sanitario. Nello specifico, il monitoraggio dei pollini si struttura su tre diverse reti: i) la rete POLLnet alla quale afferiscono in particolare le diverse Agenzie per la Protezione dell'Ambiente e ISPRA; ii) la rete AIA condotta a livello di Sanità e Università; iii) la rete AAITO condotta a livello ospedaliero.

Anche nel contesto delle diverse Agenzie per la Protezione dell'Ambiente, inoltre, il servizio di monitoraggio dei pollini viene condotto da strutture diverse. Troviamo la tematica dei pollini nell'ambito delle attività di laboratorio, nell'ambito dei servizi territoriali, nell'ambito della qualità dell'aria o nell'ambito della biologia ambientale. E' pertanto inevitabile, ma questo aspetto va vissuto come una ricchezza, che le diverse Agenzie conducano il monitoraggio dei pollini con una differente sensibilità ambientale a seconda dei casi, andando dagli aspetti più prettamente analitici a quelli più marcatamente territoriali.

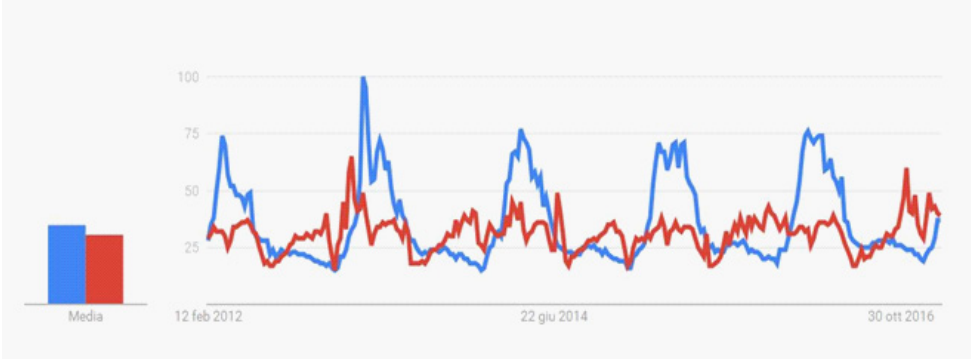


Figura 1. Intensità di ricerca di informazioni internet effettuate a livello planetario relativamente alla tematica "polline" (linea blu) e alla tematica "inquinamento atmosferico" (linea rossa). La frequenza di ricerca informazioni sui pollini è leggermente superiore a quella sull'inquinamento atmosferico e ha una chiara stagionalità. (fonte Google Trends ®)

Un ulteriore aspetto da prendere in considerazione è che, benché il monitoraggio dei pollini sia nato per finalità sanitarie, negli ultimi anni, forse anche grazie all'"incubazione" nella rete delle Agenzie per la Protezione dell'Ambiente, esso ha iniziato ad assumere valenze ulteriori, come quella della biodiversità e dei cambiamenti climatici. Tramite il monitoraggio dei pollini, infatti, possiamo quantificare l'evoluzione del diverso spettro di specie vegetali presenti in un territorio, controllando anche l'eventuale arrivo di specie aliene, come accaduto con l'ambrosia, una pianta infestante proveniente dall'America e da diversi anni diffusasi in Europa [1]. Tramite il monitoraggio dei pollini, inoltre, possiamo quantificare la variazione dello spettro delle specie vegetali, quindi della base degli ecosistemi, in funzione dei cambiamenti climatici. In questo moto la variazione del clima non diventa più una "semplice" e forse distante questione di "temperature" o "quota media della neve", ma una tangibile deriva di un intero ecosistema.

Un elemento apparentemente scollegato, ma che invece riveste particolare importanza anche per i pollini, è quello della recente approvazione della legge di riorganizzazione del Sistema Nazionale di protezione Ambientale (SNPA, Legge 132/2016) [2]. A seguito di questa legge, infatti, dovranno essere definiti i Livelli Essenziali delle Prestazioni Tecniche Ambientali (LEPTA), i quali devono essere garantiti dal Sistema sulla base di un Catalogo nazionale dei servizi e di correlati costi standard (e dunque livelli di finanziamento). La tematica del monitoraggio dei pollini dovrà pertanto essere ripresa in questo più ampio contesto di definizione del Sistema Nazionale di Protezione Ambientale in modo da garantire su tutto il territorio un'omogeneità "al rialzo" delle prestazioni fornite. Un futuro di grande cambiamento ma anche di grande opportunità.

È indubbio che nei prossimi anni avremo un sistema pubblico ambientale fortemente rinnovato, nella sua architettura e nei suoi protagonisti (Istituzioni e persone). I ruoli, che si stanno delineando, andranno definiti con cura ed esercitati da tutti con alto senso di responsabilità, nella chiarezza e distinzione di compiti e approcci che è il presupposto essenziale di ogni - sempre più necessaria - forma di collaborazione e sinergia.

La partita è difficile complicata e, oserei dire, decisiva. Per questo va giocata fino in fondo. E in questa partita il SNPA sarà protagonista.

NUOVE FRONTIERE DEL MONITORAGGIO AEROBIOLOGICO ALL'INTERNO DEL SNPA

Vincenzo De Gironimo – ISPRA

Se riportiamo al monitoraggio aerobiologico operato dalle agenzie ambientali attraverso la rete POLLnet gli obiettivi di "**omogeneità ed efficacia**" previsti per il SNPA dalla sua legge istitutiva (28 giugno 2016, n. 132), risultano evidenti le azioni necessarie ad indirizzarne lo sviluppo.

L'**omogeneità** deve essere in primo luogo territoriale per cui la rete va completata nelle ampie zone dove ancora non è attiva o è carente.

In questa azione, andranno probabilmente riconsiderati i criteri che hanno guidato finora la realizzazione di POLLnet (principalmente la distribuzione della popolazione e la facilità di gestione delle stazioni) affiancando ad essi anche valutazioni d'altro tipo (ad esempio le zone bioclimatiche interessanti il territorio). L'obiettivo è quello di dare indicazioni coerenti sulla concentrazione dei pollini aerodispersi valide non solo in corrispondenza delle singole stazioni ma a livello territoriale più vasto, fino a coprire, l'intera superficie italiana.

In questo modo sarà anche possibile ottimizzare le risorse e individuare gli standard minimi d'implementazione di stazioni di monitoraggio comuni a tutta la rete.

Per quanto riguarda l'**efficacia**, nel nostro caso, dell'informazione ambientale, è molto importante tenere aperto un dialogo tra chi la produce e chi la utilizza in modo da potere apportare, nel tempo, tutti quegli aggiornamenti e modifiche che si dovessero rendere necessari.

In proposito, per gli aspetti d'interesse sanitario, un'azione importante la può dare l'implementazione sul sito di POLLnet di una app che possa mettere in relazione i dati aerobiologici, i malati allergici e i medici allergologi. L'efficacia dell'informazione ambientale si potrà così tarare sulle effettive esigenze dei suoi principali utilizzatori.

In questa direzione si stanno muovendo in particolare le reti di monitoraggio aerobiologico di alcuni Paesi dell'Europa centrale ma sono in corso valide esperienze anche in Italia.

I dati prodotti da POLLnet hanno importanza anche in altri ambiti oltre a quello sanitario, come ad esempio lo studio della biodiversità vegetale, gli impatti dei cambiamenti climatici, una più avanzata definizione della qualità dell'aria. Fondamentali per affrontare più agevolmente questi approfondimenti sono la facilità d'accesso alle diverse banche dati e la possibilità che esse, per quanto possibile, "dialoghino" tra di loro. L'attenzione che viene posta al sistema informativo nazionale ambientale nella realizzazione del SNPA pone però le premesse per il raggiungimento di tale obiettivo.

Altri aspetti riguardanti la qualità dei dati (il corretto riconoscimento delle particelle al microscopio) come la formazione e l'aggiornamento degli operatori, e l'attivazione di ring test tra laboratori, già perseguiti all'interno di POLLnet, dovranno trovare una loro maggiore sistematizzazione con cadenze e procedure consolidate.

La legge istitutiva del SNPA codifica in forma molto generale l'attività di ricerca e di sperimentazione scientifica che le agenzie ambientali e ISPRA possono sviluppare autonomamente o "in forma associata tra loro e in concorso con gli altri soggetti operanti nel sistema della ricerca". Questa indicazione facilità la collaborazione, in alcuni casi già sperimentata, con singoli studiosi, istituti, università e associazioni che in Italia (e all'estero) si occupano di aerobiologia.

I risultati sono un'ottimizzazione delle risorse, un complessivo consolidamento delle competenze all'interno del SNPA, crescita professionale degli operatori, miglior servizio all'utenza.

UTILITÀ DEL MONITORAGGIO POLLINICO PER L'ALLERGOLOGO

Danilo Villalta - SSD di Allergologia e immunologia Clinica, Presidio Ospedaliero "S. Maria degli Angeli", Pordenone

Il monitoraggio pollinico, sin dalla nascita dell'allergologia, rappresenta uno strumento essenziale per la diagnostica e lo studio delle pollinosi. Charles Blackley, infatti, alla fine dell' 800 dimostrò' che i pollini di *Graminaceae* erano la causa della "febbre da fieno" riproducendo i sintomi instillando nel naso di un paziente un estratto pollinico (primo test di provocazione specifico), inducendo un pomfo cutaneo in seguito a scarificazione della cute, dopo aver posto in essa un estratto pollinico (primo prick test) e dimostrando la correlazione tra presenza di pollini in atmosfera e presenza di sintomi, suggellando così il ruolo fondamentale dell'aerobiologia.

Storicamente il monitoraggio pollinico serve all'allergologo per correlare la presenza del polline con il periodo sintomatico del paziente, conoscere i pollini e il periodo di loro presenza nel territorio in cui esso opera, guidare la durata della terapia sintomatica e infine predire il rischio di presenza di sintomi quando un pollinosico si sposta in regioni diverse da quelle della sua abituale residenza. Quest'ultimo punto stressa l'importanza delle reti di monitoraggio in tutto il territorio nazionale e la disponibilità dei dati nei siti, o più modernamente nelle applicazioni dedicate (*App*), consultabili sia dall'allergologo che dai pazienti.

Il monitoraggio pollinico, comunque, negli ultimi anni sta sempre più avendo un ruolo essenziale in quella che viene definita "allergologia di precisione", ossia la corretta identificazione del/i allergene/i causa dei sintomi del paziente, che nella maggioranza dei sintomi sono dei polisensibilizzati. Ciò è possibile grazie all'enorme progresso diagnostico rappresentato dalla diagnostica allergologica molecolare (CRD), la quale, identificando la/ le molecola/e verso la quale/le quali un soggetto è sensibilizzato, permette di capire se una positività al test cutaneo o al dosaggio delle IgE specifiche, utilizzando estratti, è dovuta ad una sensibilizzazione primaria o ad una cross-reattività legata a sensibilizzazione a panallergeni (es. profiline o polcalcine). La CRD da sola, comunque, seppure importantissima, può non essere sufficiente, in quanto ci indica solo che un soggetto è sensibilizzato e non necessariamente che è allergico, e cioè che presenta anche una clinica legata alla sensibilizzazione. Nell'ambito delle pollinosi la correlazione tra sintomi e sensibilizzazione ad uno o più pollini può essere dimostrata utilizzando i dati emersi dal monitoraggio pollinico. Tradizionalmente la dimostrazione della correlazione tra sensibilizzazione e presenza di pollini veniva valutata facendo registrare un diario dei sintomi al paziente e andando poi a confrontare, a posteriori, gli stessi con la presenza dei pollini interessati, consultando i siti di monitoraggio aerobiologico. Ciò, però, era soggetto a numerose imprecisioni, legate sia alle modalità di raccolta dei dati, sia alla difficoltà di rapportare esattamente i sintomi con la pollinazione giornaliera. Negli ultimi anni sono state disegnate delle *App* dedicate, scaricabili in qualsiasi *smartphone*, che permettono in modo semplice la registrazione quotidiana dei

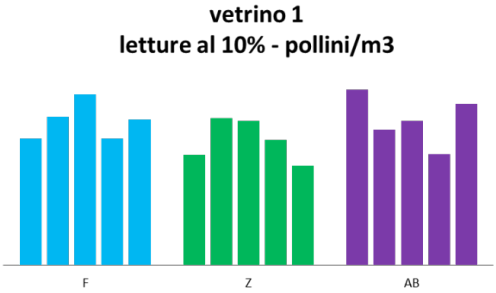
sintomi da parte del paziente, in modalità standardizzate, e la loro trasformazione in scale di gravità (*Rhynocongiuntivitis total symptom score, Asthma score*, etc). Tali parametri, correlati con il monitoraggio pollinico, (vd. figura) possono identificare tra i vari pollini verso cui i soggetto è sensibilizzato quelli a maggiore valenza clinica. Lo scopo finale è quello di poter prescrivere una immunoterapia specifica mirata anche in soggetti polisensibilizzati, che ormai rappresentano la maggioranza dei casi afferenti agli ambulatori allergologici.

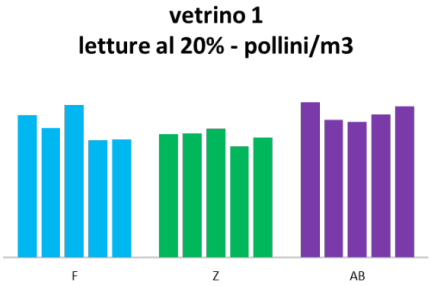
In conclusione, il monitoraggio pollinico è uno strumento importantissimo per l'allergologo in quanto permette una corretta diagnosi delle allergie ai pollini. L'uso di *App* dedicate apre nuovi scenari di utilizzo dei dati aerobiologici. È assolutamente fondamentale, quindi, che quest'ultimi siano resi disponibili per l'ottimale utilizzo delle *App* dedicate.

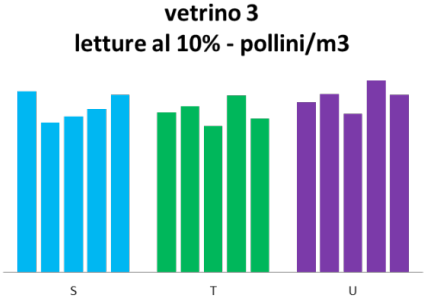
Esempio di *App* dedicata (AllergyMonitor™) per il monitoraggio clinico del soggetto pollinosico. Nel grafico è possibile vedere la perfetta correlazione tra score sintomatologico (linea blu) e conta pollinica (*Graminaceae*) (linea rossa).

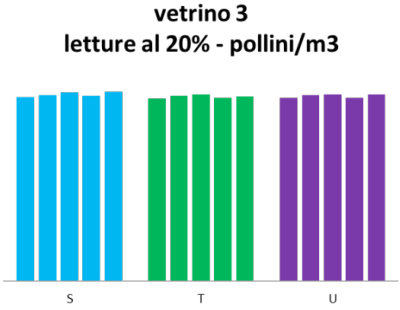
VALIDAZIONE DEL METODO POLLNET: CONFRONTO SU BASE STATISTICA DI DIVERSE PERCENTUALI DI LETTURA

Pierluigi Verardo – Arpa FVG









Nel 2014 sono uscite le "Linee guida per il monitoraggio aerobiologico", il metodo di monitoraggio dei pollini messo a punto dai partecipanti alla rete POLLnet. Esse partono dalla norma UNI 11108:2004 ampliando e attualizzando alcune sue parti, al fine di dare uniformità alla rete interagenziale per produrre su scala nazionale dati uniformi e affidabili. La modifica essenziale alla norma UNI che è stata apportata riguarda la superficie di lettura, che passa da almeno il 20% ad almeno il 15%. Questa diminuzione comporta inevitabilmente una perdita di lettura del campione, fattore che deve essere valutato con un apposito processo di validazione. In questo processo è stata coinvolta la sezione metrologica di ISPRA, con la quale si è concordato un percorso, al quale ha partecipato un gruppo di esperti palinologi delle Agenzie Ambientali.

Sono stati prodotti numerosi dati di lettura da vetrini test, con i quali si cerca ora di valutare

la significatività del dato rilevato al 20% e al 15%. Una ulteriore valutazione è stata condotta anche al 10%, in quanto la nuova norma europea sui campionamenti pollinici prevede questa superficie minima di lettura in Europa.

Da una prima analisi dei dati raccolti si evince che il passaggio dal 20 al 15 ma soprattutto al 10% comporta una maggior variabilità del dato raccolto, soprattutto in presenza di basse concentrazioni di particelle. Inoltre se si confronta il numero di taxa totali del vetrino rispetto a quelli ritrovati, si ha una sensibile perdita man mano che si diminuisce la superficie di lettura, perdita che può toccare il 50% dei taxa in un campione a bassa concentrazione di particelle.

CONFRONTO SU BASE STATISTICA DI DIVERSE PERCENTUALI DI LETTURA POLLINICA

Sabrina Barbizzi – ISPRA Centro Nazionale Laboratori

I dati raccolti da diversi operatori esperti della rete POLLnet hanno permesso di fare alcune considerazioni sulle percentuali di lettura del vetrino-campione.
Sono stati usati 3 vetrini test, e per ciascun vetrino:
4 operatori hanno letto il 100% dell'area (valore di riferimento), 3 operatori hanno letto per 5 volte indipendenti il 10% (dato estrapolato), 3 operatori hanno letto per 5 volte indipendenti il 15% (dato sperimentale), 3 operatori hanno letto per 5 volte indipendenti il 20% (dato estrapolato).

STUDIO DELLA RIPETIBILITÀ E DELLA RIPRODUCIBILITÀ DELLE LETTURE POLLINICHE

Lo studio di ripetibilità e di riproducibilità delle letture polliniche è stato condotto in analogia allo schema di elaborazione statistica riportato nella norma UNI ISO 5725-2:2004.

I dati riportati in tabella confermano il fatto che con l'aumentare della concentrazione pollinica i valori di ripetibilità e riproducibilità diminuiscono, riducendo le variabilità. Analogamente, aumentando la superficie dell'area sottoposta a lettura si osserva una riduzione della variabilità, ad eccezione della riproducibilità del vetrino 1 dove c'è un aumento trascurabile.

La domanda da porsi è se questi valori di ripetibilità e riproducibilità sono "*fit for purpose*", in altre parole questi valori sono ragionevolmente accettabili per gli scopi che si potrebbe prefiggere la comunità scientifica mirati ad una eventuale riduzione della lettura dell'area del vetrino dal 20%.

Ripetibilità	valori in %		
	lettura		
vetrino	10%	15%	20%
1	15.5	9.1	8.2
2	7.8	6.7	3.6
3	7.5	4.4	1.0

Ripetibilità	valori in %		
	lettura		
vetrino	10%	15%	20%
1	16.0	10.7	11.4
2	9.8	8.8	7.3
3	8.0	6.2	1.1

STUDIO DELLO SCOSTAMENTO: ANALISI DELLE LETTURE RIPORTATE IN TERMINI NORMALIZZATI A POLLINI/M3

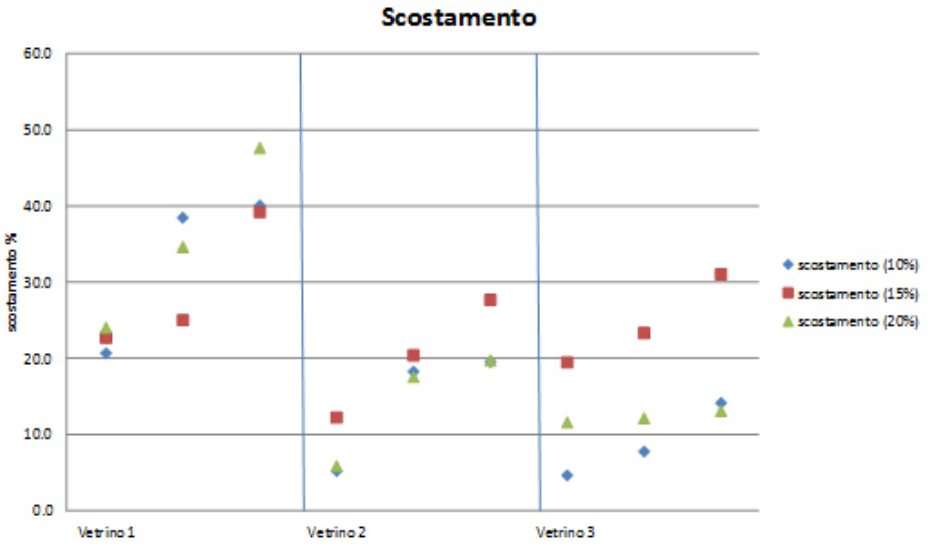
Per ciascun vetrino, per ciascun operatore e per ciascuna percentuale di area di lettura (10%, 15%, 20%) è stato calcolato il valore medio su 5 letture indipendenti.

Come precedentemente riportato, il valore di Riferimento associato a ciascun vetrino è stato stimato come valore medio sulla base di letture effettuate da parte di 4 operatori sul 100% dell'area del vetrino.

Per ciascun operatore a quale è associato un risultato medio è stato valutato lo scostamento percentuale, rispetto al valore di riferimento.

Grafico 1

Nel Grafico 1 è riportato l'andamento complessivo dello scostamento corrispondente



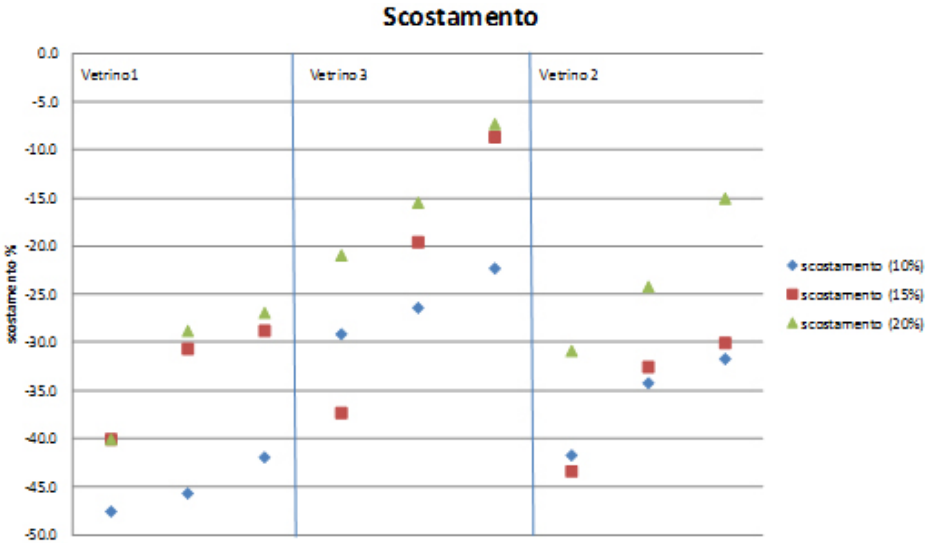
alle diverse percentuali di lettura dell'area del vetrino (10%, 15%, 20%) in funzione della concentrazione crescente dei pollini, a partire dal vetrino 1 aumentando fino al vetrino 3.

Aumentando la concentrazione di pollini depositati sul vetrino, lo scostamento rispetto alla lettura totale del vetrino, pari al 100% dell'area, tende a decrescere (è più "facile" l'individuazione dei pollini grazie all'abbondanza e quindi è più "facile" avvicinarsi al valore di riferimento). Tuttavia, l'andamento dello scostamento dal vetrino 2 al vetrino 3 corrispondente alla lettura dell'area pari al 15% si presenta costante. Essendo le letture al 15% di fatto quelle sperimentali, per poter avere una base statistica tale da poter supporre che effettuare le letture al 15% invece che al 20% possa essere ugualmente rappresentativo si suggerisce di effettuare letture sperimentali (e non estrapolate) anche al 20% dell'area del vetrino e di conseguenza comparale al quelle del 15%. Se gli andamenti sono pressoché costanti, ad esempio come sopra descritto, allora si potrebbe affermare che in termini di scostamento non vi è differenza tra letture al 15% e al 20% dell'area, pertanto si potrebbe scegliere di leggere l'area al 15%, a beneficio di un minore sforzo dell'operatore mantenendo tuttavia l'affidabilità del dato.

STUDIO DELLO SCOSTAMENTO: ANALISI DELLE LETTURE RIPORTATE IN TERMINI DI NUMERO DI TAXA CONTATI

I valori di taxa sono stati elaborati statisticamente in analogia a quanto riportato nel paragrafo precedente contando i singoli taxa ritrovati da ciascun operatore.

Grafico 2



Nel Grafico 2 è riportato l'andamento complessivo (in termini di numero di taxa) dello scostamento corrispondente alle diverse percentuali di lettura dell'area del vetrino (10%, 15%, 20%).

Si osserva che lo scostamento di ciascun operatore è sempre negativo, ossia in generale è presente una sottostima (perdita) rispetto al valore di riferimento. Inoltre non si osserva un particolare andamento in funzione del numero di taxa contati.

Nel caso del vetrino 2 (meno pollini, più biodiversità) in generale migliorano le prestazioni; tuttavia lo scostamento rispetto al riferimento è pressoché simile tra il 10% e il 15%, mentre per il 20% lo scostamento migliora marcatamente.

Nel caso del vetrino 3 (numero medio di taxa e ben rappresentato) in generale le prestazioni migliorano in modo marcato, tuttavia si osserva che lo scostamento associato al 10% è ancora elevato.

METODI STATISTICI PER LE LETTURE POLLINICHE

Alessandro Felluga - Arpa FVG

La determinazione delle particelle aerodisperse è solitamente eseguita mediante campionamento di volumi noti di aria e cattura delle particelle su un vetrino. L'esplorazione del vetrino al microscopio comporta un notevole sforzo pertanto la lettura del 100% del vetrino è raramente applicabile nella normale routine. Perciò normalmente viene esplorata una frazione del vetrino e dal conteggio delle particelle, si stima il loro numero totale. La scelta della frazione da esaminare è attualmente oggetto di discussione e di differenti punti di vista. La teoria della probabilità può venire incontro all'operatore nella scelta della frazione. Da una lunga ricerca in letteratura è stato trovato un metodo bayesiano applicabile, dal quale si ricava la distribuzione di probabilità teorica del numero di particelle totale (n) di una specie stimato in funzione della frazione di area (a) e del numero di particelle (m) della stessa specie in essa contenute.

$$P(n) = \binom{n}{m} a^{m+1} (1-a)^{n-m}$$

Il vantaggio di conoscere la funzione di distribuzione teorica sta nella possibilità di ricavare tutti parametri statistici teorici desiderati. Tarando la formula su alcune condivisibili condizioni di contorno, si ottengono deduzioni interessanti che permettono di stabilire dei criteri minimi teorici nel metodo stesso di quantificazione delle particelle. Ad esempio, supponendo sia accettabile per l'incertezza (K=2) sulla stima di n un valore del 33%, si può dimostrare che quando il conteggio supera le 40 unità allora la precisione è raggiunta già con una frazione di area esplorata del 2.5%, perciò raggiunte le 40 particelle di una specie sarà sufficiente concludere l'esplorazione per quella specie alla fine della strisciata. Un altro esempio di deduzione riguarda il caso in cui non si trovano particelle: per stabilire ragionevolmente l'assenza (diciamo n<5 con probabilità maggiore del 50%) l'area minima da esplorare è il 14%. Si ricorda che tali risultati di valenza teorica riguardano solamente la stima sul vetrino ipotizzando una distribuzione casuale di particelle sullo stesso. Eventuali fattori umani o strumentali accertati possono essere considerati come contributi aggiuntivi per i quali potrebbe essere conveniente utilizzare valori di riferimento della frazione d'area minima e del conteggio minimo leggermente più cautelativi.

LE PREVISIONI DELLE ABBONDANZE DI CONCENTRAZIONE POLLINICA IN ATMOSFERA: RISULTATI DEL PRIMO ANNO DI PUBBLICAZIONE DELLE PREVISIONI

Francesca Tassan-Mazzocco - ARPA FVG

I pollini aerodispersi sono contaminanti universali e le informazioni sulle relative concentrazioni sono importanti per

- seguire l'andamento stagionale delle fioriture, anche in relazione ai cambiamenti climatici a breve e medio termine;
- valutare la diffusione di piante alloctone;
- monitorare l'azione di parassiti nocivi per alcuni tipi di piante e la relativa risposta degli ecosistemi
- -consentire ai medici di stabilire strategie terapeutiche per i pazienti allergici ai pollini.

In letteratura diversi studi sono indirizzati alla previsione della presenza dei pollini in atmosfera. I modelli previsionali descritti, tuttavia, utilizzano complessi algoritmi basati su parametri meteorologici e per produrre risultati affidabili richiedono lunghe serie storiche di dati meteo e di monitoraggio di pollini abbinati. Il team di ARPA FVG ha sviluppato nel 2015 tre differenti metodi previsionali; due di essi si sono dimostrati adatti a prevedere l'inizio, l'abbondanza e la durata della presenza in atmosfera dei pollini di Graminacee ed Urticacee, due Famiglie di piante allergeniche monitorate nella regione Friuli Venezia Giulia.

Nell'anno 2016 è stato attivato il servizio di pubblicazione delle previsioni sul sito di ARPA FVG, estendendo l'applicazione di uno dei modelli messi a punto a tutti i taxa monitorati nella routine.

I risultati di questo primo anno di attività previsionale vengono presentati attraverso l'analisi dei dati relativi alle Famiglie delle Gramineae e delle Urticaceae.

Il modello previsionale utilizzato (SARMA) fornisce dati di abbondanza settimanale; ciascun valore previsionale è corredato nel bollettino di un indice percentuale di attendibilità della previsione.

Confrontando l'indice di attendibilità con le percentuali di coincidenza delle abbondanze settimanali previste con quelle rilevate, è stata valutata l'efficacia delle previsioni per l'anno 2016.

La successiva tabella dimostra che l'attendibilità rilevata non si discosta significativamente da quella attesa, ad eccezione delle Gramineae presso la postazione di Tolmezzo. Analizzando il caso in dettaglio, si evidenzia che la situazione è imputabile ad un prolungamento del periodo di rilevamento dei pollini, sebbene a bassi livelli, verificatosi per circa due mesi oltre il periodo di fioritura previsto dal modello.

Località	Codice stazione	Gramineae			Urticaceae		
		Attendibilità attesa (%)	Attendibilità rilevata (%)	Differenze significative/ non significative (Test Chi-quadro)	Attendibilità attesa (%)	Attendibilità rilevata (%)	Differenze significative/ non significative (Test Chi-quadro)
Pordenone	PN1	77	81	ns	76	79	ns
Trieste	TS1	77	74	ns	63	72	ns
Lignano Sabbiadoro	UD1	76	75	ns	79	81	ns
Tolmezzo	UD3	83	65	s	72	61	ns

Valutazione dell'efficacia delle previsioni dei pollini di Gramineae e Urticaceae presso le quattro postazioni del Friuli Venezia Giulia. Attendibilità attesa: indice attribuito alle previsioni settimanali pubblicate nel bollettino di ARPA FVG; Attendibilità rilevata: percentuale di corrispondenza tra le classi di abbondanza rilevate nel corso dell'anno 2016 e quelle previste; ns/s: differenza non significativa/ significativa tra valore atteso e valore rilevato secondo il test Chi-quadro

Il modello previsionale adottato, complessivamente, risulta attendibile, alla luce delle abbondanze di concentrazione dei pollini di Gramineae e Urticaceae rilevati presso le stazioni della rete di monitoraggio pollinico del Friuli Venezia Giulia.

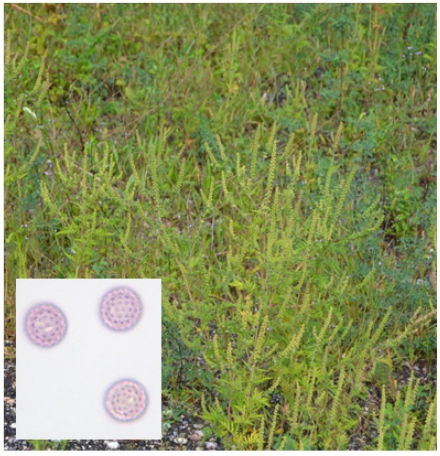
COME CAMBIANO I POLLINI IN ARIA: È COLPA DEL CLIMA? IL CASO STUDIO DI SAN MICHELE ALL'ADIGE (TN)

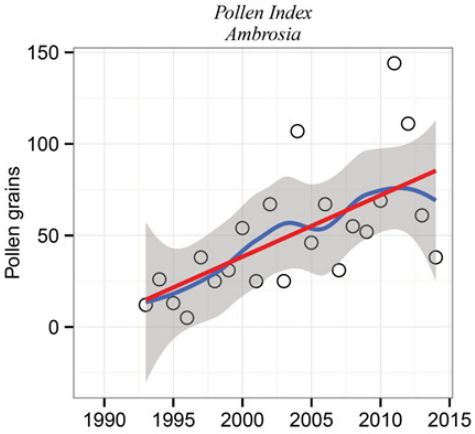
Elena Gottardini, Fabiana Cristofolini - Fondazione Edmund Mach
José Antonio Oteros Moreno - Università degli Studi di Monaco (D)

In un contesto di cambiamenti climatici numerosi studi evidenziano effetti sugli ecosistemi descrivendo un trend di anticipo generale negli eventi fenologici, sia per le specie vegetali sia per quelle animali (Parmesan and Yohe, 2003), con anomalie soprattutto nella fenofase primaverile (Walther, 2002). Il polline aerodisperso, considerato un indicatore attendibile della fioritura di piante anemofile, può essere utilizzato come proxy dei cambiamenti climatici.

Il presente lavoro mostra i risultati di analisi svolte su dati di concentrazione pollinica giornalieri raccolti presso il centro di monitoraggio aerobiologico della Fondazione Edmund Mach (FEM) a San Michele all'Adige (Trento). Il centro si trova in una posizione privilegiata per descrivere il complesso mosaico di ecosistemi dell'arco alpino: aree coltivate a vigneti e meleti si alternano a zone ruderali, contesti urbani con vegetazione antropica di parchi e giardini, boschi misti decidui (pino, carpino nero, frassino, quercia) e boschi di conifere. Il monitoraggio pollinico viene svolto a San Michele a/A dal 1989, adottando procedure standard (UNI CEN/TS 16868:2015), impiegando personale ben addestrato ed utilizzando materiale iconografico ed una palinoteca di riferimento per le fasi di identificazione dei pollini, allo scopo di assicurare la qualità dei dati raccolti.

In questo studio esplorativo sono stati considerati i taxa prevalenti che compongono lo spettro pollinico e che sono stati monitorati presso il centro aerobiologico di San Michele





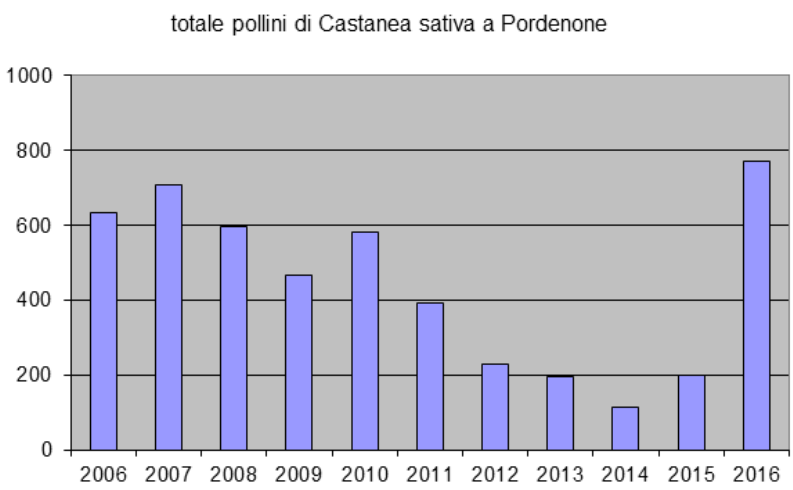
a/A per un intervallo temporale di 26 anni (1989-2014). Utilizzando diverse variabili che descrivono l'andamento stagionale dei pollini (data di inizio, picco e fine pollinazione; indice pollinico), i dati sono stati analizzati allo scopo di verificare l'esistenza di trend temporali relativi sia alla tempistica di comparsa dei pollini in atmosfera sia ai quantitativi. I dati pollinici sono stati inoltre messi in relazione con dati meteorologici ed indici climatici da essi derivati, al fine di comprendere se eventuali cambiamenti possano essere connessi a cambiamenti climatici.

I risultati mostrano in sintesi come vi sia una tendenza all'anticipo della data di inizio pollinazione per circa la metà dei taxa considerati, ma con un trend significativo solo per 5 di essi ($p<0.05$). I quantitativi di polline presentano una tendenza all'aumento per la quasi totalità dei taxa considerati, significativo per la metà di essi. Le correlazioni con i parametri climatici evidenziano come la temperatura sia il fattore maggiormente influente per la data di inizio pollinazione, in particolare per le piante arboree. Correlazioni tra parametri climatici e quantitativi pollinici non risultano invece essere altrettanto marcate.

Capire come cambiano i pollini in aria, sia nei quantitativi sia nella tempistica e durata della stagione pollinica, e se ciò sia in relazione con i cambiamenti climatici in atto, è di particolare interesse in collegamento alle patologie allergiche respiratorie. E' facilmente intuibile infatti come stagioni polliniche prolungate, anticipi nella fioritura nonché quantitativi maggiori di polline in aria possano avere ripercussioni importanti su chi soffre di pollinosi.

CASTAGNO: POLLINI E BIODIVERSITÀ

Pierluigi Verardo – Arpa FVG



Dall'anno 2011 nella stazione di rilevamento pollinico di Pordenone si è registrata una corposa diminuzione dei pollini di Castanea sativa, contati come somma tutale annua. Nel 2014 i pollini calcolati risultano 1/6 di quelli del 2010.
Verificato che non ci sono anomalie climatiche, come piogge o siccità prolungate, che possano spiegare il fenomeno, si è interpellato l'ERSA, ente regionale competente in materia di problematiche forestali. La causa è stata individuata nella diffusione di una vespa cinipide, insetto parassita degli apici fiorali proveniente dalla Cina.
Il confronto con due realtà italiane molto diverse, Pistoia e Potenza, è stato utile per capire la portata del fenomeno, le conseguenze delle azioni di contenimento, e l'utilità del monitoraggio del fenomeno tramite la conta dei pollini.
Infine i dati del 2016 mostrano un improvviso e forte aumento dei pollini di castagno. La spiegazione viene in parte dalla lotta biologica, ma forse anche dall'annata eccezionale, come dimostrano gli aumenti di produzione di polline delle altre fagacee.

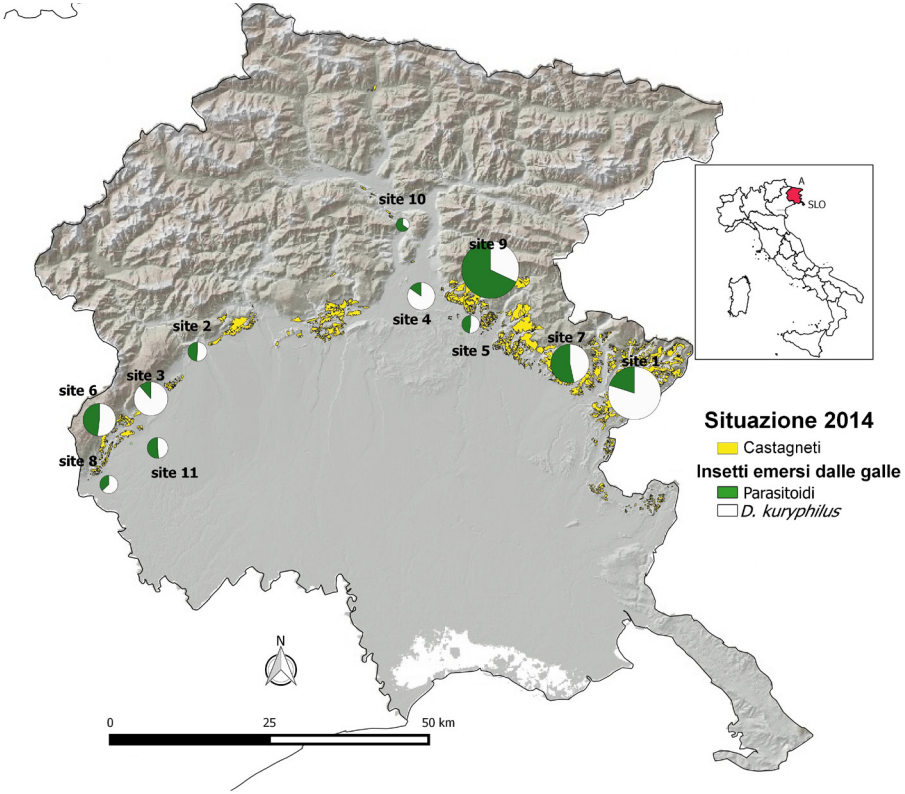
CASTAGNO: POLLINI E BIODIVERSITÀ

Iris Bernardinelli - ERSA FVG Agenzia Regionale per lo Sviluppo Rurale

Il cinipide del castagno *Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu* (*Hymenoptera: Cynipidae*), insetto di origini asiatiche, si è diffuso in boschi e castagneti di molte parti del mondo arrivando in Italia (Piemonte) nel 2002 e in Friuli Venezia Giulia nel 2008. Nei primi anni immediatamente dopo il rinvenimento in provincia di Udine i danni sono stati abbastanza limitati per poi aumentare molto rapidamente ed estendersi a tutta la Regione tanto che dal 2011 l'insetto è stato dichiarato insediato su tutto il territorio regionale (186/SFR del 21 settembre 2011).

Figura 1 - Contenuta presenza di galle di cinipide del Castagno

Figura 2 - Rapporto tra parassitoidi e cinipidi emersi dalle galle in diverse località del Friuli durante uno specifico studio svolto nel 2014



I danni causati dal cinipide del castagno consistono nell'induzione alla produzione, da parte della pianta, di galle in cui le larve dell'insetto di sviluppano. Queste galle si formano durante lo sviluppo delle gemme, e oltre ad una riduzione dell'apparato fogliare si ha, nel caso degli attacchi più forti anche una compromissione dei fiori.

Dopo alcuni anni di danni molto importanti, sono stati avviati studi sugli antagonisti naturali e a partire dal 2014 si è visto un incremento dei parassitoidi autoctoni (con diverse specie coinvolte nel contenimento del cinipide) e nel 2015 si è riscontrata anche la diffusa presenza di *Torimus synensis.*

La presenza di un elevato numero di parassitoidi ha ridotto significativamente la presenza di galle su castagno con una conseguente ripresa della produzione di fiori e frutti.

Presumibilmente a causa di condizioni di stress quali: l'andamento meteorologico e l'elevata presenza del cinipide, e di fattori intrinseci ai popolamenti presenti in Friuli che sono spesso formati da piante di elevate dimensioni e in contesto di bosco non curato, lo stato fitosanitario del castagno non è ancora da considerarsi ottimale in quanto alcuni patogeni fungini, primo tra tutti il cancro corticale (*Cryphonectria parasitica*) stanno causando danni non trascurabili.

PROGETTO DNA BARCODE: "DEVELOPMENT OF NGS META-BARCODING FOR THE CHARACTERIZATION OF AEROBIOLOGICAL SAMPLES"

Lucia Muggia, Alberto Pallavicini, Elisa Banchi, Claudio G. Ametrano, David Stankovic, Silvia Ongaro, Enrico Tordoni, Mauro Tretiach - Università degli Studi di Trieste, Dipartimento di Scienze della Vita

La tecnica del DNA *barcoding* è una metodologia molecolare che permette di identificare in maniera veloce gli organismi e caratterizzarli in base ad una specifica regione del loro DNA. Queste regioni, chiamate barcode, devono essere, a livello nucleotidico, sufficientemente diverse tra i taxa per garantire un'attribuzione univoca; inoltre la variabilità interspecifica di un buon barcode deve essere maggiore di quella intraspecifica. In base al gruppo di organismi di interesse, possono essere analizzate regioni del DNA nucleare, mitocondriale o plastidiale.

Negli ultimi 15 anni il DNA *barcoding* è divenuto una tecnologia di routine per l'identificazione di campioni biologici. Di recente, si è iniziato ad applicare questa tecnica non solo a singoli campioni biologici, ma, grazie all'utilizzo di tecniche di sequenziamento di nuova generazione (NGS), anche a matrici ambientali che contengono DNA proveniente da molti organismi diversi. Questa tecnica, il DNA *meta-barcoding*, permette quindi l'identificazione di tutte i taxa presenti in un campione, potenziando enormemente la possibilità di conoscere ed interpretare dal punto di vista tassonomico, funzionale ed ecologico le comunità microbiche. .

Il DNA *meta-barcoding* è già stato impiegato in palinologia, soprattutto nelle analisi di qualità del cibo e contaminazione da pollini, provenienza di allergeni ed in ambito forense. Questa tecnica permette di ottenere l'identificazione di pollini e spore fungine aereo disperse con un alto livello di sensibilità e qualità, complementando il tradizionale metodo di monitoraggio su base morfologica.

Il progetto che presentiamo, finanziato dall´ Università di Trieste e fortemente supportato dalla stretta collaborazione con cinque unità ARPA (Friuli Venezia Giulia, Marche, Umbria, Valle d´Aosta e Veneto), si propone appunto di sviluppare l´approccio di DNA *meta-barcoding* per integrare il monitoraggio di pollini e spore fungine in Italia.

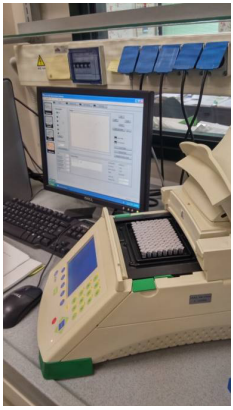
Lo scopo principale del progetto è quello di sviluppare una metodologia affidabile e rapida per il rilevamento e l'identificazione di polline e spore fungine, molte delle quali possono provocare seri danni. Tra questi, patologie e allergie, perdita di raccolti dovuta a infezioni fungine, diminuzione della biodiversità dovuta al diffondersi di specie aliene e patogeni. Visto che allergeni, patogeni e specie aliene si diffondono velocemente e costi elevati vengono sostenuti per contrastarne gli effetti, è indubbia l'utilità di metodologie di indagine sempre più sensibili e accurate allo scopo di rilevare precocemente la loro presenza.

Il progetto prevede le seguenti fasi di lavoro: 1) sviluppo e messa a punto di estrazione,

amplificazione e sequenziamento di DNA di pollini e spore fungine da campioni aerobiologici; 2) campionamento durante un´intera stagione vegetativa (marzo - novembre 2017) in cinque località italiane; 3) standardizzazione di estrazione, amplificazione e sequenziamento di DNA; 4) sviluppo e standardizzazione di una pipeline bioinformatica di analisi di dati molecolari; 5) preparazione di un database di sequenze di pollini e spore da poter utilizzare come riferimento nei monitoraggi a scala locale e nazionale.

TECNICHE MOLECOLARI APPLICATE AL MONITORAGGIO AEROBIOLOGICO

Francesca Borney - Arpa Valle D'Aosta



L'esigenza di approfondire i dati del monitoraggio aerobiologico porta l'Arpa Valle d'Aosta ad esplorare tecniche alternative alla microscopia ottica.

I metodi tradizionali di identificazione microscopica dei funghi e delle spore fungine aerodisperse, basati su tecniche colturali, sottostimano inevitabilmente la biodiversità presente, in quanto solo il 17% dei funghi conosciuti può crescere su un terreno colturale, e di questi molti producono un micelio sterile (Tonge D.P. et al, 2014)

L'analisi microscopica dei vetrini di monitoraggio rileva invece, in maniera più fedele, la biodiversità presente nel campione. Tuttavia, molte spore non possono essere distinte le une dalle altre in base alla loro morfologia; in ogni caso è possibile giungere solo fino alla indicazione del genere.

I metodi molecolari, basati sulla tecnica della PCR Real Time, hanno il vantaggio di rilevare la presenza dei microrganismi nel campione, indipendentemente dalla loro coltivabilità. Riducono inoltre drasticamente i tempi analitici e sono caratterizzati, quando ben costruiti, da elevata sensibilità e specificità.

Il lavoro, svolto presso il laboratorio di microbiologia, ha il duplice scopo di giungere alla determinazione quali-quantitativa delle spore fungine aerodisperse(generi *Alternaria e Cladosporium*), tramite l'amplificazione del DNA target (Real-time PCR) e di raccogliere la biodiversità presente sui vetrini di biomonitoraggio.

La PCR è stata eseguita su campioni di pollini di nocciolo, raccolti direttamente dalle infiorescenze, e su campioni di *Alternaria* spp e *Cladosporium* spp, coltivati su piastra, con lo scopo di mettere a punto il protocollo di estrazione e di amplificazione del DNA. Successivamente ne è stata verificata l'applicabilità sui vetrini del monitoraggio aerobiologico.

Il metodo utilizzato prevede l'estrazione del DNA dai pollini o dalle spore con la tecnica del CTAB (S. B. Lee and J. W. Taylor , 1990 modificato), preceduta dalla rottura della parete delle spore mediante un trattamento meccanico (Pashley et al, 2012).

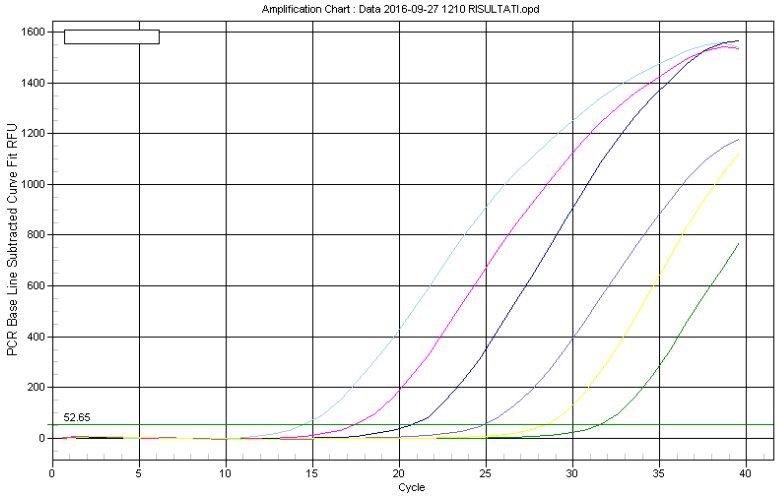
L'amplificazione del DNA target è stata eseguita in PCR Real Time, utilizzando la chimica dei coloranti intercalanti (SYBR Green Supermix e primers BIO-RAD).

I risultati ottenuti fino ad ora indicano che è possibile, con il metodo messo a punto nel laboratorio dell'ARPA Valle d'Aosta, rilevare i pollini raccolti da vetrino di monitoraggio

simulato (i pollini sono stati a contatto con la fucsina per poche ore) fino ad una concentrazione di 104 pollini/vetrino (corrispondenti a circa 103 pollini/ reazione).

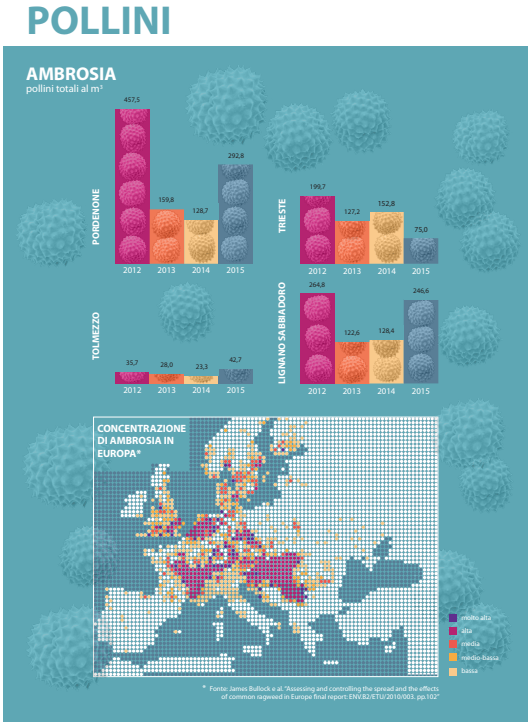
Il metodo, comprendente l'estrazione del DNA e la sua amplificazione, applicato alle spore fungine, ha dimostrato buona efficienza, specificità, riproducibilità e sensibilità, in particolare per la rilevazione di *Cladosporium* spp (102 spore/reazione). Per *Alternaria* spp sono state evidenziate alcune criticità, probabilmente dovute alla fase di estrazione e purificazione dell'acido nucleico.

La sua applicabilità sui vetrini del monitoraggio aerobiologico, dopo colorazione con fucsina, non è stata dimostrata.



COMUNICARE I POLLINI ATTRAVERSO I SOCIAL, IL WEB E LE INFOGRAFICHE

Sara Petrillo – Arpa FVG



Nell'epoca dei social media, della post verità, della disinformazione e delle parole ostili è sempre più difficile comunicare, entrare efficacemente in relazione con l'interlocutore affinché il messaggio emesso possa arrivare senza interferenze e distorsioni.

Questa è la sfida per chi sceglie di fare il mestiere del comunicatore oggi. Quando poi, a questo contesto, si aggiunge la complessità delle tematiche scientifiche, come nel caso dei pollini, si devono trovare gli strumenti e le forme più adeguate per non spaventare il lettore di fronte al tema scientifico, per incuriosirlo e coinvolgerlo senza tuttavia banalizzare i contenuti.

Come fare tutto questo? Esistono dei modelli di riferimento per comunicare al meglio la scienza? Intorno alla metà degli anni '80, in ambiente anglosassone, nasce il così detto modello deficitario, chiamato così perché diretto a educare il pubblico che, a causa un deficit di comprensione, assume atteggiamenti sempre più ostili nei confronti della ricerca, del progresso e delle nuove scoperte tecnico-scientifiche. Si tratta di un modello lineare (bottom-up) che considera gli esperti i depositari del sapere e il pubblico, ignorante e passivo, da educare. Questo modello, però, si dimostra inefficace (addirittura aumentano i conflitti sui temi tecnico-scientifici) ed entra in crisi già agli inizi del 2000. La comunicazione pubblica della scienza di tipo tradizionale viene sostituita da una nuova modalità di dialogo tra scienziati e pubblico, con l'obiettivo di rendere i non esperti maggiormente consapevoli e partecipi dei numerosi problemi sollevati dall'impatto delle nuove scoperte scientifiche e dalla diffusione di nuovi strumenti tecnologici. Il pubblico non è più considerato "passivo e ignorante" e la distanza che si crea tra scienza e società non viene più attribuita solamente ad un deficit cognitivo, ma anche ad altri fattori come l'ideologia dell'individuo, la sua identità religiosa e la sua eventuale appartenenza ad un gruppo politico. Da un modello lineare si passa ad un vero

e proprio ecosistema della comunicazione, anche grazie alla comparsa della rete e soprattutto dei social media.

Non esiste, tuttavia, un modello unico e universale per comunicare la scienza: in base alla situazione, alle risorse, al target deve essere individuato il modello più adatto. Un modello che tenga conto anche del ruolo che si vuole assumere come esperti: ovvero se quello del divulgatore o quello del comunicatore. Il divulgatore è colui che porta la sua voce e il suo messaggio al pubblico; gli interessa raccontare; la divulgazione è il suo fine. Comunicatore è il professionista che porta il messaggio di qualcun altro, ad esempio un committente istituzionale; è uno stratega, con un piano, una competenza specifica e a cui interessa l'effetto finale della comunicazione sulle persone.

Pertanto comunicare significa delineare una strategia che individui il contesto entro cui ci si muove, gli obiettivi della comunicazione, i pubblici di riferimento (target) e i messaggi che si vuole far arrivare loro. La strategia deve essere, quindi, trasformata in operatività attraverso la scelta degli strumenti (web, social media, prodotti editoriali, prodotti multimediali, eventi, ecc.) e delle attività, che dovranno essere implementate attraverso un gruppo di lavoro dedicato, un determinato budget, una specifica tempistica e, non da ultimo, un'attenta valutazione che ne verifichi l'efficacia.

Arpa Friuli Venezia Giulia si è dotata nel tempo di una strategia e di un team interdisciplinare che ha reso possibile l'adozione di vari strumenti e linee di attività rivolte alla comunicazione, che rappresentano, però, solo l'ultimo anello di una vera e propria filiera del dato: a partire dal monitoraggio dei pollini dispersi nell'aria (che prevede il recupero dei campioni sul territorio, la conta biologica al microscopio, la validazione del dato e il suo inserimento in appositi DB, la realizzazione delle previsioni attraverso appositi modelli) si arriva alla sua rappresentazione che si concretizza nelle pagine dedicate del sito web istituzionale di Arpa FVG, negli applicativi web pensati per la visualizzazione e fruizione del dato stesso (bollettino web, mappe territoriali), nei contenuti veicolati attraverso i social media dell'Agenzia, nei report ambientali, nelle infografiche e negli eventi che coinvolgono la popolazione. Non da ultimo, a partire da maggio dello scorso anno la tematica dei pollini viene comunicata anche attraverso un canale nazionale: AmbienteInforma, notiziario settimanale del Sistema nazionale per la protezione dell'ambiente (SNPA), sistema a rete composto dalle Agenzie per l'ambiente di tutte le regioni/provincie autonome e da ISPRA e istituito ufficialmente il 14 gennaio 2017. Il notiziario vuole essere uno strumento di informazione agile e puntuale sulle principali notizie e attività che riguardano l'ambiente. È anche il primo strumento di comunicazione integrata del sistema delle Agenzie, pensato per far arrivare il complesso bagaglio di informazioni ambientali, in modo semplice e accessibile, direttamente sulla mail dei cittadini e delle persone interessate.

Molto è stato fatto in questi ultimi anni per rendere sempre più trasparente, accessibile e vicino alle persone tutta l'attività dell'Agenzia, non solo quella relativa al monitoraggio dei pollini. Molto resta tuttavia da fare proprio per rispondere alle sfide "comunicative" che il nostro tempo ci impone e per migliorare la comprensione degli effetti dei molteplici fattori ambientali che incidono sulle nostre vite.