

GIORNATA DI STUDIO SULLA QUALITA' DEL DATO POLLINICO ATTI



PADOVA - ORTO BOTANICO

15 FEBBRAIO 2023

Progetto e Realizzazione

ARPA Veneto
Dipartimento Regionale Qualità dell'Ambiente
Direttore Rodolfo Bassan
U.O Biologia Ambientale e Biodiversità
Dirigente Silvano De Mas
Ufficio Pollini
Damaris Selle

ARPA Friuli Venezia Giulia
SOC Osservatorio Meteorologico Regionale (OSMER) e
Gestione Rischi Naturali
Direttore Fulvio Stel
Sede di Pordenone
Pierluigi Verardo

È consentita la riproduzione di testi, tabelle, grafici ed in genere del contenuto del presente rapporto esclusivamente con la citazione della fonte.

Foto: L'Orto Botanico di Padova visto con il drone- Foto concessa dal Servizio Comunicazione dell'Orto Botanico






GIORNATA DI STUDIO SULLA QUALITÀ DEL DATO POLLINICO

**Padova
Orto Botanico
15 febbraio 2023**

Ore 9.00|Saluti istituzionali
Direttore Generale Arpa Veneto e Arpa FVG

Ore 9.15|Introduzione al corso
Arpav, Rodolfo Bassan e Silvano De Mas

Ore 9.30|L'importanza del monitoraggio aerobiologico in Italia: il ruolo della rete POLLnet
Ispra, Alessandro Di Menno Di Bucchianico

Ore 10.00|Illustrazione risultati ring test
Francesca Tomain (Arpav), Stefano Marchesi (Arpa ER), Silvia Bartolacci (Arpam), Cecilia Scarinzi (Arpa Piemonte)

Ore 11.00|Pausa

Ore 11.10|Pollini e malattie trasmesse da infezioni da zecche
Fondazione Edmund Mach, Antonella Cristofori

Ore 11.30|Uso del microscopio ottico: funzionalità, accessori e manutenzione
Arpav, Renato Bonello e Stefania Lazzarin

Ore 12.30|pausa

Ore 13.30|Problematiche nel riconoscimento dei pollini nel test di interconfronto
Arpa FVG, Pierluigi Verardo

Ore 13.40|Correlazione tra spore fungine e due marker chimici nel PM di una stazione di campionamento in FVG
Arpa FVG, Andrea Mistaro e Francesca Tassan-Mazzocco

Ore 14.00|Visita guidata all'Orto Botanico

Ore 16.00|Riunione referenti Rete POLLnet

Ore 18.00|Chiusura lavori

Moderatore: Arpav, Damaris Selie

Con il patrocinio di: 

Per informazioni ed iscrizioni:
Damaris Selie damaris.selie@arpa.veneto.it tel. 0437-935543
Pierluigi Verardo pierluigi.verardo@arpa.fvg.it tel. 0432-1018224



Indice dei contenuti

Introduzione	pag. 3
L'importanza del monitoraggio aerobiologico in Italia: il ruolo della rete POLLnet	pag. 4
Prova Interlaboratorio 2022 – Analisi Statistica Del riconoscimento dei taxa	pag. 6
La concentrazione di pollini in atmosfera per la previsione del rischio di encefalite da zecca	pag. 7
Uso del microscopio ottico: funzionalità, accessori e manutenzione	pag. 9
Problematiche nel riconoscimento dei pollini nel test di interconfronto	pag. 12
Correlazione tra spore fungine e due marker chimici nel PM di una stazione di campionamento in FVG	pag. 13

Introduzione

Il tutto è cominciato da qui



PROVA INTERLABORATORIO ANNO 2022 su POLLINI e SPORE FUNGINE AERODISPERSI

1 febbraio – 31 maggio 2022
Mestre (VE), via Lissa 6
Laboratorio ARPAV

L'Ufficio Pollini di ARPA Friuli Venezia Giulia e di ARPA Veneto, in collaborazione con il Dipartimento Regionale Laboratori, sede di Venezia-Mestre, hanno predisposto una prova di interconfronto tra gli operatori palinologi afferenti alla rete POLLnet.

Lo scopo di questo lavoro è di:

- accertare la preparazione dei singoli operatori
- garantire l'uniformità e la qualità dei dati che vengono pubblicati settimanalmente
- promuovere la formazione degli operatori

Periodo: 1 febbraio – 31 maggio 2022, date suscettibili di variazioni a causa della situazione sanitaria nazionale.

Luogo: la prova si svolge su un unico microscopio sito presso la sede del Laboratorio ARPAV di Mestre (VE) in via Lissa 6. La sede è facilmente raggiungibile a piedi dalla stazione ferroviaria di Venezia Mestre.

Partecipanti: operatori palinologi afferenti alla rete POLLnet.

Iscrizione: contattare la dottoressa Francesca Tomain scrivendo a francesca.tomain@arpa.veneto.it per fissare un appuntamento, possibilmente con congruo anticipo. L'iscrizione è gratuita.

Materiale: verrà proposta la lettura di un vetrino con taxa invernali al microscopio NIKON ECLIP messo a disposizione da ARPAV.

Letture del vetrino: ciascun partecipante si presenterà nella sede ARAV di Mestre, come concordato con Francesca Tomain al momento dell'iscrizione. Un responsabile del microscopio fornirà microscopio, vetrino e un foglio dove segnare i risultati, che dovrà essere riconsegnato subito dopo la prova. Le modalità di lettura saranno specificate nel foglio, in particolare: numero e posizione delle strisce di lettura, taxa da riconoscere. Non verrà fornito il contaparticelle automatico, per cui il partecipante, se lo ritiene utile, lo deve portare con sé. È permesse la consultazione di manuali di riconoscimento.

Taxa da riconoscere: la lista presente nel foglio di conta contiene i seguenti taxa: ACERACEAE, Alnus, Betula, AMARANTHACEAE, Ambrosia, Artemisia, Altre COMPOSITAE, Carpinus, Corylus, Ostrya, CUPRESSACEAE/TAXACEAE, CYPERACEAE, Castanea, Fagus, Quercus, altre OLEACEAE, Fraxinus, Olea, PINACEAE, PLANTAGINACEAE, PLATANACEAE, POACEAE (GRAMINACEAE), POLYGONACEAE, Populus, Salix, ULMACEAE, URTICACEAE, ALTRI POLLINI.

Presentazione risultati: dopo l'elaborazione dei dati, i risultati saranno presentati in forma anonima ai partecipanti durante un incontro tecnico previsto per la fine del 2022.

Ogni partecipante riceverà inoltre comunicazione personale riservata sul codice assegnato.

Organizzazione: Pierluigi Verardo (ARPA FVG), Damaris Selle (ARPAV), Francesca Tomain (ARPA FVG), Stefania Lazzarin (ARPAV).

Team elaborazione dati: Francesca Tomain (ARPAV), Stefano Marchesi (ARPAE), Cecilia Scarfini (ARPA Piemonte), Silvia Bartolacci (ARPAM).

Norme di sicurezza anti Covid-19:

- indossare la mascherina (chirurgica o FFP2);
- all'ingresso esibire il Green pass e sottoporsi al controllo della temperatura;
- mantenere il distanziamento di almeno un metro fra le persone ed evitare assembramenti;
- sanificare frequente delle mani;
- sanificare prima e dopo la prova il piano di lavoro;
- favorire l'aeraggiamento del locale;
- seguire eventuali altre indicazioni fornite dal Personale responsabile del Dipartimento.

Informazioni

Pierluigi Verardo, Pordenone, pierluigi.verardo@arpa.fvg.it
Damaris Selle, Belluno, damaris.selle@arpa.veneto.it
Francesca Tomain, Mestre, francesca.tomain@arpa.veneto.it

Da alcuni anni, il sempre maggiore interesse verso l'Aerobiologia, ha visto il concretizzarsi di una rete nazionale di monitoraggio di pollini e spore fungine, la Rete POLLnet, come rete delle Agenzie Ambientali. Da qui la necessità di confronto e continuo miglioramento della qualità del dato pubblicato, ed è proprio in questa prospettiva che è nato il circuito di interconfronto nazionale, organizzato in collaborazione tra Ufficio Pollini di ARPA Veneto, l'Ufficio Pollini di ARPA Friuli Venezia Giulia, il supporto del Servizio di Biologia del Dipartimento Regionale Laboratori di ARPAV e il patrocinio di SNPA. Il circuito interlaboratorio si è concluso con la giornata di studio svoltasi nella prestigiosa sede dell'Orto botanico di Padova, il più antico orto botanico in Europa, dove sono stati esposti i risultati e illustrati i dati, ma allo stesso tempo è stato anche un importante momento di aggiornamento e soprattutto ritrovo in presenza dopo il periodo della pandemia da Covid-19.

Grazie per la sentita partecipazione, con la speranza che queste occasioni di studio e scambio culturale si possano ripetere frequentemente.

Damaris Selle

Pierluigi Verardo



Introduzione dei lavori

L'importanza del monitoraggio aerobiologico in Italia: il ruolo della rete pollnet

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Alessandro Di Menno di Bucchianico

✉ alessandro.dimmenno@isprambiente.it

Introduzione

Le reti di monitoraggio della qualità dell'aria sono lo strumento fondamentale per la valutazione e lo studio dell'inquinamento atmosferico. Esse sono costituite da un insieme di punti di misura fissi, posizionati sulla base di criteri di massima rappresentatività spaziale che forniscono un flusso costante di dati sull'inquinamento atmosferico durante tutto l'anno solare.

La rappresentatività spaziale deve essere valutata attraverso misure preliminari di breve periodo e le stazioni di monitoraggio devono descrivere al meglio il contributo delle principali sorgenti di emissione.

Le concentrazioni così ottenute possono essere valutate sulla base di standard condivisi indicati dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) o dalle normative vigenti (Nazionali e Comunitarie).

Sulla base di questi concetti consolidati, come definire una rete di monitoraggio aerobiologico? L'insieme delle stazioni aerobiologiche attualmente distribuite sul territorio italiano, sulla base esclusiva della consistenza numerica, può essere definito una rete di monitoraggio nazionale?

Storicamente i punti di prelievo per il monitoraggio aerobiologico sono stati attivati per esigenze sanitarie strettamente legate all'allergologia e la loro ubicazione, in assenza di precise indicazioni nelle norme UNI EN, è spesso legata ad esigenze pratiche e vicinanza ai laboratori di misura.

Tuttavia, dal momento in cui diventa di pressante interesse per una valutazione integrata della qualità dell'aria che consideri insieme inquinanti antropogenici e particelle biologiche (Di Menno di Bucchianico, 2019), questa struttura reticolare, priva di criteri progettuali omogenei, può risultare inadeguata.

Il lavoro di costante approfondimento e ricerca portato avanti, in questi anni, dalla rete POLLnet cerca di rispondere a queste domande fondamentali, ma troppo spesso trascurate (Di Menno di Bucchianico, 2022), anche proponendo indicatori maggiormente rappresentativi, rispetto a quelli tradizionali, della presenza dei principali pollini di interesse allergologico. Come i 'giorni rossi', un nuovo indicatore sintetico che consiste nel conteggio del numero di giorni, nell'arco dell'anno civile, in cui almeno una famiglia (tra tutte quelle misurate) presenta un alto livello di concentrazione di granuli pollinici in aria secondo i valori di riferimento POLLnet-SNPA (v. figura 1).

Materiali e metodi

La Rete di monitoraggio aerobiologico del Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente, POLLnet, serve ad assicurare omogeneità della misura ed efficacia all'azione di ISPRA e delle ARPA/APPA. E ha finalità sia ambientali (monitoraggio biodiversità, valutazione d'impatto dei cambiamenti climatici, valutazioni in ambito agronomico, tutela dei beni artistici) che sanitarie (supporto alla diagnosi e alla terapia delle allergie da pollini o spore).

Nel 2023 sono attive 62 stazioni collocate nelle 18 regioni partecipanti e gestite da 20 enti del SNPA: 17 ARPA, 2 APPA e ISPRA.

Discussione

In questi anni, sulla base dell'analisi dei dati prodotti dalle stazioni storiche, sono stati definiti criteri ragionati, che aspirano a diventare standard, per la classificazione dei punti di misura, per il numero minimo di dati e per la scelta dei periodi di mediazione fenologicamente più significativi.

L'idea guida si basa un approccio integrato che consenta, come per gli inquinanti antropici, la definizione di un indice giornaliero che fornisca informazioni sintetiche e confrontabili sulla valutazione della qualità dell'aria di una data area basata sugli apporti antropici e naturali insieme (Di Menno di Bucchianico, 2021).

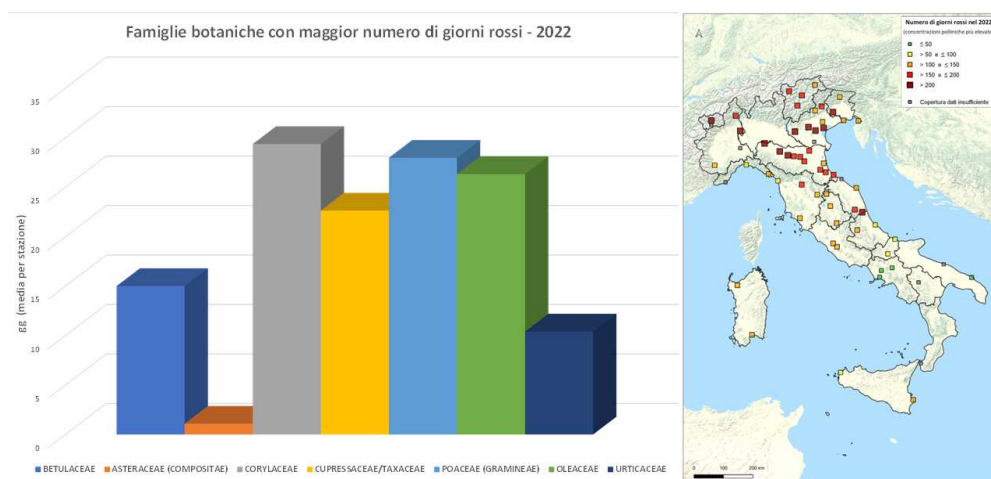


Figura 1 - Giorni rossi in Italia nel 2022

Riferimenti

Di Menno di Bucchianico A. et al, Combined effects of air pollution and allergens in the city of Rome, *Urban Forestry & Urban Greening*, Volume 37, 2019, Pages 13-23, ISSN 1618-866.

Di Menno di Bucchianico A. et al, Il contributo naturale al particolato atmosferico: la valutazione della componente biologica e abiologica dell'aerosol, *BEA Il Bollettino degli Esperti Ambientali*, 2021, 1-2, 78-90, February 2021.

Di Menno di Bucchianico et al, The importance of aerobiological monitoring in the air quality assessment. *Proceedings of Abstracts 13th International Conference on Air Quality: Science and Application*. Published by Aristotle University of Thessaloniki, Greece and University of Hertfordshire, UK, pp 25, <https://doi.org/10.18745/PB.25560>, ISBN: 978-1-3999-2835-9, 2022.

Prova interlaboratorio 2022 – Analisi statistica del riconoscimento dei taxa

Marchesi S., Tomain F., Scarinzi C., Bartolacci S.

Nel periodo compreso tra Febbraio e Maggio 2022 è stata effettuata una prova interlaboratorio di riconoscimento di pollini e spore fungine presso il Laboratorio di Mestre di Arpa Veneto, dove è stato messo a disposizione un microscopio per le letture di un vetrino selezionato appositamente. Un totale di 54 operatori, 48 dei quali provenienti da 11 Agenzie Ambientali Regionali e Provinciali Italiane e 6 da altri Enti, ha partecipato a questa prova.

Le categorie di cui è stato previsto il riconoscimento sono state 30, nello specifico 27 taxa/famiglie (Aceraceae; *Alnus* e *Betula*; *Amaranthaceae*; *Ambrosia*, *Artemisia* ed altre *Compositae*; *Carpinus*, *Corylus* ed *Ostrya*; *Cupressaceae/Taxaceae*; *Cyperaceae*; *Castanea*, *Fagus* e *Quercus*; *Olea*, *Fraxinus* ed altre *Oleaceae*; *Pinaceae*; *Plantaginaceae*; *Platanaceae*; *Poaceae* (*Graminaceae*); *Polygonaceae*; *Populus* e *Salix*; *Ulmaceae*; *Urticaceae*), 2 categorie riassuntive (Pollini Non Identificati ed Altri Pollini) e una spora fungina (*Alternaria*).

Le conte dei pollini e delle spore fungine riportate dagli operatori sui fogli di lavoro predisposti appositamente per la prova interlaboratorio sono state convertite in concentrazione attraverso il coefficiente relativo a questa prova specifica (0.35). Le categorie effettivamente considerate per l'analisi sono state 10, in particolare quelle caratterizzate dal valor medio più elevato delle concentrazioni riportate dagli operatori (*Alnus*, *Cupressaceae/Taxaceae*, *Corylus*, *Ulmaceae*, *Populus*, *Fraxinus*, *Alternaria*, Pollini Non Identificati, *Salix*, *Poaceae*, in ordine di concentrazione media decrescente).

L'analisi delle proprietà statistiche del campione di 54 letture di ciascuna categoria permette una valutazione complessiva della capacità degli operatori nel riconoscimento per cercare di mettere in evidenza le categorie più o meno critiche in termini di variabilità delle letture e di errori che le caratterizzano (Oteros et al 2013; Galán et al, 2014).

L'analisi statistica prevede i seguenti step: (i) esclusione degli outlier statistici usando lo z-score associato a ciascuna lettura (valori inferiori a -1.96 o superiori a 1.96 vengono esclusi, in quanto al di fuori del 95% della distribuzione "normale"); (ii) calcolo del coefficiente di variazione percentuale dell'insieme delle letture; (iii) calcolo dei limiti di confidenza e del numero di letture entro questi limiti; (iv) calcolo del numero di letture erronee in termini dell'errore relativo. Si rimanda al Report sulla Prova Interlaboratorio per i dettagli relativi ai singoli punti dell'elenco precedente.

Tutti i coefficienti di variazione relativi ai 9 taxa considerati ed alla categoria dei "Pollini Non Identificati" sono inferiori al coefficiente di variazione teorico, cosa che rappresenta certamente un

risultato molto soddisfacente perché conferma una variabilità delle concentrazioni (esclusi gli outlier) minore del limite di variabilità teorico.

La situazione è decisamente meno soddisfacente per i limiti di confidenza: per i 6 taxa con la concentrazione più alta le percentuali di letture che ricadono nell'intervallo di confidenza sono piuttosto basse (non superiori al 31% e inferiori al 20% per 3 dei 4 taxa con la concentrazione media più elevata).

Per quanto riguarda l'errore relativo delle letture, per i 6 taxa più presenti la media dell'errore relativo è inferiore al 10% e solo una percentuale molto ridotta di letture eccedono la soglia del 20%, che è generalmente considerata un limite da non superare.

Riassumendo, nessuna delle categorie considerate ha mostrato situazioni particolarmente critiche rispetto al riconoscimento da parte degli operatori (anche considerando il numero abbastanza limitato di outlier statistici), pur non potendo trascurare le percentuali abbastanza basse delle letture entro i limiti di confidenza per i taxa con le concentrazioni più elevate.

La concentrazione di polline in atmosfera per la previsione del rischio di encefalite da zecca

Centro Ricerca e Innovazione, Fondazione Edmund Mach - Antonella Cristofori, Fabiana Cristofolini, Giovanni Marini, Francesca Dagostin, Valentina Tagliapietra, Annapaola Rizzoli, Elena Gottardini

✉ antonella.cristofori@fmach.it

Introduzione

La circolazione del virus dell'encefalite da zecca (TBEv) dipende dalle dinamiche di popolazione delle zecche e dei roditori ospiti, che a loro volta dipendono dalle risorse nutritive. I semi degli alberi sono il principale alimento dei roditori e la loro produzione fluttuante è fortemente correlata all'abbondanza di polline. Il nostro studio mira a verificare se il polline aerodisperso sia direttamente associato ai casi di TBEv registrati nell'uomo nella regione biogeografica alpina.

Materiali e metodi

Il nostro studio si è concentrato sulla provincia di Trento (Italia settentrionale, 6.000 km², 500.000 abitanti). Il territorio è incluso nella regione biogeografica alpina (relazione EEA n. 1/2002) e le principali specie arboree forestali che crescono entro un raggio di 5 km dal campionatore pollini sono rappresentate da carpino nero (*Ostrya carpinifolia* Scop.), faggio (*Fagus sylvatica* L.), abete rosso (*Picea abies* L.), pino (*Pinus sylvestris* L. e *P. nigra* J. F. Arnold), roverella (*Quercus pubescens* Willd.), frassino da manna (*Fraxinus ornus* L.) e nocciolo (*Corylus avellana* L.). La concentrazione di pollini aerodispersi è stata monitorata dal 1989 presso la Fondazione Edmund Mach, a San Michele all'Adige (Latitudine 46.19 N, Longitudine 11.13 E, 220 m s.l.m.), mentre i casi umani di TBEv sono stati registrati dal 1992 dall'Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari di Trento. I pollini aerodispersi sono stati campionati con una trappola di tipo Hirst, trattati e analizzati secondo tecniche convenzionali e protocolli standardizzati (UNI EN 16868:2019).

Statisticamente, in primo luogo abbiamo studiato l'associazione tra la concentrazione pollinica totale annuale dei taxa arborei dominanti e il numero annuale di casi umani di TBEv (1989-2020), con diversi lag temporali, mediante modelli lineari univariati. In seguito, abbiamo costruito un modello completo considerando tutte le covariate

significative, abbiamo calcolato tutti i possibili sottomodelli e infine abbiamo selezionato il migliore (quello con il punteggio più basso del criterio di informazione di Akaike).

Risultati e discussione

Abbiamo trovato un'associazione positiva significativa tra le abbondanze polliniche di faggio ($p=0,04$), quercia ($p=0,012$) e carpino nero ($p=0,013$), e i casi umani di TBEv, con un ritardo di due anni (Figura 2). Tutti gli altri lag e taxa hanno dato luogo a relazioni non significative. Successivamente, abbiamo identificato il modello migliore, che considerava solo le quantità di polline di carpino nero e quercia, entrambe con coefficienti positivi, coerentemente con l'analisi univariata e la covarianza di faggio e carpino nero.

Conclusioni

Per quanto ne sappiamo, questo è il primo tentativo di quantificare la potenziale relazione tra le abbondanze di polline aerodisperso di specie arboree e le infezioni da TBEv, sulla base di una serie temporale di tre decenni di dati. Se convalidati su una scala spaziale più ampia, i dati pollinici, secondo questi primi risultati, potrebbero essere utilizzati per realizzare un sistema di allarme precoce per il rischio di trasmissione del TBEv, con due anni di anticipo. Inoltre, poiché il monitoraggio dei pollini viene effettuato di routine in tutto il mondo in più siti e fornisce misure quantitative, l'associazione tra abbondanza di pollini e infezioni da TBEv potrebbe essere validata in regioni biogeografiche diverse e l'utilizzo eventuale di questo sistema di allerta potrebbe essere replicato.

Riferimenti

Relazione EEA n. 1/2002 https://www.eea.europa.eu/publications/report_2002_0524_154909

UNI EN 16868:2019 Aria ambiente - Campionamento e analisi dei granuli di polline aerodispersi e delle spore fungine per le reti allergologiche - Metodo volumetrico Hirst

Riconoscimenti

Questo studio è stato parzialmente finanziato dal progetto H2020 UE 874850 MOOD.

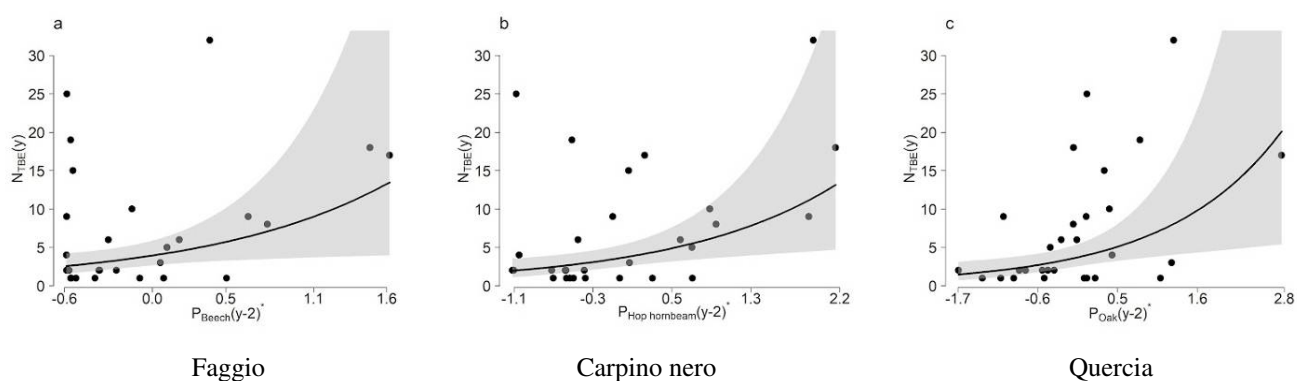


Figura 2 - Correlazioni lineari tra quantitativi annuali di pollini (ascissa) di faggio (a sn), carpino nero (al centro) e quercia (a dx) e casi di encefalite da zecca nell'uomo (in ordinata; dati standardizzati)

Uso del microscopio ottico: funzionalità, accessori e manutenzione

Renato Bonello - Laboratorio Ottico Bonello
Stefania Lazzarin - ARPAV

email: laboratorio.ottico@tin.it
email: stefania.lazzarin@arpa.veneto.it

Introduzione

Il microscopio ottico è uno strumento utilizzato dai lettori pollinici ordinariamente per il conteggio, l'identificazione e il riconoscimento delle famiglie di piante e/o erbe a cui appartengono i pollini e le spore fungine con una valutazione qualitativa e quantitativa. La lettura microscopica viene effettuata a ingrandimento variabile solitamente utilizzando gli obiettivi 40x e/o 20x basata sul riconoscimento di caratteristica colorazione, grandezza e altre peculiarità tipiche di ciascun polline. Pertanto, ai fini dell'accuratezza, dell'accettabilità e dell'emissione del dato pollinico è importante possedere un microscopio che abbia un buon grado di risoluzione e una buona manutenzione.

Materiali e metodi

In questo lavoro è stata analizzata la struttura del microscopio, la manutenzione ordinaria da parte dell'operatore e da parte della ditta, la pulizia e la manutenzione straordinaria da parte del laboratorio ottico. In particolar modo, si illustrano all'utilizzatore del microscopio le accortezze, gli accorgimenti da fare durante il suo utilizzo al fine che l'attività e la lettura pollinica venga migliorata.

Il microscopio ottico può essere corredato in diversi modi a seconda delle esigenze di osservazione; nel nostro caso tra luce trasmessa e campo chiaro, si tratterà di microscopio corredato professionalmente per osservazioni biologiche o di analisi, in questo caso i pollini.

I gruppi principali che lo compongono, sono:

- **STATIVO** è il basamento del microscopio e ne sostiene tutta la struttura; il montante è fissato su una base di appoggio, meglio se tutta in metallo. Dalla base esce la luce da una lente e un diaframma ad iride detti di campo (DC), (la lampada di solito si trova sulla parte posteriore) e la luce viene indirizzata al condensatore.
- **OCULARI** la loro funzione è quella di ingrandire l'immagine che si forma nel piano focale dell'obiettivo e rappresentano un gruppo di lenti detto gruppo ottico ed è collocato all'estremità visiva del microscopio e da un lato hanno inciso un numero seguito da una **x** che corrisponde al **fattore di ingrandimento** (esempio 10x). La maggior parte dei microscopi ottici in commercio sono binoculari .
- **CONDENSATORE** è un sistema di lenti provvisto di un diaframma ad iride detto di apertura o risoluzione (DA), il quale concentra la luce sul preparato perché l'obiettivo trovi la luce concentrata sul preparato e permette di costruire una immagine buona, bella e contrastata. Il condensatore si muove in verticale ed è centrabile in orizzontale, porta scritto i propri dati e sotto porta anche un porta filtri ed è situato sotto il tavolino porta preparati.
- **TAVOLINO CON MOVIMENTI** è dove viene posto il campione da osservare dopo essere stato adeguatamente sistemato su un apposito vetrino. Il tavolino è a coordinate **x y** e dispone anche di un ferma preparato che sono una o più pinze per tenere fermo il vetrino. Il tavolino

con movimenti comprende la base di appoggio, il tavolino portaoggetti e un supporto a cui è collegato il tubo portaottica che deve corrispondere alla richiesta dell'obiettivo. Sul supporto troviamo la vite macrometrica, che può avvicinare o allontanare il tubo portalenti al vetrino per mettere a fuoco l'oggetto e ottenere una immagine nitida; la vite micrometrica, infine, consente movimenti più fini, più piccoli per migliorare la messa a fuoco.

- **MOVIMENTO MACRO e MICROMETRICO** il livello di messa a fuoco avviene variando la distanza tra vetrino col campione ed obiettivo proprio grazie ad essi. Il movimento micrometrico serve per spostamenti veloci o lenti del preparato, cioè per la sua messa a fuoco; di solito si sposta il tavolino in verticale, a volte il montante.
- **REVOLVER PORTA OBIETTIVI** può essere da tre, quattro, sei, otto posti, ecc. ed è una semisfera rotabile; gli obiettivi sono diversi e hanno vari livelli d'ingrandimento, quello minimo (10x), quello intermedio (40x) ed infine il massimo consentito (100x). Gli obiettivi sono costituiti da una serie di lenti e hanno inciso di norma tre numeri e anche altre informazioni per capire le caratteristiche: l'**ingrandimento** è il numero più grande, sempre presente, seguito da una **x** (es.10x); seguito da una barra, accanto, c'è un numero con la virgola detto **apertura numerica (AN)** ad es. per 10x è 0,25 e maggiore è tale valore, maggiore sarà la risoluzione dell'obiettivo ossia la qualità ottica; nell'obiettivo 100x l'AN è 1,25 oppure è scritto oil che indica che è un obiettivo a immersione. Altre informazioni che si possono trovare sotto all'ingrandimento e all'apertura numerica sono due numeri che riguardano uno la **lunghezza del tubo porta ottica** che normalmente è 160, seguito da una barra accanto con un numero con la virgola che è lo **spessore del vetrino coprioggetto** che è solitamente è 0,17. Gli obiettivi si distinguono anche per il diverso colore di banda associato agli ingrandimenti e servono per distinguere a prima vista l'obiettivo: 1-1,5x, marrone significa 2x o 2,5x, rosso significa 4x o 5x, giallo significa 10x, verde significa 16x o 20x, turchese significa 25x o 32x, leggero blu significa 40x o 50x, blu intenso significa 60x o 63x e bianco o bianco sporco significa 100-250x. Ci sono tre tipi di obiettivi per dare diverse qualità di immagine: acromatici (meno costosi), alla fluorite (più costosi degli acromatici) e apocromatici (i più costosi e sono i migliori per la registrazione e l'osservazione a colori).
- **TUBO PER LA FOTOGRAFIA** (opzionale): connette l'oculare ad una macchina fotografica se si ha bisogno di acquisire l'immagine.

Per la pulizia e il mantenimento del buono stato di conservazione del microscopio, l'operatore si deve limitare alla pulizia esterna delle lenti, del condensatore e poi alla lente di campo ed evitare di pulire l'interno.

E' buona norma pulire la lente esterna del microscopio con un panno di cotone morbido che non lascia peli e aloni in quanto visibili durante la lettura del vetrino e forniscono una immagine non veritiera del preparato. E' consigliabile pulire soltanto la parte esterna dello strumento dalla polvere sempre con il panno morbido. Eventualmente, se la lente esterna è sporca, usare un panno morbido con Avio, invece se si usa l'alcool, una volta asciutto controllare che non ci siano macchie visibili perché rovina l'antiriflesso e anche la superficie del vetro. Come conservazione ordinaria dello strumento, l'operatore in laboratorio può sostituire le lampadine usurate avendo l'accortezza di non toccare con le mani la superficie esterna di vetro, in quanto con il calore diventano colorate a macchie nere. Inoltre, si può anche sostituire il fusibile che si trova solitamente nella parte

posteriore. Il microscopio va posizionato e tenuto lontano dalla luce diretta e dal calore perché si rischia che i grassi si seccano e i movimenti diventano duri ad esempio quelli delle viti macrometrica e micrometrica e anche quelli del revolver. Inoltre, la luce diretta può causare problemi di riflesso e dare criticità nel distinguere i piccoli particolari durante la lettura del vetrino e deteriora le parti in plastica dello strumento.

Lo strumento va tenuto all'asciutto e non in un ambiente umido perché l'ottica può essere intaccata da un fungo che causa la malattia del vetro ottico e questo fungo si dirama piano piano come una ragnatela, intacca l'ottica e fa dei solchi nel vetro, finché lo rende come un satinato. Il fungo è anche trasferibile negli strumenti vicini anche se nuovi, ed è molto difficile da debellare. Per quanto riguarda la manutenzione annuale da parte della ditta, vengono smontati tutti i gruppi o moduli tipo condensatore, binoculari, obiettivi, luce e controllati e puliti con un pezzettino di legno appuntito con sopra un pezzo di carta o stoffa morbida, così si puliscono le parti accessibili e possibili. Le parti ottiche vengono controllate alla luce con la lente di ingrandimento e poi il tutto si rimonta e si centra la luce secondo Koller. Poi si regola il potere di risoluzione dell'obiettivo 40x che è quello più usato in laboratorio. Alla fine del lavoro eseguito, si rilascia un rapporto di intervento in cui vengono registrate le operazioni effettuate.

La manutenzione straordinaria si effettua su richiesta dell'operatore al manutentore in caso di rotture o scenterature dei gruppi e se viene richiesta l'attrezzatura specifica, ad esempio nel caso di macrometrica e micrometrica bloccata, strabismo ai binoculari, si porta via il pezzo da controllare e si effettua il lavoro nella ditta di manutenzione.

Conclusioni:

Questo lavoro vuole offrire un contributo al fine di migliorare le conoscenze e gli accorgimenti per un buon utilizzo e funzionamento del microscopio ottico.

Procedura Köhler (Bonello Renato)

- 1) Alzare tutto il condensatore eventualmente con lente scamotabile, inserita se c'è.
- 2) Mettere a fuoco il preparato con obiettivo 10x.
- 3) Chiudere il diaframma di campo (DC) sulla base e aprire il diaframma di apertura o risoluzione (DA) sotto il condensatore.
- 4) Abbassare piano il condensatore finché si vedono le lamelle del diaframma di campo (DC) a fuoco sul preparato (eventualmente aprirlo appena per vederlo bene).
- 5) Se il diaframma di campo (DC) è scenterato, bisogna centrarlo sul campo visivo.
- 6) Aprire il diaframma di campo (DC) appena fuori del campo visivo che non si veda (non disturbi). Questa è l'illuminazione centrata secondo Köhler, per quello spessore di vetrino (circa 1mm) ed è anche centrato (se nessuno tocca qualche manopola dovrebbe restare centrato).
- 7) Ora si deve regolare il diaframma di apertura (DA) sotto il condensatore, per avere una immagine nitida, contrastata e risolta. Se il diaframma DA è troppo chiuso, aumenta la profondità di campo, i bordi e la cellula si vedono ingrossati, diventa anche più scura l'immagine e diminuisce la risoluzione. Se il diaframma DA è tutto aperto, l'immagine risulta biancastra senza contrasto e non nitida (cioè il valore di apertura scritto sull'obiettivo deve essere uguale a quello dato regolato al condensatore dall'operatore).
- 8) Per rendersi conto della giusta regolazione, si può vedere il diaframma DA nel tubo senza oculare: se il campo visivo è chiuso di circa $\frac{1}{4}$ la visione è di $\frac{3}{4}$. Questo si deve fare per ogni obiettivo per la loro diversa risoluzione.

Problematiche nel riconoscimento dei pollini nel test di interconfronto

Pierluigi Verardo

Email: pierluigi.verardo@arpa.fvg.it

Il test di interconfronto 2022, svoltosi presso i locali del Laboratorio ARPAV di Mestre, si è concluso il 31 maggio 2022 con la partecipazione di 54 operatori provenienti dall'Italia e dalla Slovenia.

Il vetrino di campionamento usato per questa prova porta la data del 23 febbraio 2020 e fa parte dei campionamenti della stazione PN1 di Pordenone.

I pollini presenti sono quelli tipici invernali della pianura Padana. Quelli più abbondanti sono: *Alnus*, *Corylus*, *Cupressaceae/Taxaceae*, *Fraxinus*, *Populus*, *Ulmaceae*.

In misura minore:

Euphorbiaceae, *Graminaceae*, *Salix*.

Inoltre ci sono poche spore di *Alternaria*.

Generalmente il riconoscimento ha avuto successo, rimangono comunque dei dubbi su qualche esemplare.

La distinzione tra *Cupressaceae/Taxaceae* e *Populus* non ha creato difficoltà, come tra *Salix* e *Fraxinus*.

Più complessa è la situazione tra *Ostrya*, *Betula* e *Corylus*. Il periodo di fioritura è ancora quello del nocciolo, tuttavia ci possono essere degli anticipi sia di carpino nero che di betulla. I pollini dubbi non presentano le caratteristiche della betulla, ma possono essere anche ascritte al carpino nero per forma sub circolare che per la sporgenza dei pori. Manca l'opercolo come caratteristica di sicura identificazione.

Viene riportata una tabella di comparazione tra nocciolo – carpini - betulla – bagolaro per aiutare il lettore nell'identificazione di questi pollini simili.

arpa FVG		confronto			
	<i>Corylus</i>	Fioritura: da fine dicembre ai primi di marzo. Dimensioni: 19 – 28 µm. <u>Trizonoporato</u> . Pori appena pronunciati. <u>Esina scabrato – microechinata</u> . <u>Onci larghi e molto convessi</u> . Forma sub triangolare in visione polare.			
	<i>Ostrya</i>	Fioritura: metà marzo a maggio. Dimensioni: 19 – 29 µm. <u>Tri-tetrazonoporato</u> . Pori appena pronunciati dove spesso è presente un opercolo poco evidente. <u>Onci larghi e convessi</u> . Forma circolare in visione polare.			
	<i>Betula</i>	Fioritura: da marzo a maggio. Dimensioni: 18 – 28 µm. <u>Tr-(tetra)izonoporato</u> . Pori sporgenti e <u>vestibolati</u> . <u>L'esina microechinata</u> ispessita attorno al poro forma <u>aspidi</u> . <u>Onci piccoli poco convessi</u> . In visione polare è circolare o appena sub triangolare.			
	<i>Carpinus</i>	Fioritura: da aprile a maggio. Dimensioni: 30 – 43 µm. <u>Tri-tetra-pentazonoporato</u> . Pori con opercoli, non sempre evidenti. <u>Onci medi poco convessi</u> . <u>Esina psilato-scabrata</u> ispessita vicino al poro.	35.09 µm		
	<i>Celtis</i>	Fioritura: da aprile a maggio. Dimensioni: 25 – 35 µm. <u>Tri-tetra-penta-esazonoporato</u> . Pori in linea col perimetro, <u>leggermente ispessiti</u> , a volte opercolati. <u>Onci convessi</u> . <u>Esina scabrata</u> .	31.61 µm	63 µm	

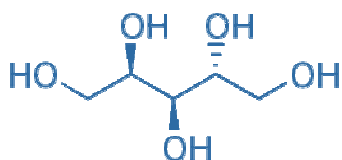
Tabella di comparazione tra nocciolo – carpini - betulla

Correlazione tra spore fungine e due marker chimici nel PM di una stazione di campionamento in Friuli Venezia Giulia

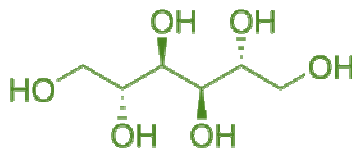
ARPA FVG - *Andrea Mistaro**, *Francesca Tassan-Mazzocco***, *Pierluigi Verardo***

*SOS Laboratorio Acque Marino Costiere e Qualità dell'aria

**SOS Qualità dell'Aria



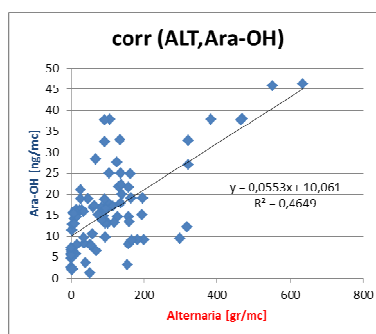
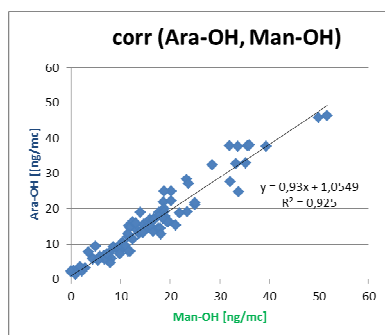
ARABITOLO



MANNITOLO



ALTERNARIA

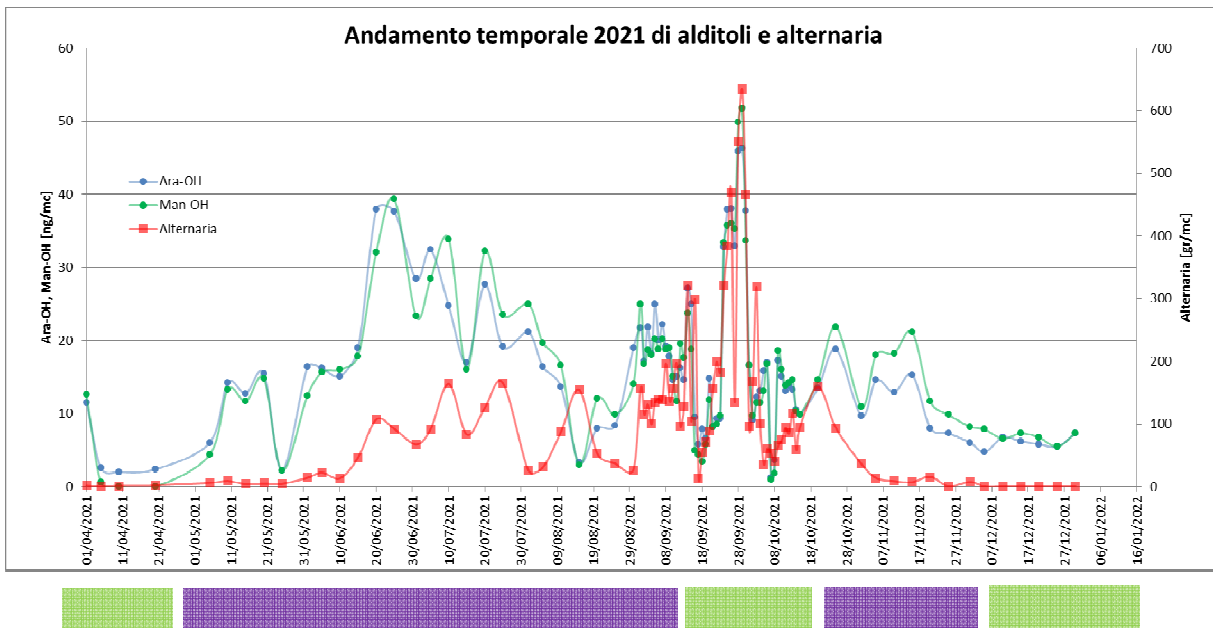


Correlazione tra i due marker chimici arabitolo e mannitolo (a sinistra) e tra arabitolo e *Alternaria* (a destra) nell'intero periodo di studio (aprile-dicembre 2021)

In letteratura si riporta la correlazione tra livelli di spore fungine in aria ambiente e concentrazioni degli alditoli mannitolo e arabitolo nel PM10.

Nel 2021 ARPA FVG ha quantificato sia gli alditoli (determinati nel PM10 mediante cromatografia ionica con detector elettrochimico ad amperometria pulsata) che le spore fungine di *Alternaria spp* e/o totali rilevate nel pordenonese. I risultati mostrano un'ottima correlazione tra i due alditoli ($R^2 = 0.925$) in tutto il periodo esaminato, e una minore correlazione ($R^2 = 0.465$) tra il dato chimico e quello biologico (cfr. la coppia di grafici sottostanti).

Ad un'analisi più approfondita, si rileva in realtà come la correlazione tra il dato chimico e quello biologico sia più elevata limitatamente ad alcuni periodi dell'anno (ad es., $R^2 = 0,650$ in settembre), quando il PM10 risulta particolarmente ricco (in settembre) o povero (in inverno) di spore. Viceversa, in altri periodi dell'anno (in primavera ed all'inizio dell'estate, nonché in autunno), nonostante la coerenza tra i profili temporali dei dati chimici e biologici sia conservata (cfr. il grafico sottostante), la sola *Alternaria* non è sufficiente a spiegare le concentrazioni elevate dei due alditoli.



Profilo temporale delle concentrazioni di alditoli (in blu e in verde) e di *Alternaria* (in rosso) tra aprile e dicembre 2021 nel pordenonese.

I periodi dell'anno in cui si rileva una buona correlazione tra il dato chimico e quello biologico sono evidenziati con una barra verde sottostante, mentre la barra viola evidenzia i periodi caratterizzati da una scarsa correlazione tra i due dati.

Ciò suggerisce un marcato contributo di altre spore fungine, oltre all'*Alternaria*, che è stato verificato a campione in alcune giornate: il conteggio delle spore fungine totali in quelle giornate risulta infatti spiegare meglio l'andamento temporale degli alditoli anche nella stagione primaverile.

Lo studio conferma che il contributo delle spore fungine (e della componente biologica complessiva) al PM10 è significativa tra primavera e autunno, e che gli alditoli ne risultano validi *marker*.

L'analisi degli alditoli nel PM10 potrebbe quindi potenzialmente contribuire a ponderare la presenza di molteplici generi di spore la cui valutazione complessiva sarebbe altrimenti troppo gravosa nella routine del monitoraggio aerobiologico.

Alcune foto della giornata





ARPAV

Agenzia Regionale per la Prevenzione e
Protezione Ambientale del Veneto
Direzione Generale
Via Ospedale Civile, 24
35121 Padova
Italy
Tel. +39 049 8239 301
Fax +39 049 660966
e-mail: urp@arpa.veneto.it
e-mail certificata: protocollo@pec.arpav.it
www.arpa.veneto.it