

Corso Apicoltura di base ARAL



Roma
27 marzo 2013

Nosema ceranae:
stato dell'arte, diffusione e gestione di questo
patogeno emergente delle api

Giovanni Formato
IZS Lazio e Toscana



LA NOSEMIASI

Malattia delle **api adulte** dovuta ad un **microsporidio**, cioè un fungo unicellulare.

- Classe: Microsporidi
- Famiglia: Nosematidi
- Genere: Nosema

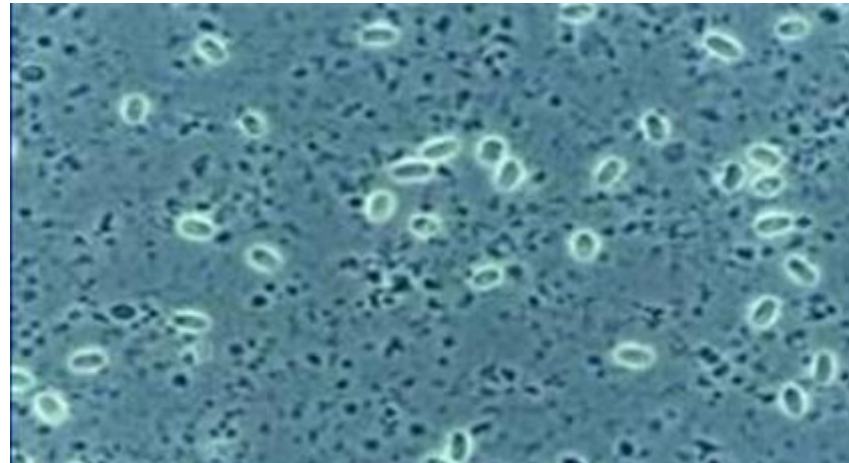


Apis mellifera: è interessata da 2 diverse specie di Nosema: *N. apis* e *N. ceranae*

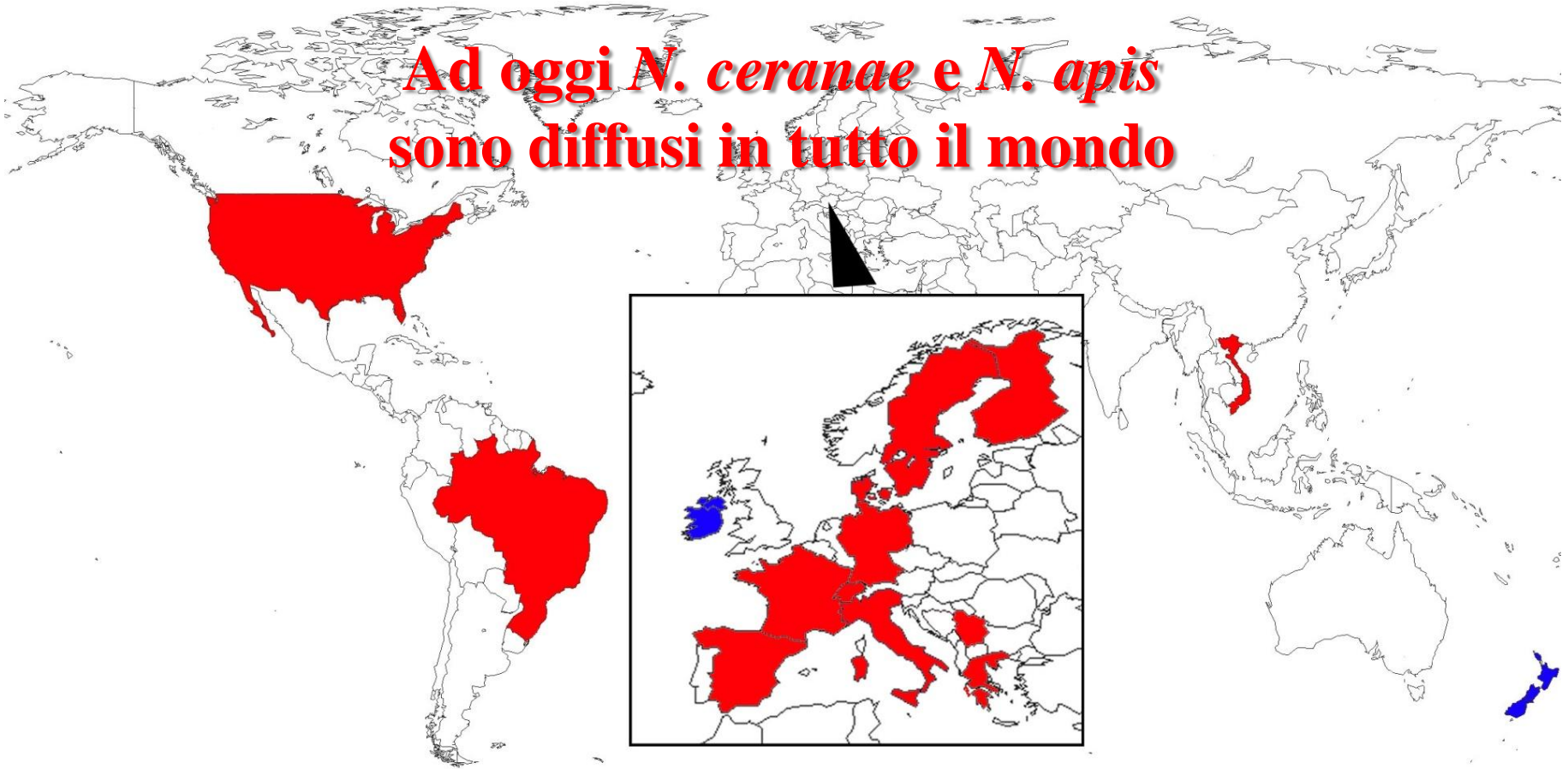
N. ceranae ed *A. mellifera*

1997: Fries dimostrò la patogenicità *in vitro* di questo microsporidio per la nostra *Apis mellifera* (“ape europea”). **Tutti però lo consideravano confinato in Asia.**

2006: Higes trovò 10 su 11 campioni di api spagnole positive per *N. ceranae*.



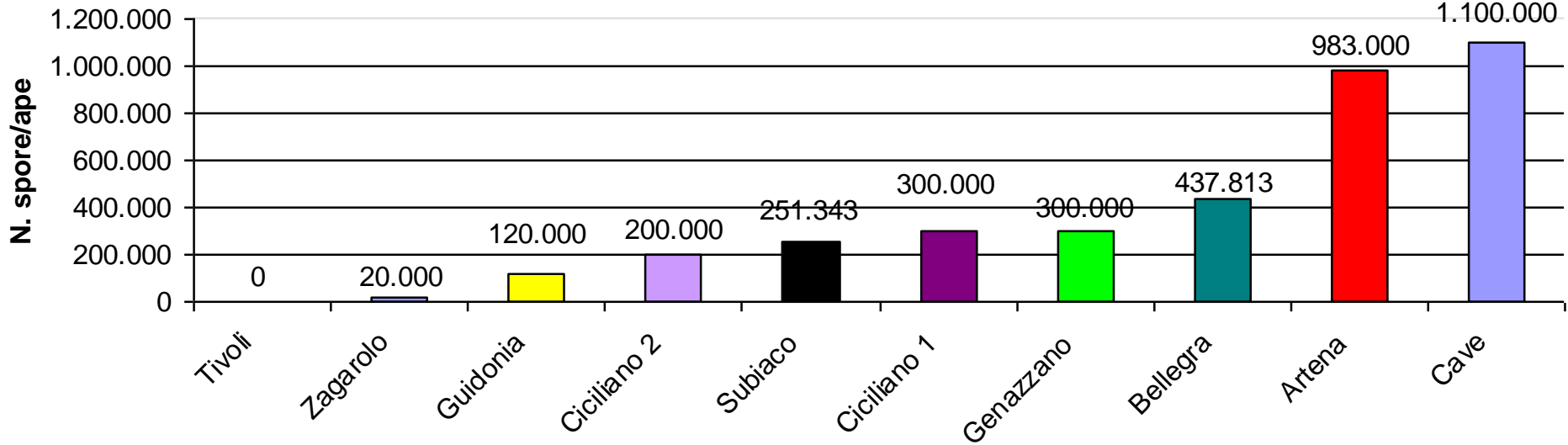
**Ad oggi *N. ceranae* e *N. apis*
sono diffusi in tutto il mondo**



Non si è riusciti a capire con precisione quando e dove *N. ceranae* ha infettato per la prima volta l'ape mellifera. Si ritiene comunque legittimo credere che questo passaggio sia avvenuto da almeno 20 anni.

Studio (2009) sulla prevalenza di *N. ceranae* nel centro Italia

Livelli di infezione negli apiari del monitoraggio nel mese di maggio 2009



Risultati in Toscana

(monitoraggio Apenet Toscana)

2009/2010

Modulo	GIUGNO 2009	AGOSTO 2009	OTTOBRE 2009	APRILE 2010
FIRENZE	46%	20%	18,75%	54,76%
SIENA	36%	8%	0%	7,89%
AREZZO	26%	0%	11,43%	31,43%
Media	36%	9,65%	14,28%	32,17%

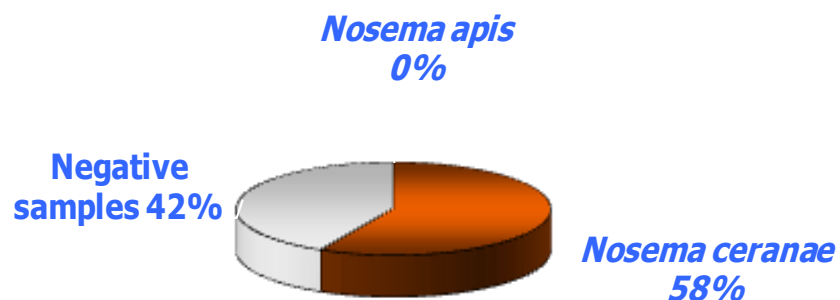
Percentuale di alveari positivi (metodo PCR-RFLP) al *Nosema ceranae*.

Risultati – *Nosema* spp. 2009

Italian regions	<i>Nosema ceranae</i>	<i>Nosema apis</i>	
Veneto	✓		North Italy
Prov. Auton. Bolzano	✓		
Prov. Auton. Trento	✓		
Liguria	✓		
Emilia Romagna	✓		
Toscana	✓		
Marche	✓		Central Italy
Lazio	✓		
Abruzzo	✓		
Umbria	✓		
Sardegna	✓		
Molise	✓		
Campania	✓		South Italy
Basilicata	✓		
Puglia	✓		
Calabria	✓		
Sicilia	✓		

✓ campioni positivi □ campioni positivi

Italian region	N. samples	<i>Nosema ceranae</i> positive samples	<i>Nosema apis</i> positive samples	Negative samples
Veneto	10	12	0	8
Prov Auton Bolzano	11	5	0	6
Prov Auton Trento	17	11	0	6
Liguria	20	14	0	6
Emilia Romagna	31	19	0	12
Toscana	19	15	0	4
Marche	18	6	0	12
Lazio	20	13	0	7
Abruzzo	10	2	0	8
Umbria	19	5	0	14
Sardegna	17	9	0	8
Molise	20	5	0	15
Campania	20	16	0	4
Basilicata	15	2	0	13
Puglia	20	16	0	4
Calabria	17	14	0	3
Sicilia	20	17	0	3
Total	314	181	0	133



“Ricerca effettuata nell'ambito del progetto "Apenet: monitoraggio e ricerca in apicoltura", finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali” (dati Franco Mutinelli)

Risultati – *Nosema* spp. 2010

Italian regions	<i>Nosema ceranae</i>	<i>Nosema apis</i>	
Veneto	✓		North Italy
Prov. Auton. Bolzano			
Prov. Auton. Trento	✓		
Liguria	✓		
Emilia Romagna	✓		Central Italy
Toscana	✓		
Marche	✓		
Lazio	✓		
Abruzzo			South Italy
Umbria	✓		
Sardegna	✓		
Molise	✓		
Campania	✓		
Basilicata	✓		
Puglia	✓		
Calabria	✓		
Sicilia	✓		

Italian region	N. samples	<i>Nosema ceranae</i> positive samples	<i>Nosema apis</i> positive samples	Negative samples
Veneto	26	13	0	13
Prov Auton Bolzano	3	0	0	3
Prov Auton Trento	12	9	0	3
Liguria	23	13	0	10
Emilia Romagna	30	16	0	14
Toscana	19	15	0	4
Marche	17	4	0	13
Lazio	17	12	0	5
Abruzzo	4	0	0	4
Umbria	26	3	0	23
Sardegna	18	5	0	13
Molise	20	2	0	18
Campania	20	10	0	10
Basilicata	15	3	0	12
Puglia	10	2	0	8
Calabria	66	30	0	36
Sicilia	8	6	0	2
Total	335	141	0	194

✓ campioni positivi □ campioni negativi

Nosema apis
0%

Nosema ceranae
42%

Negative samples
58%

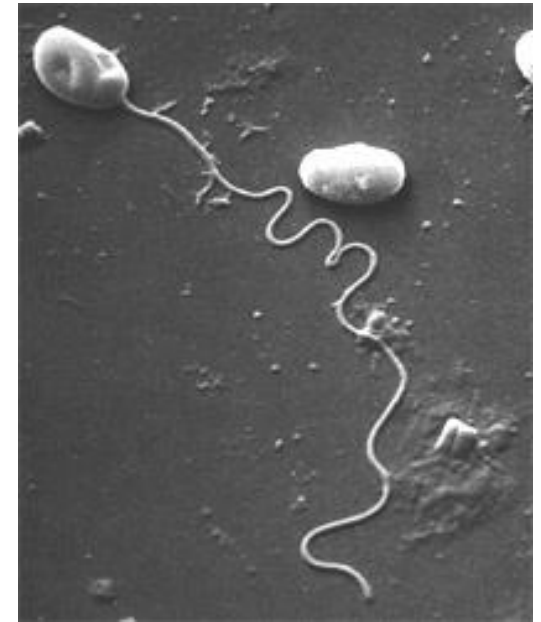


Dal 2009: 1 solo caso di *N. apis* in provincia di Bolzano

“Ricerca effettuata nell'ambito del progetto "Apenet: monitoraggio e ricerca in apicoltura", finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali” (Dati Franco Mutinelli)

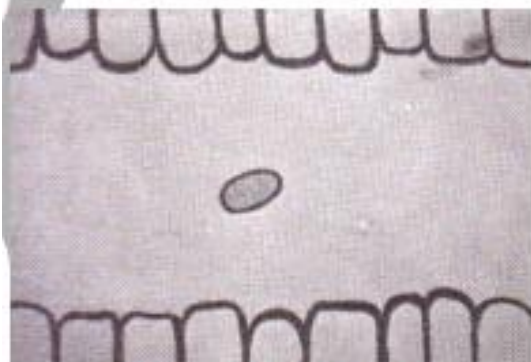
Tutti i microsporidi sono parassiti intracellulari che riconoscono come modalità di diffusione le spore e che posseggono strutture adibite alla loro penetrazione nelle cellule.

Nosema spp. infatti è provvisto di un “filamento polare” che si struttura dalla spora in fase germinativa e gli consente di passare nelle cellule intestinali dell’ospite (ape).

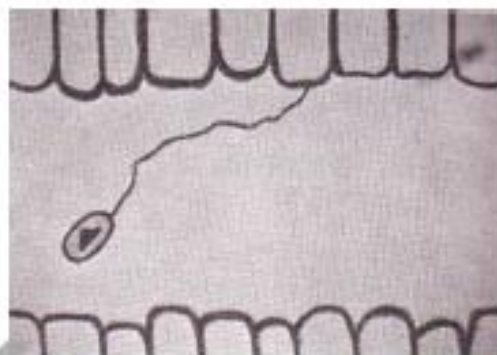


Modalità di infezione del nosema

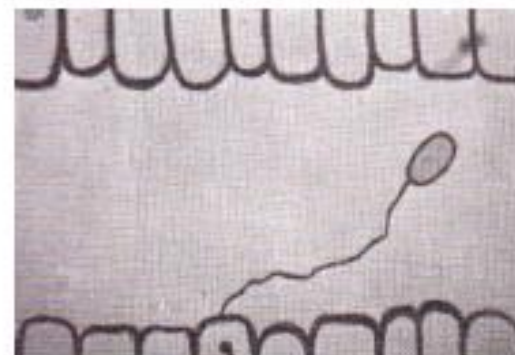
nelle cellule epiteliali dell'intestino medio o nel ventricolo delle api



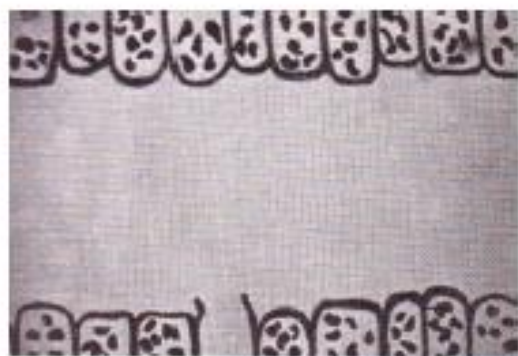
Spora nel lume intestinale



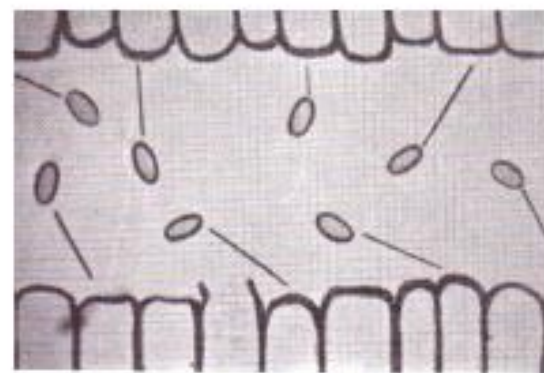
Estroflessione del filamento polare



Liberazione dello sporoplasma



Formazione e moltiplicazione dei meronti



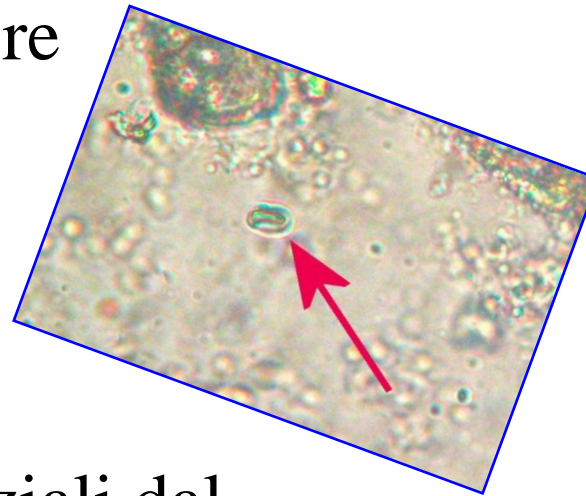
Formazione delle spore

Propagazione dell'infezione: le spore

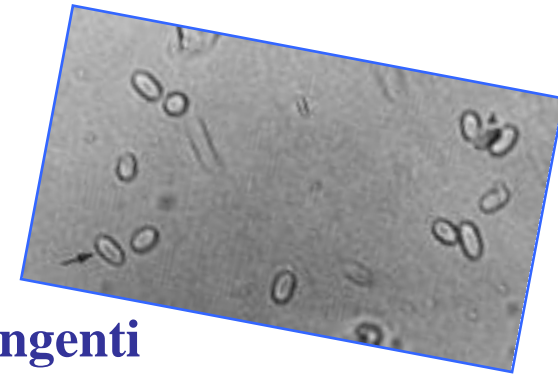
Fino a 30-50 milioni di spore

DI₅₀: 20-90 spore/ape

Esistono **differenze** sostanziali dal **punto di vista della sintomatologia** nelle famiglie colpite dai 2 patogeni, ma **non è possibile distinguerli dall'aspetto delle spore al microscopio ottico!**



Ovali
(3*6 micrometri)



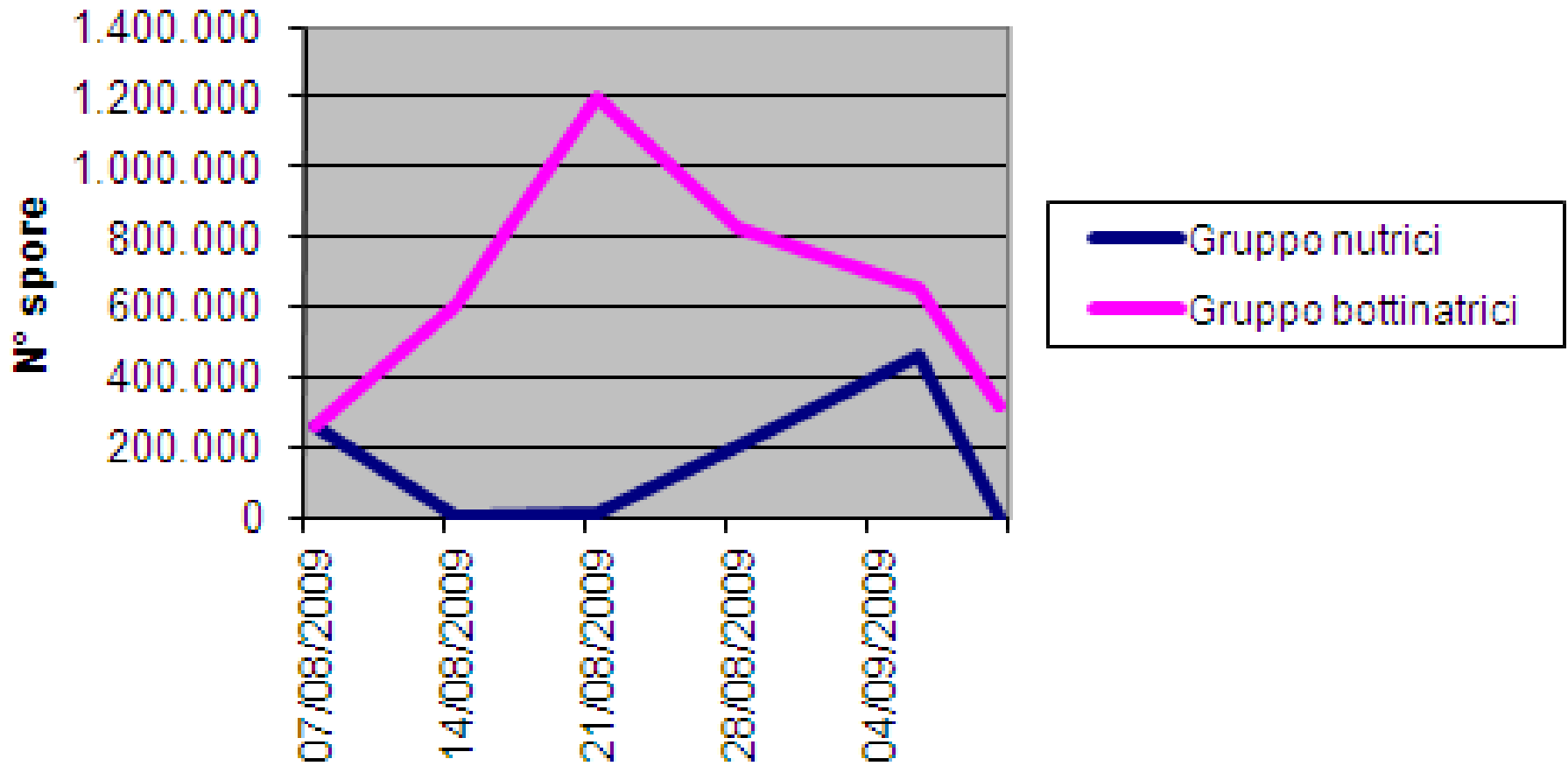
Rifrangenti

Fonti di contagio

- Feci (fonte primaria di contagio)
- Telaini infetti
(anche polline e miele)
- Trofallassi
- Deriva
- Saccheggio



Divisione delle famiglie: andamento dell'infezione

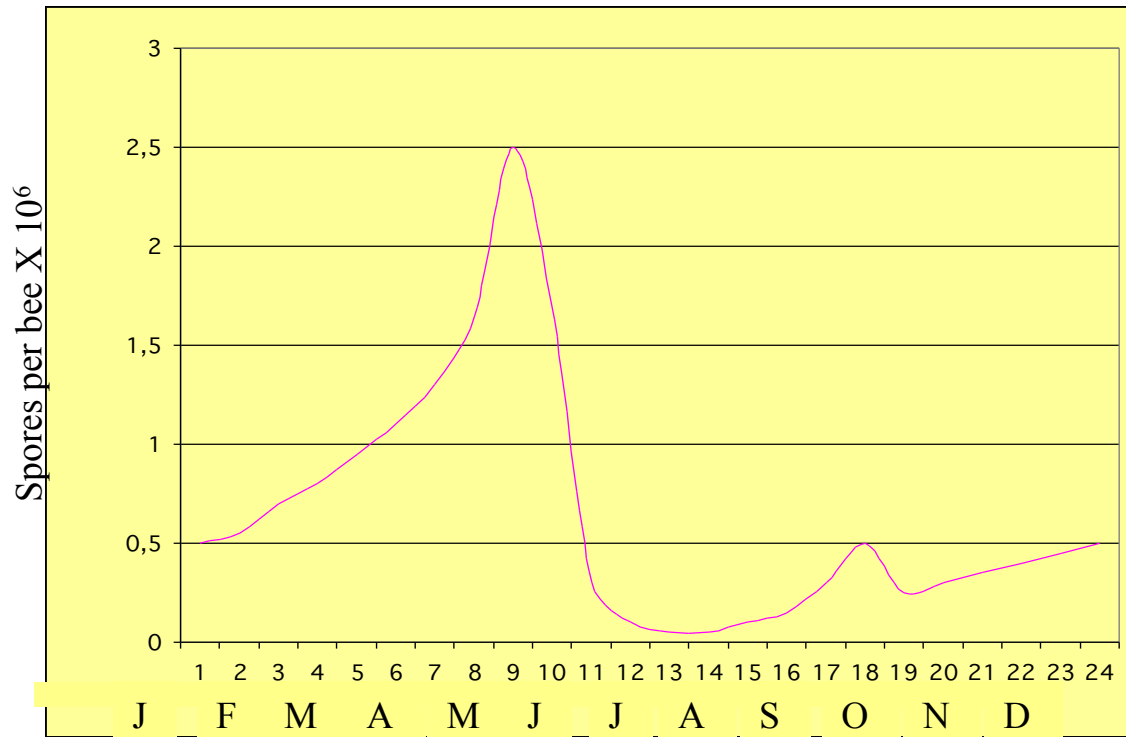


N. ceranae riesce a moltiplicare in un range di temperatura più ampio rispetto al *N. apis* (Martin-Hernandez, 2009).

Di contro, la vitalità del *N. ceranae* si riduce in modo significativo alla temperatura di congelamento (Fries e Forsgren, 2009)

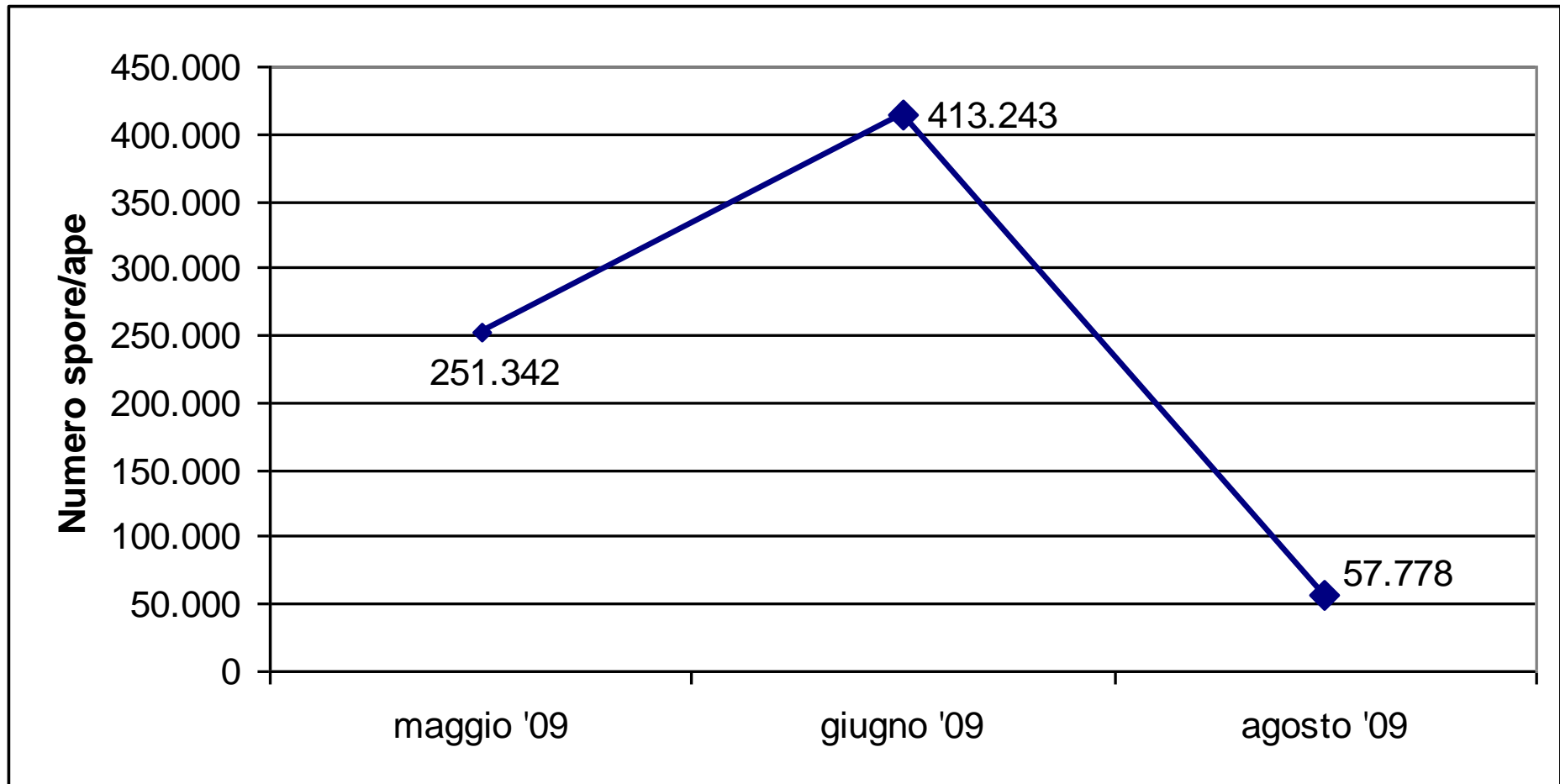
Nosema spp.:
andamento dell'infezione

N. apis

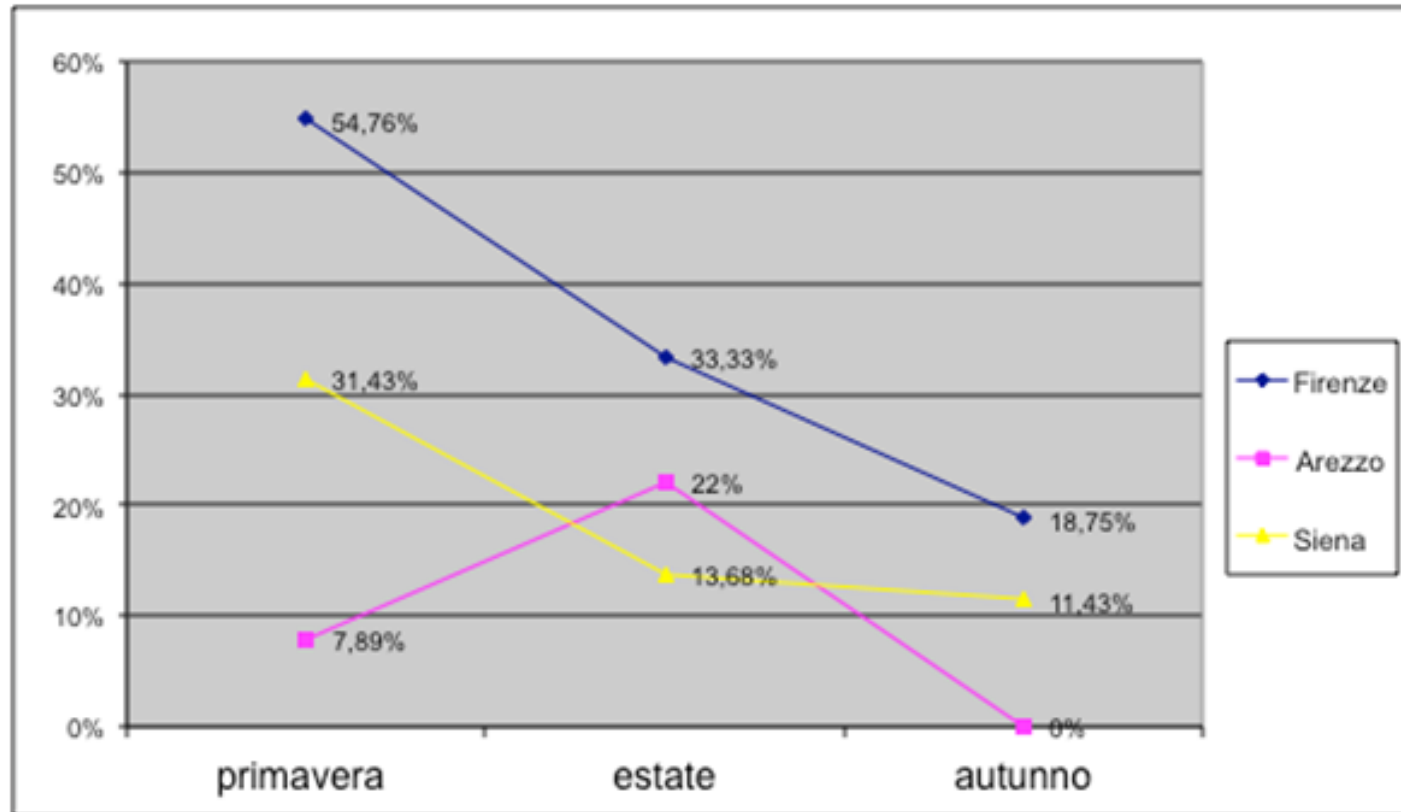


Picco primaverile (umidità, molte bottinatrici anziane).
Non a caso “spopolamento primaverile”.

N. ceranae nel centro Italia (2009)



N. ceranae (monitoraggio Apenet-Toscana – 2010)

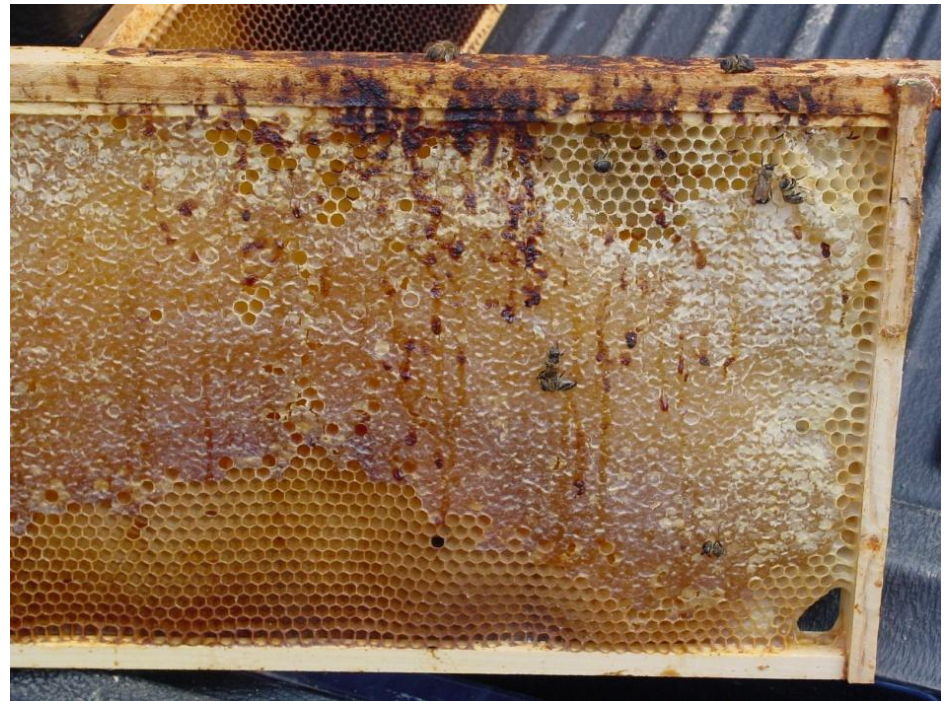


Andamento stagionale dell'infezione da *Nosema ceranae* nei tre moduli durante il primo anno di monitoraggio.

Sintomatologia

Nosema apis:

forma enterica classica, associata a
“spopolamento primaverile” delle famiglie.



Sintomi

Api malate con
addome rigonfio

Ape sana

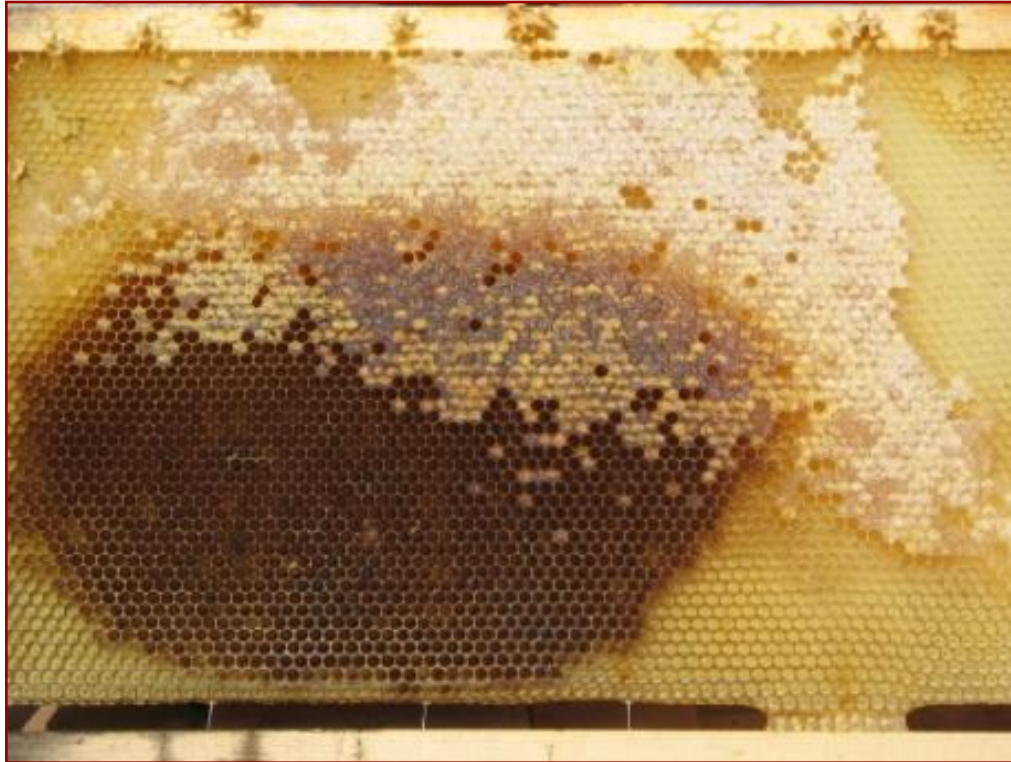


Nosema ceranae: le bottinatrici muoiono lontano dall'alveare. Assenza di diarrea.

Higes la considera responsabile di fenomeni di spopolamento degli alveari. Nell'arco di 18 mesi:

- Fase 1 (o fase asintomatica): meno del 60% delle bottinatrici sono infette.
- Fase 2 (o fase di rimpiazzo): aumento deposizione della regina durante i mesi invernali, a fronte di un aumento della mortalità delle larve. Viene rinvenuto nelle bottinatrici un maggior numero di spore.

- Fase 3 (o di falso recupero): inizia nella primavera successiva in cui la famiglia depone di più; da giugno però la popolazione di api tende a diminuire ed il patogeno ricomincia ad avere il sopravvento. Aumenta quindi la percentuale di api infette.



- Fase 4 (o di spopolamento) tra settembre e novembre. Cresce progressivamente la % di bottinatrici infette ($> 80\%$). Il numero di favi popolati si riduce drasticamente fino al ritrovamento di sole poche api (spesso con regina morta). Presenti scorte di miele e polline; ed in molti casi una piccola rosetta di covata opercolata.

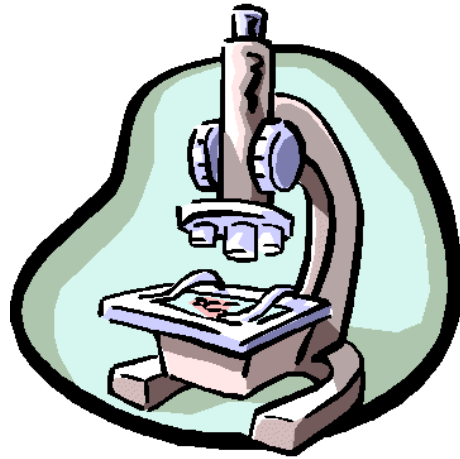






Di fatto, molti dati già pubblicati sul fenomeno dello spopolamento e morte degli alveari non sono riusciti a stabilire un rapporto di causa-effetto tra l'infezione e lo spopolamento e morte delle famiglie.

Diagnostica di laboratorio



Campionamento

Prelevare attorno a **mezzogiorno almeno 30 bottinatrici** dal predellino di volo dell'alveare.
Metterle in un barattolo o sacchetto **presto/chiuso**



Conservare i campioni alla T° di congelamento fino all'arrivo in laboratorio



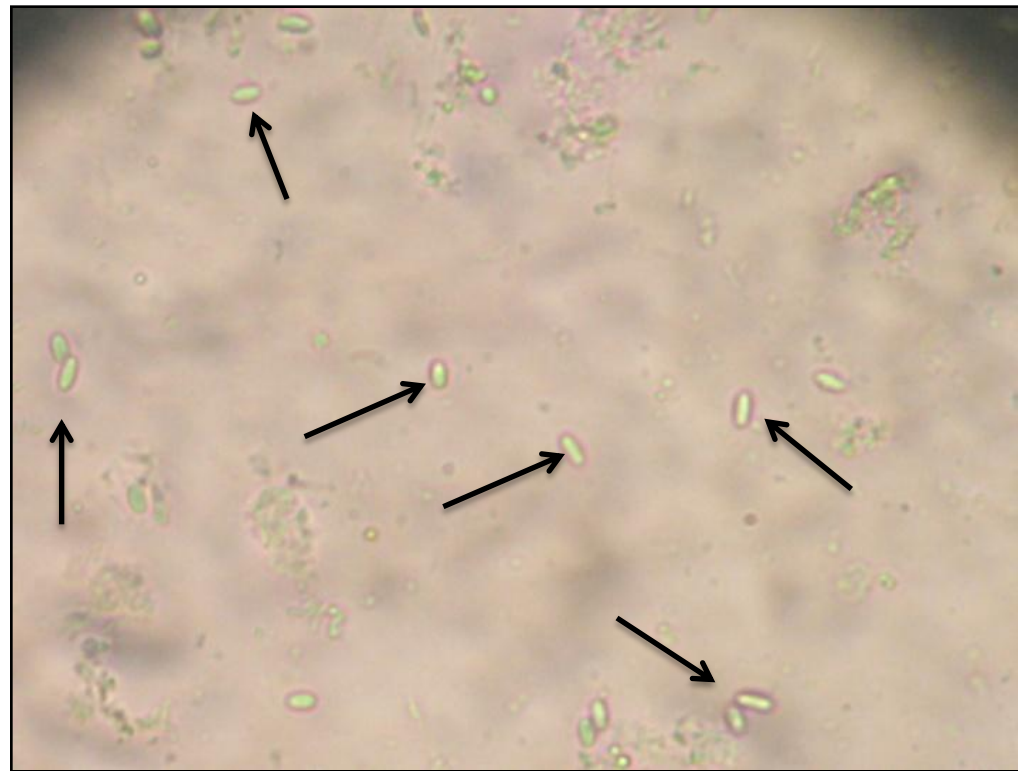
Esame microscopico

Presenza/assenza *Nosema spp.*

Al microscopio ottico
visualizziamo le spore:
ovali e rifrangenti

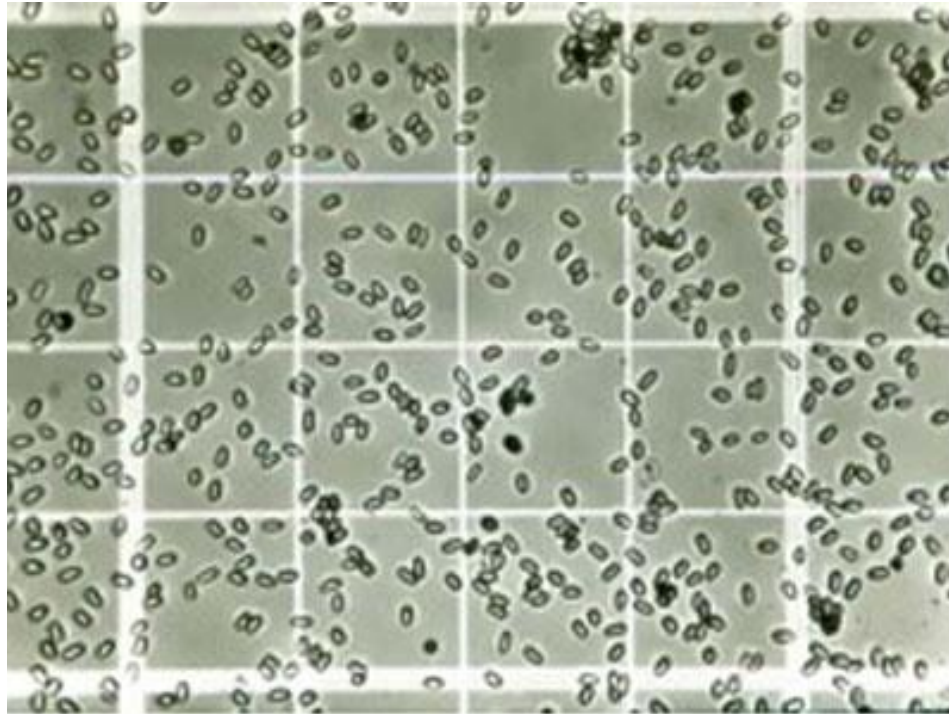
N.ceranae: 4,4 μm x 2,2 μm

N.apis : 6 μm x 3 μm



Ingrandimento 40X

Conta spore di *Nosema spp.*



Camera di Burker

LIVELLI DI INFEZIONE

BASSO: < 100.000 spore/ape

MEDIO: tra 100.000 e 1 milione spore/ape

ALTO: > 1 milione spore/ape

Microscopia elettronica

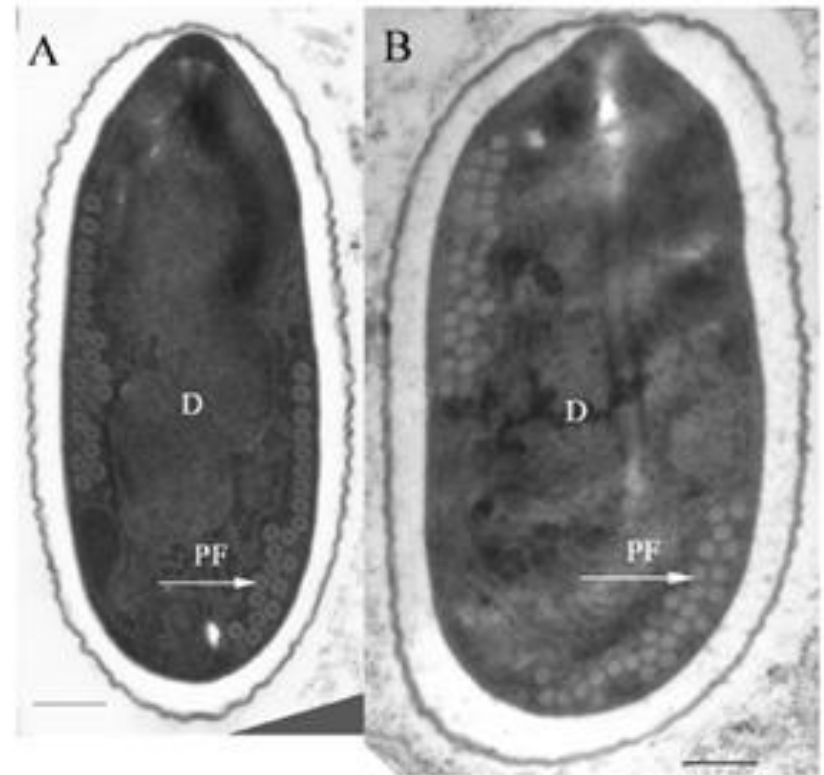
In grado di differenziare le due specie in base al numero di **eliche del filamento polare**

N.ceranae: 20 – 23

N.apis: > 30

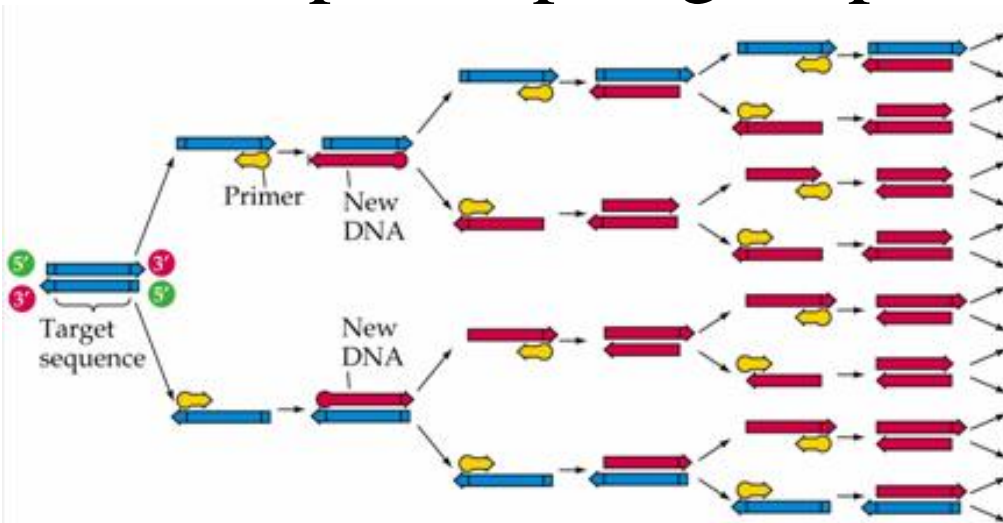
N. ceranae

N. apis



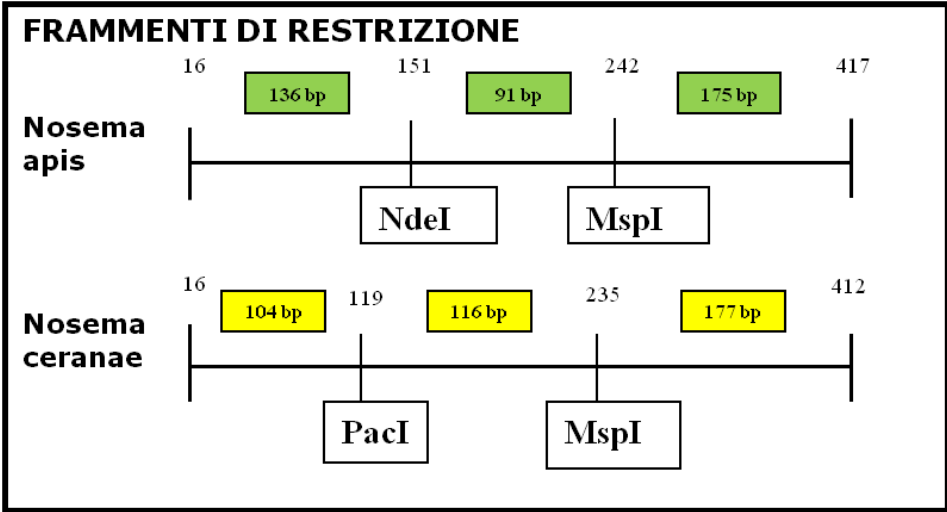
TECNICHE BIOMOLECOLARI

Esistono diversi protocolli di Polymerase Chain Reaction (PCR) in grado di distinguere i due microsporidi patogeni per *Apis mellifera*



Identificazione di specie!
Nosema ceranae/N. apis

- **PCR - RFLP** (Klee et al., 2007; Tapaszti et al., 2009)



- **Real-Time PCR**
(Cox-Foster et al., 2007; Chen et al., 2009; Bourgeois et al., 2010)

- **Uniplex PCR** con primer specie specifici (Chen et al., 2008)

- **Multiplex PCR** (Martin-Hernandez et al., 2007) raccomandato dall'OIE

Malattie denunciabili delle api

(DPR 320/1954- RPV)

1. Peste europea
2. Peste americana
3. **Nosemiasi**
4. Acariasi
5. Varroatosi (O.M 21/4/1983 e OM 17/2/1995)
6. Aethinosi e Tropilaelapsosi
(O.M. 20/04/2004)

Misure previste dal RPV

Art 154

- Sequestro apiario
- Divieto di movimentare api, arnie e materiale
- Divieto di asportare il miele e cera se non sterilizzati
- Divieto di ripopolamento se non previa disinfezione
- sono sospetti tutti gli apiari presenti nel raggio di 3 km (raggio di volo)

Art 155

- Per Peste americana e europea :
 - se malattia allo stadio iniziale possibili trattamenti curativi
 - in alternativa distruzione delle arnie infette e delle famiglie
 - l'apiario trattato deve essere sottoposto a esami di controllo sino a risanamento accertato

Art 156

- Anche per Nosemiasi e acariasi gli apiari infetti o sospetti possono essere sottoposti a opportuni trattamenti curativi



Ministero della Salute

DIPARTIMENTO DELLA SANITA' PUBBLICA VETERINARIA, DELLA SICUREZZA
ALIMENTARE E DEGLI ORGANI COLLEGIALI PER LA TUTELA DELLA SALUTE
DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio II ex DGSA - Sanità animale ed anagrafi:
Viale Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma

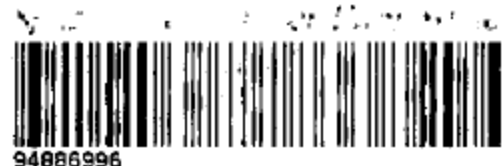
Registro - classif:
Allegati:

OGGETTO: Regolamento di polizia veterinaria- misure per nosemiasi.

Ministero della Salute

DGSA

0017114-P-01/10/2011



Regioni e Province autonome
Assessorati alla sanita'

Servizi veterinari
e.p.c.
Centro di referenza per le malattie
delle api
IZS -Padova

- Il Ministero della Salute ha richiesto un parere al Centro di referenza circa l'applicabilità delle misure contenute nel RPV sia per *Nosema apis* che per *Nosema ceranae*.

Il Centro di Referenza sottolinea che per *Nosema ceranae*:

- A) non vi sono al momento farmaci autorizzati;
- B) la presenza di spore di *N. ceranae* nell'intestino di api sia evento frequente e non associato a malattia clinica

Parere del Ministero della salute

“Misure per la nosemiasi” (01/10/2011)

- Le misure previste dal RPV si applicano solo nei casi di Nosemiasi **cl clinicamente** ~~X~~ **manifesti** da ~~X~~ *apis*.
- Per i casi di *N. ceranae* si dovrà fare riferimento alle **BPA** ed all'impiego di **mangimi complementari** in grado di ridurre la carica intestinale di spore.

Nosema ceranae: come intervenire

BPA



La fumagillina non è più in commercio in Italia dal 01/01/2002. In passato si utilizzata a scopo “preventivo” in autunno ed a fine inverno.

Oggi, la fumagillina è autorizzata in UK. E' stata autorizzata solo in via temporanea in Spagna (2002-2008) e Slovenia (2010).

Buone Pratiche Apistiche (BPA)

1. Corretto posizionamento degli apiari (postazioni soleggiate ed asciutte d'inverno) e degli alveari (orientati a sud-est);
2. rispettare le generali regole di igiene (soprattutto per la pulizia e disinfezione delle arnie prima di riutilizzarle per una nuova famiglia);
3. evitare di spostare telaini tra famiglie diverse;

- 4) evitare di somministrare miele o polline alle api (preferire candito, amido di mais, etc.);
- 5) sostituire le api regine ogni 2 anni;
- 6) sostituire i 3-5 telaini/alveare/anno;
- 7) somministrare in autunno ed a fine inverno/primavera mangimi adeguati quali: Api Herb o Vita Feed Gold.

Valutazione efficacia di 2 prodotti naturali per il controllo dell'infezione da *N. ceranae*

(Giacomelli et al., *Apimondia Italia* – n. 1/2 • 2011)

API HERB ®

Mangime complementare a base di essenze vegetali essiccate e vitamine



VITA FEED GOLD ®

Mangime complementare (dichiarato: Integratore alimentare) biostimolante a base di estratti di melassa e *Beta vulgaris*, varietà altissima



20 alveari colpiti da *N. ceranae*

5 famiglie trattate con Api Herb ®

5 famiglie trattate con Vita Feed Gold ®

10 famiglie non sottoposte a trattamento



I mangimi complementari

Interventi

- **Api Herb**

Mangime Complementare per Api

Composizione: Destrosio, Sostanze aromatiche Vegetali essiccate, Aromi naturali, Vit. B1 - B2 - B6

Diluire 40 gr. (una busta) in 0,5 litro di sciroppo zuccherino

Gocciolare tra i favi 50 ml x arnia (10 arnie)

Ripetere x 3 settimane nel periodo primavera - autunno



Interventi

- **Vitafeed Gold**

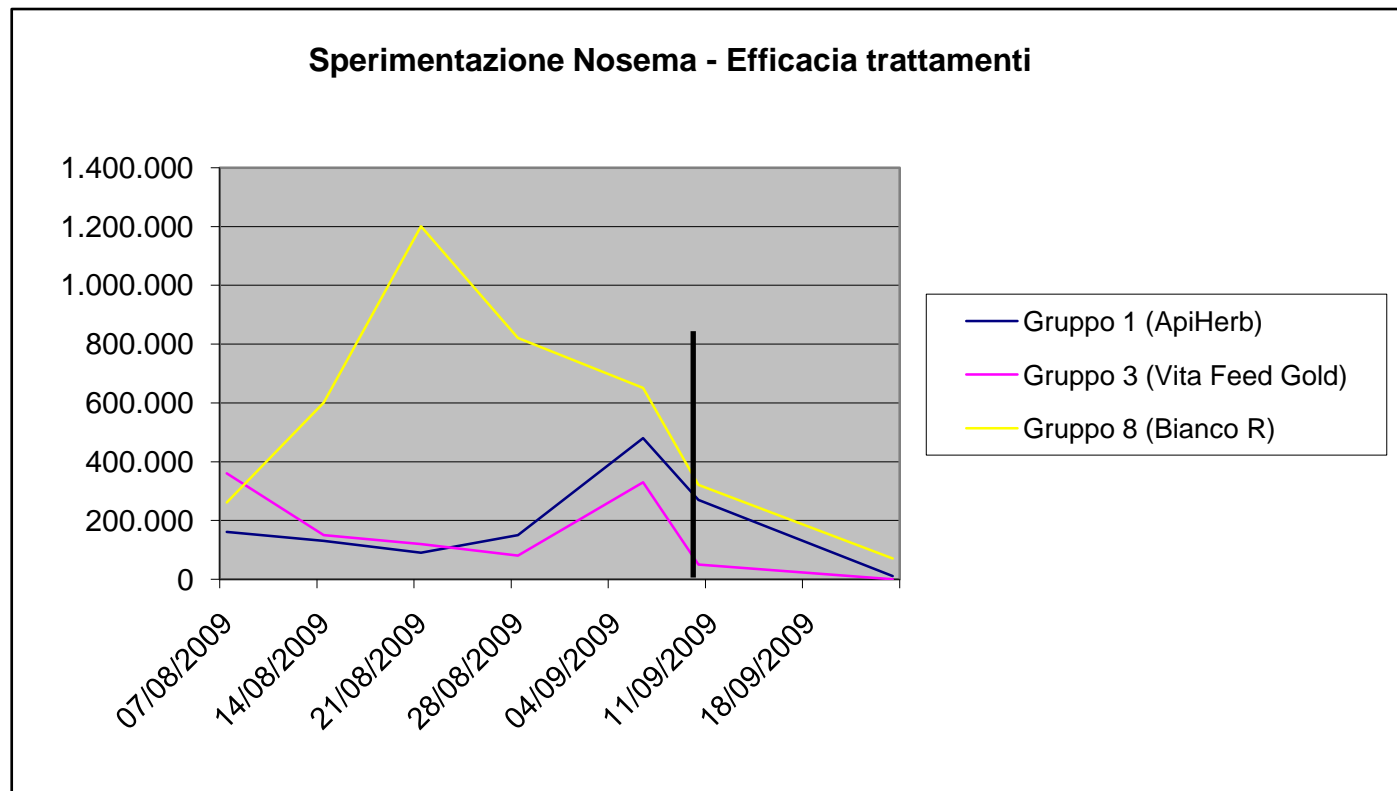
Integratore Biostimolante - Estratto di erbe

Diluire 100 ml di soluzione x 900 ml di soluzione Zuccherina

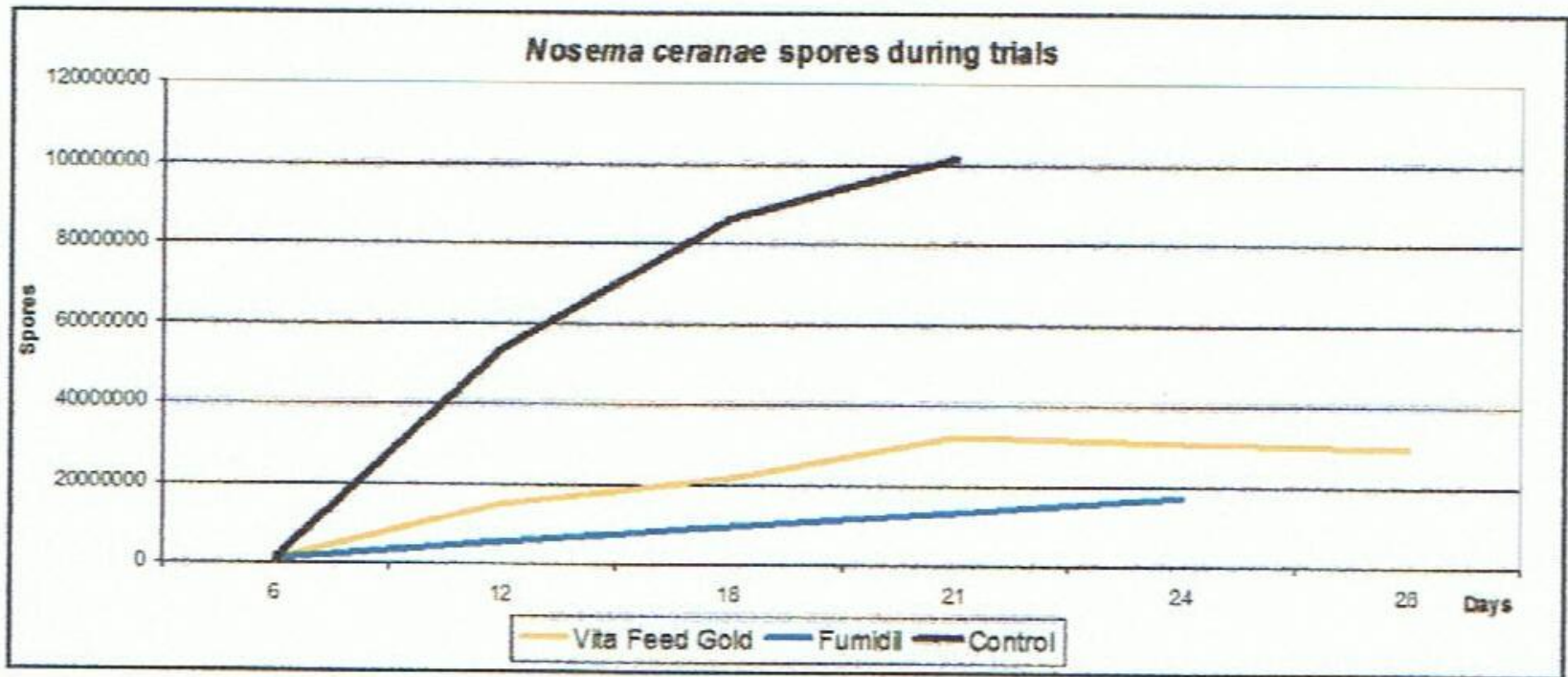
Gocciolare 100 ml per famiglia
Per 3 - 5 settimane



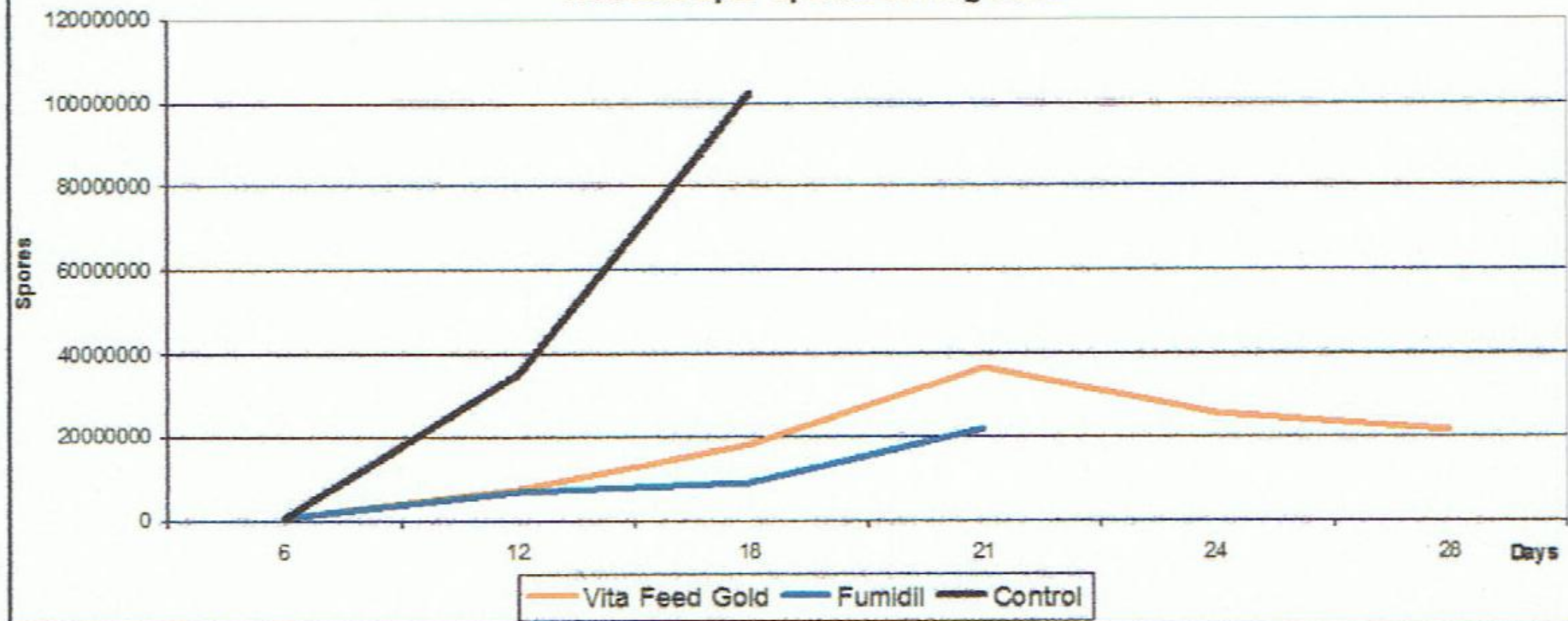
GRUPPI	TRATTAMENTO	DOSAGGIO PER ALVEARE	FREQUENZA DI TRATTAMENTO
1	Api Herb [®]	50 ml	1 volta/ settimana per 6 settimane
3	Vita Feed Gold [®]	100 ml	Ogni 3 giorni per 6 settimane
8R	Nessuno (solo sciroppo zuccherino)	100 ml	1 volta/ settimana per 6 settimane



Altri studi (Papachristoforou, 2011)



Nosema apis spores during trials



Conclusioni

**Trattamenti con
Api Herb e
Vitafeed Gold
per 6 settimane:
entrambi i prodotti
riducono il livello di
infezione**

Vitafeed GOLD:
sembra contenere
maggiormente l'infezione
per tutte le 6 settimane di
trattamento

API Herb:
sembra contenere
l'infezione soprattutto
nelle prime 3 settimane di
trattamento

Grazie dell'attenzione!

