

Monitoreo de loque americana (*Paenibacillus larvae*) en apiarios de la región este-noreste del Uruguay

Nota técnica

American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) monitoring in apiaries of
the east-northeast region of Uruguay

Monitoramento da Loque Americana (*Paenibacillus larvae*) em
apiários na região leste-nordeste do Uruguai

Juan Pablo Campa ¹ 0009-0004-1018-8833

Ximena Salaverry ² 0009-0001-6119-684X

Helena Katz ¹ 0000-0002-8049-7226

¹ Sección Apicultura, División de Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino" (Dilave), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Montevideo, Uruguay.

Autor para correspondencia: jcampa@mgap.gub.uy

² Laboratorio de Bacteriología, División de Laboratorios Veterinarios "Miguel C. Rubino" (Dilave), Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP). Montevideo, Uruguay.

Veterinaria (Montevideo) Volumen 60
Nº 222 (2024 Jul - Dic) e20246022202



DOI:10.29155/VET.60.222.5

Recibido: 06/06/2023
Aceptado: 15/05/2024

Resumen

La loque americana (LA) (*Paenibacillus larvae*) es una enfermedad bacteriana que afecta a las abejas (*Apis mellifera*), en particular a la etapa larvaria, y puede causar graves efectos sobre la salud de las colmenas. Las esporas pueden mantenerse en forma latente en la miel sin desarrollar síntomas, por lo que es posible realizar su aislamiento en colmenas aparentemente sanas. La presencia de esporas en miel constituye además una importante limitación para el comercio internacional. En el Uruguay esta enfermedad se encuentra, en la actualidad, con una baja prevalencia. El objetivo del presente trabajo fue realizar el monitoreo de mieles en la zona este-noreste del país, regiones donde nunca se han reportado casos clínicos de esta enfermedad. Durante la zafra 2021-2022 (setiembre-febrero) se colectaron muestras de miel (n=80) en los departamentos de Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja y Maldonado. En ninguna de las muestras se aislaron colonias de *P. larvae*. Los resultados indican que es posible establecer zonas libres de LA. Las actividades de investigación y extensión con los apicultores son fundamentales para mantener y desarrollar buenas prácticas apícolas vinculadas a la sanidad de las abejas, así como para la obtención de mieles diferenciadas que puedan tener mejores condiciones para la exportación a mercados específicos.

Palabras clave: Apiarios, Loque americana, Miel, Monitoreo, *Paenibacillus larvae*.

Abstract

American foulbrood (AF) (*Paenibacillus larvae*) is a bacterial disease that affects bees (*Apis mellifera*), particularly their larvae stage, and can cause serious effects on the health of hives. The spores can remain latent in honey without developing symptoms, so it is possible to isolate the bacteria from apparently healthy colonies. The presence of spores in honey is also an important limitation for international trade. In Uruguay this disease is currently with a low prevalence. The objective of this work was to make an AF surveillance of honey in the east-northeast area of the country, where clinical cases of this disease have never been reported. During the 2021-2022 harvest season (September-February), honey samples (n=80) were collected from the departments of Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja and Maldonado. In none of the honey samples were isolated colonies of *P. larvae*. The results indicate that it is possible to establish AF-free zones. Research and extension activities with beekeepers are essential to maintain and develop good beekeeping practices linked to the health of bees, as well as to obtain differentiated honeys that may have better conditions for export to specific markets.

Keywords: Apiaries, American fulbrood, Honey, Surveillance, *Paenibacillus larvae*.

Resumo

A loque americana (AL) (*Paenibacillus larvae*) é uma doença bacteriana que afeta as abelhas (*Apis mellifera*), principalmente na fase larval, podendo causar sérios efeitos na saúde das colmeias. Os esporos podem permanecer latentes no mel sem desenvolver sintomas, por isso é possível isolá-los de colmeias aparentemente saudáveis. A presença de esporos no mel também é uma limitação importante para o comércio internacional. No Uruguai esta doença está atualmente com baixa prevalência. O objetivo deste trabalho foi monitorar o mel na região leste-nordeste do país, regiões onde nunca foram relatados casos clínicos desta doença. Durante a safra 2021-2022 (setembro-fevereiro), foram coletadas amostras de mel (n=80) dos departamentos de Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja e Maldonado. Em nenhuma das amostras foram isoladas colônias de *P. larvae*. Os resultados indicam que é possível estabelecer zonas livres de LA. Atividades de pesquisa e extensão com apicultores são essenciais para manter e desenvolver boas práticas apícolas ligadas à sanidade das abelhas, bem como obter méis diferenciados que possam ter melhores condições de exportação para mercados específicos.

Palavras-chave: Apíários, Loque americana, Mel, Monitoramento, *Paenibacillus larvae*.

Introducción

Las abejas melíferas (*Apis mellifera*) son susceptibles a numerosas enfermedades

infecciosas y parasitarias que afectan su salud. Dentro del conjunto de enfermedades descritas para Uruguay, las que mayor impacto han tenido son la varroasis (ácaro *Varroa destructor*) y la loque americana (LA) (bacteria *Paenibacillus larvae*). Estos patógenos pueden generar pérdida de colmenas, reducción de su productividad o, indirectamente, afectar la comercialización de la miel con destino a la exportación (Invernizzi et al., 2011; Van Engelsdorp y Meixner, 2010). En los apiarios comerciales, los apicultores deben conocer y reconocer las diferentes enfermedades para desarrollar las mejores estrategias de control. Estos aspectos son fundamentales, ya que el manejo de las colmenas y los tratamientos zoterápicos y zotécnicos tienen importancia para la sanidad de las abejas, así como para aspectos vinculados a la inocuidad de la miel (y otros productos de las abejas) y su comercialización.

La loque americana es una enfermedad bacteriana que tiene importancia tanto para la salud de las abejas como para la comercialización de la miel. Afecta solo a las crías de abejas y provoca la muerte de larvas y pupas. Esta enfermedad es de declaración obligatoria en el país y en la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA, 2014, 2018), por lo que la miel que contenga esporas puede tener limitaciones comerciales con países libres de LA. Si bien la bacteria se desarrolla en la cría, específicamente en el tubo digestivo, presenta también una fase esporulada de resistencia, la cual se mantiene viable en la miel, cera y material apícola durante más de 30 años (Genersch et al., 2010); estas características determinan vías de contagio y dispersión de la enfermedad entre diferentes colmenas y apiarios (Matović et al., 2023).

Clínicamente, la LA fue detectada en apiarios del Uruguay en 1998 y aislada por primera vez en el 2000 (Piccini y Zunino, 2001). Desde entonces, se han realizado relevamientos para analizar la evolución y distribución de la enfermedad en nuestro territorio. Inicialmente se observó que apiarios de la zona del litoral oeste eran los más afectados y, de forma gradual, se fue reduciendo hasta abarcar solo al departamento de Soriano (Antúnez et al., 2004, 2012). Es importante destacar que las colmenas relevadas en el 2011 no presentaban signos clínicos, sino que fueron aisladas esporas en dos muestras de miel (n=103, prevalencia 2 %). El relevamiento realizado en el 2021 mostró un aumento en la distribución territorial, manteniendo aún una baja prevalencia de muestras de miel positivas (10 %) (Antúnez, 2022).

En nuestro país existen diferencias regionales sobre las prácticas apícolas y el manejo de las colmenas; mientras que el litoral oeste y la zona centro-sur se caracterizan por la alta densidad de colmenas y las prácticas apícolas intensivas, la zona este del Uruguay posee menor número de apicultores, menor densidad de apiarios (Registro Nacional de Propietarios de Colmenas-RNPC-2021), así como prácticas apícolas más sencillas. Sumado a esto, en la zona este, hasta la fecha, no se han reportado colmenas con síntomas clínicos de LA. Coincidentemente, es en esta misma región donde las abejas presentan un mayor grado

de africanización (híbridos de *A. mellifera scutellata* y *A. mellifera mellifera*) (Branchiccela et al., 2014; Diniz et al., 2003) y expresan un mayor comportamiento higiénico (Mendoza, 2018). A su vez, se ha demostrado que este comportamiento se asocia a la capacidad de las abejas para detectar, desopercular y remover la cría enferma de la celda antes que las bacterias de la LA alcancen el estado esporulado de diseminación de la enfermedad (Spivak y Danka, 2021).

Con base en estos antecedentes se planteó la hipótesis de que es posible encontrar zonas del Uruguay cuyas colmenas se encuentren libres de LA. El objetivo del presente trabajo fue determinar la presencia de LA en mieles de la región este-noreste del Uruguay, específicamente en los departamentos de Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja y Maldonado.

Materiales y métodos

El muestreo fue realizado desde setiembre del 2021 a febrero del 2022. Para la selección de apiarios se incluyeron apicultores inscriptos en el RNPC, con más de 150 colmenas declaradas, cuyos apiarios fuesen fijos y reprodujeran su propio material biológico (tabla 1). Los apiarios están en su totalidad georreferenciados (figura 1) e incluyen apicultores de los departamentos de Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja y Maldonado. Ninguno de los apiarios recibió alimentación en primavera (previo a la primera cosecha); parte de los apicultores no realizaron tratamiento contra varroa y aquellos que lo hicieron solo utilizaron productos orgánicos (tiras de cartón con ácido oxálico).

Durante la primera cosecha, se recolectaron muestras de miel directamente a la salida de la centrífuga de extracción, indicando el apiario específico de origen de acuerdo a los registros de trazabilidad del apicultor. Las muestras de miel (n=2 por apiario) fueron colectadas en frascos estériles (150 ml), rotuladas y conservadas en lugar fresco, a temperatura ambiente, hasta su procesamiento. Las muestras (n=80) fueron derivadas al Laboratorio de Bacteriología (MGAP-Dilave).

Los cultivos se realizaron mediante técnicas específicas para el aislamiento de *P. larvae*, de acuerdo a lo descrito en Antúnez et al. (2004) y OMSA (2018). Se procedió de la siguiente manera: se tomaron 20 g de miel por muestra, se diluyeron en agua destilada (1:1), centrifugado (6000 g/40 min). Se descartó el sobrenadante y los pellets se re suspendieron en 2 ml de PBS estéril. Luego se incubaron a 80 °C durante 15 min, se sembró en medio J (con y sin ácido nalidíxico) y se incubó a 37 °C con CO₂. En forma paralela, a cada incubación, se sembró un control positivo de *P. larvae* (control obtenido del muestreo de año anterior, confirmado por PCR, Laboratorio de Bacteriología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable-IIBCE), de forma de validar cada proceso de cultivo de muestras. Las colonias sospechosas se analizaron mediante pruebas bioquímicas y la confirmación de su

identidad se realizó mediante PCR utilizando primers específicos para *P. larvae* en el IIBCE.

Tabla 1. Distribución de muestras obtenidas, apicultores, apiarios y colmenas por departamento (*)

| Departamento | N.º de apicultores registrados | Cantidad de apiarios declarados | Cantidad de colmenas declaradas | N.º de muestras obtenidas | N.º de aislamientos de LA |
|----------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Rivera | 355 | 689 | 52 397 | 19 | 0 |
| Cerro Largo | 142 | 634 | 20 629 | 21 | 0 |
| Treinta y Tres | 76 | 235 | 6772 | 8 | 0 |
| Rocha | 92 | 232 | 9036 | 10 | 0 |
| Lavalleja | 110 | 325 | 10 178 | 13 | 0 |
| Maldonado | 132 | 442 | 12 737 | 9 | 0 |
| Total | 907 | 2 557 | 111 749 | 80 | 0 |

(*) Datos obtenidos del Sinatpa-MGAP-2021

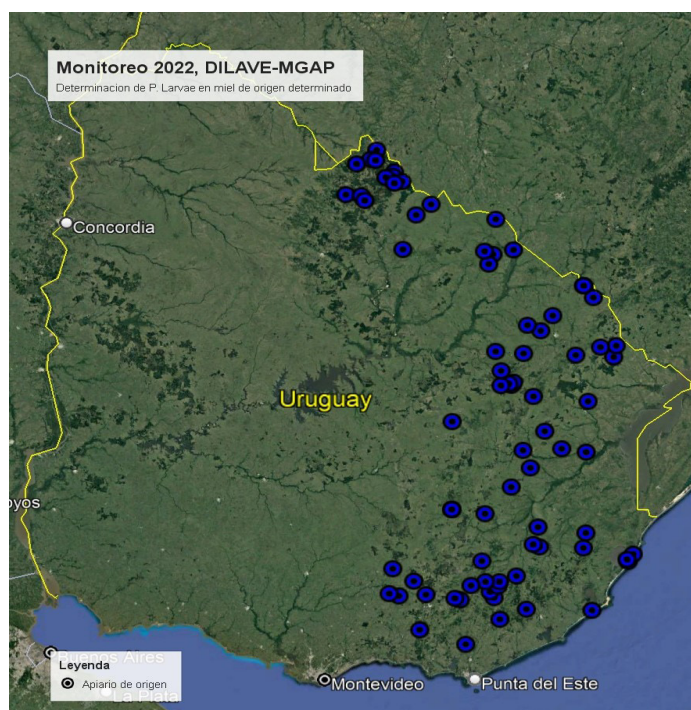


Figura 1: Distribución de los apiarios (puntos azules) muestreados en la zona este-noreste del Uruguay (Rivera, Cerro Largo, Treinta y Tres, Rocha, Lavalleja y Maldonado)

Resultados

Del total de las muestras analizadas (n=80) no se obtuvieron aislamientos de colonias de LA (*P. larvae*). Los resultados fueron informados a cada apicultor incluido en el muestreo.

Discusión y conclusiones

Estos resultados indican que es posible obtener mieles libres de esporas de LA en

apiarios de la región este-noreste del Uruguay y confirma los hallazgos de la tendencia observada con el monitoreo nacional en el 2021 (Antúnez, 2022). Para lograr esta condición a largo plazo es fundamental mantener actividades de monitoreo y capacitación continua dirigido a los apicultores (Antúnez et al., 2012), en particular asociado a buenas prácticas apícolas (detección temprana, recambio de material, eliminación de colmenas positivas, no alimentar colmenas con miel, etc.) y registros productivos (cuaderno de campo). Los resultados confirman las observaciones de campo y la ausencia hasta la fecha de casos con síntomas clínicos de LA en los departamentos incluidos en el muestreo. Si bien las abejas africanizadas, por su comportamiento defensivo, exigen un manejo más laborioso (Mendoza, 2018), la selección de líneas que expresen un buen comportamiento higiénico se asocia a apiarios con menor incidencia de enfermedades (Invernizzi et al., 2011; Spivak y Danka, 2021).

En suma, la investigación de campo y de laboratorio constituyen una herramienta fundamental para el monitoreo y vigilancia epidemiológica de las enfermedades de la colmena que afectan la producción de miel. Los hallazgos obtenidos también son un aporte al sector productivo vinculada a la exportación, ya que existen demandas específicas de determinados mercados con requerimientos sanitarios de mieles libres de esporas de esta bacteria. De esta manera, mieles cosechadas en zonas con monitoreos negativos a LA tendrán mayor probabilidad de exportarse a mercados específicos. El trabajo continuo de educación y extensión con apicultores es un pilar clave para el mantenimiento y mejora del estatus sanitario de las abejas, así como la aplicación de buenas prácticas en todos los componentes de la producción apícola.

Agradecimientos

Este trabajo fue posible gracias a la colaboración de numerosos productores que se involucraron con esta iniciativa. Agradecemos al Laboratorio de Bacteriología del Instituto de Investigaciones Biológicas “Clemente Estable” (IIBCE) (Dra. K. Antúnez y equipo), por su apoyo en la realización de las pruebas moleculares.

Referencias

- Antúnez, K. (2022). Plagas y patógenos que afectan a las abejas melíferas. En *Jornadas Técnicas INIA. Desafíos y oportunidades para la apicultura en un contexto de transformación*. INIA Las Brujas, Uruguay.
- Antúnez, K., Anido, M., Branchiccela, B., Harriet, J., Campa, J., y Zunino, P. (2012). American foulbrood in Uruguay: Twelve years from its first report. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110, 129-131.
- Antúnez, K., D’Alessandro, B., Piccini, C., Corbella, E., y Zunino, P. (2004). Paenibacillus larvae

larvae spores in honey samples from Uruguay: a nationwide survey. *Journal of Invertebrate Pathology*, 86, 56-58.

- Branchiccela, B., Aguirre, C., Parra, G., Estay, P., y Zunino, P. (2014). Genetic changes in *Apis mellifera* after 40 years of Africanization. *Apidologie*, 45(6), 752-756. Recuperado de https://hal.science/hal-01234776/file/13592_2014_Article_293.pdf
- Diniz, N.M., Soares, A.E.G., Sheppard, W.S., y Del Lama, M.A. (2003). Genetic structure of honeybee populations from southern Brazil and Uruguay. *Genetics and Molecular Research*, 26, 47-52.
- Genersch, E., Von Der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., y Rosenkranz, P. (2010). The German bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3), 905, 332-352.
- Invernizzi, C., Antúnez, K., Campa, J.P., Harriet, J., Mendoza, Y., Santos, E., y Zunino, P. (2011). Situación sanitaria de las abejas melíferas en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 47(181), 15-27.
- Matović, K., Žarković, A., Debeljak, Z., Vidanović, D., Vasković, N., Tešović, B., y Ćirić, J. (2023). American Foulbrood—Old and Always New Challenge. *Veterinary Sciences*, 10(3), 180. <https://doi.org/10.3390/vetsci10030180>
- Mendoza, Y. (2018). *Factores asociados a la virulencia diferencial del ectoparásito Varroa destructor en las abejas Apis mellifera en Uruguay* (Tesis de Maestría). Facultad de Agronomía. Udelar, Montevideo.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2014). Loque americana de las abejas melífera. En *Código sanitario para los animales terrestres OIE* (23th ed., Vol. 2, pp. 504-506). París: OIE.
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2018). Loque americana de las abejas melífera (infección de las abejas melíferas por *paenibacillus* larvae). En *Manual terrestre de la OIE* (pp. 1-19). Recuperado de <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/3-02-02-loque-americana.pdf>
- Piccini, C., y Zunino, P. (2001). American foulbrood in Uruguay: isolation of *Paenibacillus larvae* larvae from larvae with clinical symptoms and adult honeybees and susceptibility to oxytetracycline. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78, 176-177.
- Spivak, M., y Danka, R.G. (2021). Perspectives on hygienic behavior in *Apis mellifera* and other social insects. *Apidologie*, 52, 1-16.
- Van Engelsdorp, P., y Meixner, M.D. (2010). A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S80-S95.

Nota de contribución

1. Conceptualización, 2. Curación de datos, 3. Análisis formal, 4. Adquisición de financiación, 5. Investigación, 6. Metodología, 7. Administración de proyecto, 8. Escritura-borrador original.

Juan Campa ha contribuido en 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8. Ximena Salaverry ha contribuido en 3, 4, 5 y 8. Helena Katz ha contribuido en 2, 3, 6, 8

Nota del editor

La editora Cecilia Cajarville aprobó este artículo.