

## SCHEDA SULLE MALATTIE PESTOSE

Vengono di seguito trattate la peste americana e la peste europea delle api in un'unica scheda, dal momento che le buone pratiche apistiche da applicare per la loro prevenzione ed il loro controllo sono di fatto sovrapponibili.

### 1. LA PESTE AMERICANA

#### Introduzione

La peste americana è la più grave e diffusa patologia infettiva delle api che colpisce la covata ed è causata da un batterio sporigeno che causa notevoli perdite economiche in l'apicoltura. Il termine "americana" non deve trarre in inganno in quanto la malattia non è stata importata dall'America, ma è stata studiata ed identificata in quel continente. La peste americana è soggetta a denuncia e a misure di Polizia Veterinaria.

#### Eziologia

L'agente responsabile della peste americana è un batterio sporigeno, il *Paenibacillus larvae* (*P. larvae*). Le spore rappresentano la sua forma di resistenza (ad esempio, sono in grado di resistere diversi minuti alla temperatura di 100° C) e di propagazione nell'ambiente.

Da una sola spora, in un ambiente adatto (come quello presente nell'intestino delle larve), dopo 30 minuti si forma il bacillo (Fig. 1) che, moltiplicandosi, dopo solo 24 ore riesce ad originare altri 250 milioni di nuovi bacilli.



**Figura 1** – Bacillo (a dx in basso) e spora (a sx in alto) di *P. larvae*  
(Foto Giusy Cardeti e Giovanni Formato)

In un'arnia che ha ospitato una famiglia infetta, le spore della peste possono rimanere vitali per più di 30 anni, potendo così trasmettere la malattia alle api che vi saranno immesse. L'elevata resistenza nell'ambiente, unitamente alla prognosi fortemente infausta di questa malattia, spiega come mai, nelle forme gravi di malattia conclamata, l'unico rimedio consista nella distruzione per mezzo del fuoco sia delle famiglie che dei favi infetti.

Le larve delle api nelle prime 24 ore di vita sono particolarmente sensibili al *P. larvae*. Dopo 7 giorni dall'infezione e quindi a celletta già opercolata, le larve infette sopraggiungono a morte ed a questo punto il *P. larvae*, non trovando più idonee condizioni di sviluppo, si trasforma di nuovo in spora.

#### Sintomatologia

La comparsa dei sintomi in una famiglia è condizionata da diversi fattori: la resistenza delle larve (per età, genotipo), le proprietà antibatteriche della gelatina reale e del polline (acidi grassi, peptidi

e proteine), il filtro del pro-ventricolo, la microflora intestinale antagonista e l'attività igienica delle api adulte. A questi si associano fattori ambientali quali la presenza di raccolto e le condizioni climatiche e il grado di virulenza e la quantità di spore presenti: è stato accertato che occorrono almeno 50 milioni di spore perché si manifesti la malattia in una famiglia di media consistenza. Questo numero può sembrare imponente, ma in realtà non lo è, in quanto basta considerare che una sola larva di ape morta di peste americana contiene circa 3 miliardi di spore. Si può quindi comprendere come questa affezione non vada sottovalutata anche per le difficoltà legate alla eliminazione dell'agente eziologico e alla facilità di diffusione.

La covata colpita dalla malattia è caratterizzata da una elevata mortalità e quindi all'esame visivo il favo presenta una covata "non compatta" o "a mosaico" (Fig. 2); alcuni opercoli sono più scuri della norma ed infossati o forati al centro. Inoltre si può percepire un odore fetido, acido, simile a colla di pesce tipico della covata putrefatta.



**Figura 2-** Covata non compatta, "sparsa", od "a mosaico" (foto C. Ferrari e G. Formato)

Le larve infette perdono la loro fisiologica colorazione bianco perlacea e divengono dapprima giallastre, poi di color nocciola scuro. Al tempo stesso assumono una consistenza viscosa, deliquescente, per azione di alcuni enzimi prodotti dal germe. Se introduciamo un bastoncino di legno (ad esempio uno stecchino od un fiammifero) nella cella infetta contenente la larva morta, nel ritrarlo si può formare un filamento patognomonico color nocciola di diversi centimetri che, rompendosi, si ritira elasticamente nella cella; questa prova di campo viene definita: "prova dello stecchino" (Fig. 3).



**Figura 3 -** Prova dello stecchino positiva (Foto G. Formato)

Dopo 6-7 settimane la larva morta ed ormai non più filante, si presenta essiccata e tenacemente adesa alle pareti della celletta sottoforma di piccole scaglie nerastre a forma di lingua. Queste

scaglie, come pure le larve morte deliquescenti, contengono una grande quantità di spore (> 3 miliardi).

### **Trasmissione**

La diffusione dell'infezione avviene soprattutto attraverso il saccheggio, lo scambio di favi da nido tra diverse famiglie, la nutrizione con miele o polline contaminati.

L'infezione si trasmette attraverso le spore, che ritroviamo in tutto il materiale presente negli alveari infetti ma soprattutto nei favi contenenti covata e scorte. Spore di *P. larvae* si possono infatti rinvenire nelle operaie, nel miele, nel polline, nella cera, sulle pareti dell'arnia ed anche sul predellino, in quanto le larve morte vengono trascinate fuori dell'alveare dalle api spazzine.

L'infezione delle giovani larve avviene per via orale, mediante l'alimento contenente spore che viene a loro somministrato dalle operaie. Quanto più le larve sono giovani, tanto più sono predisposte ad ammalarsi. Le api operaie, nel tentativo di ripulire le cellette occupate dalla covata morta di peste, imbrattano tutto il loro corpo e l'apparato boccale con i residui viscosi delle larve, divenendo dei vettori di spore per altre larve.

Poiché la famiglia ammalata risulta molto indebolita, può venire saccheggiata dalle famiglie più forti; è questo uno dei modi con cui la peste può trasmettersi da alveare ad alveare e da apiario ad apiario. Una famiglia sana e robusta che non abbia subito stress (fame, freddo, caldo) ed alla quale sono stati frequentemente cambiati i fogli cerei e sostituita la regina ogni 2 anni, più difficilmente si ammalerà; ma è proprio attraverso il saccheggio delle famiglie deboli ed infette, che anche le famiglie molto forti possono ammalarsi di peste.

Purtroppo a volte è lo stesso apicoltore, che con le normali operazioni apistiche, a favorire la diffusione della malattia. Questo può avvenire soprattutto mediante la leva (un classico errore è quello di usarla per fare la "prova dello stecchino"!), oppure mediante il trasferimento di materiale infetto attraverso lo spostamento di favi di covata o di miele, l'uso di attrezzi contaminati, la cattura o l'acquisto di sciami di incerta provenienza, la nutrizione effettuata con miele infetto, etc.

Fonte di contagio per alveari sani possono essere gli alveari abbandonati in genere, come pure quelli abbandonati dopo che sono stati usati per il servizio di impollinazione e quelli che sono stati abbandonati dopo che sono stati usati per la pratica del nomadismo. Anche il semplice mancato rinnovo dei fogli cerei del nido sostituendo 4 telaini/anno per alveare o la mancata sostituzione delle regine (ogni due/tre anni) può rappresentare un fattore di rischio per l'insorgenza di questa patologia. Non da ultimo, va anche considerato che esistono regine che risultano essere più o meno sensibili alla malattia, in base alle loro caratteristiche genetiche.

### **Diagnosi**

Diagnosticare la peste americana in modo corretto e tempestivo è indubbiamente una condizione fondamentale per una efficace profilassi dell'infezione.

Il percorso diagnostico prevede fondamentalmente due procedure distinte che corrispondono a due diversi stati dell'infezione: clinica o conclamata e sub-clinica o latente. Nel primo caso si tratta di riconoscere i sintomi di uno stato patologico in atto e di procedere quindi a ricercare l'agente eziologico in un campione opportunamente prelevato. Nel secondo caso invece, in assenza di sintomi di malattia, si vuole valutare la presenza sub-clinica dell'infezione, determinando analiticamente il livello di contaminazione dell'alveare con le spore di *P. larvae*. E' chiaro che a questi due approcci diagnostici corrispondono contesti epizootologici differenti: riconoscimento della malattia in atto, oppure monitoraggio preventivo.

**Riconoscimento della malattia in corso:** E' possibile formulare una diagnosi di campo dopo aver eseguito un attento esame della covata, associando i sintomi caratteristici sopra descritti alla positività della prova dello stecchino (Fig. 3). La sintomatologia è solitamente abbastanza esplicita. Nei casi dubbi si può ricorrere a kit per la diagnosi di campo reperibili in commercio, oppure ad un laboratorio di microbiologia specializzato nel settore (es. Istituto Zooprofilattico). In ogni caso, ogni

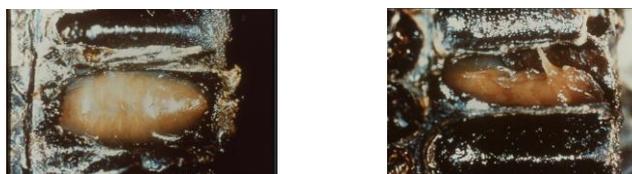
sospetto va comunicato ai Servizi Veterinari Pubblici.

La prognosi di questa malattia è sempre gravissima: quando in un alveare riscontriamo larve morte nello stadio filante, il destino della famiglia è quasi sempre segnato ed in una o in poche stagioni arriverà a morte, mettendo anche a repentaglio la salute delle altre arnie.

#### *Esame sintomatologico*

Il quadro clinico della peste americana presenta tratti caratteristici che rendono la diagnosi di campo attendibile, almeno nella maggioranza dei casi. E' comunque necessario diagnosticare la malattia ai primi sintomi, quando ancora poche larve sono colpite, pena il pericolo di una rapida diffusione dell'infezione.

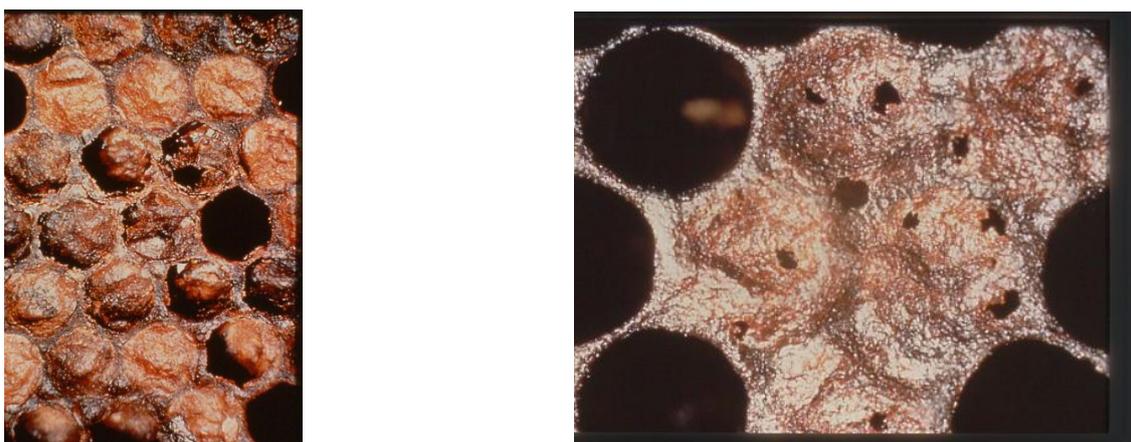
Le larve, infettate nelle prime 48 ore di vita, possono morire prima dell'opercolatura e in tal caso le api le rimuovono con relativa facilità lasciando le celle vuote. Ma più frequentemente la covata muore dopo l'opercolatura in stadio propupa o di pupa (Fig. 4 e 5).



**Figure 4 e 5** – Propupa (a sinistra) e pupa (a destra) affette da peste americana

Negli alveari fortemente colpiti i favi assumono un aspetto a “mosaico” determinato da un'alternanza di celle opercolate contenenti covata sana, di celle disopercolate contenenti i resti delle larve morte e infine di celle vuote.

Gli opercoli delle celle contenenti larve malate appaiono umidi e scuri e divengono concavi e forati man mano che l'infezione progredisce (Fig. 6 e 7).



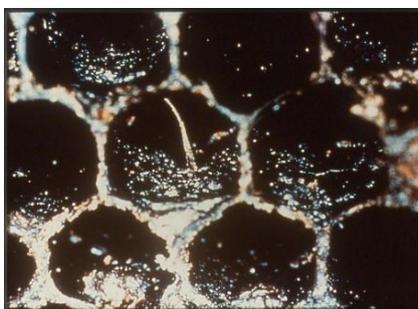
**Figure 6 e 7** – Aspetto degli opercoli in caso di peste americana

Dopo la morte, che passa inosservata, la larva subisce evidenti cambiamenti: il colore passa dal bianco rilucente della larva sana al bianco sporco, al giallino e quindi dopo 1-2 settimane al bruno chiaro, mentre i tessuti divengono soffici, acquosi e il tegumento si rompe facilmente. Con il passare del tempo la larva, si riduce di volume, finché dopo 3-4 settimane dalla morte assume un colore bruno cioccolato e quella consistenza collosa che dà origine ad un filamento quando uno stecchino viene immerso nei resti della larva e poi ritratto (Fig. 8).



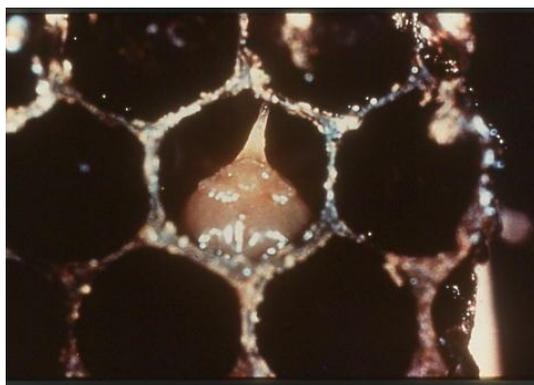
**Figura 8** – La “prova dello stecchino”

La “prova dello stecchino” è infatti la tecnica più nota per il riconoscimento della peste americana in campo. Allo stadio filamentoso segue un graduale disseccamento e, 6-7 settimane dopo la morte, la trasformazione finale in un residuo, la scaglia, di colore scurissimo, quasi nero (Fig. 9). Questa giace lungo la parete inferiore della cella, rimanendovi tenacemente attaccata.



**Figura 9** – Trasformazione della larva affetta da peste americana in scaglia

E' a volte possibile osservare a livello delle pupe morte per peste americana la proboscide che protrude dalla testa estendendosi fino alla sommità della cella (Fig. 10). E' questo uno dei segni più caratteristici della malattia, sebbene poco frequente.



**Figura 10** – Proboscide in pupa morta affetta da peste americana

### *Campionamento*

In caso di rilevamento di covata con segni di malattia è necessario raccogliere un campione da destinare agli accertamenti diagnostici. Se non si preleva un intero favo, ci si limita a tagliare una frazione dello stesso contenente una quantità adeguata di covata con evidenti sintomi di malattia. Il materiale viene quindi consegnato al laboratorio utilizzando per l'imballaggio carta o cartone evitando involucri plastici, che favoriscono l'ammuffimento. Un'altra procedura di campionamento, adatta a tecnici esperti, consiste nel prelevare alcune larve e pupe direttamente dalle celle, possibilmente con una piccola spatola sterile, introducendo gli esemplari in una provetta. E'

parimenti proponibile, se il metodo di conferma diagnostica è quello dell'esame microscopico, la preparazione in apiario dei semplici vetrini con i residui delle larve colpite dall'infezione. Queste ultime modalità di campionamento riducono sensibilmente il volume del materiale da preparare e da spedire e perciò sono particolarmente appropriati in caso di campagne di campionamento che prevedono il controllo di numerosi alveari nel territorio.

#### *Ricerca e identificazione dell'agente eziologico*

Una volta verificato l'aspetto della covata colpita, il laboratorio provvede all'esame microscopico di un preparato da una larva in avanzato stato di decomposizione, solitamente in fase filamentosa, al fine di evidenziare le spore di *P. larvae*. La visualizzazione di una quantità abbondante di spore con morfologia tipica è generalmente sufficiente per confermare la diagnosi di peste americana. Può rendersi opportuno, e non necessario, procedere all'identificazione dell'agente eziologico mediante test microbiologici (colturali, biochimici o genetici), che consentono anche una tipizzazione a livello sottospecifico. Infatti si conoscono ceppi di *P. larvae* differenziati per livello di virulenza e, entro certi limiti, per effetti sintomatologici.

#### *Test immunologici*

Per la diagnosi in campo sono oggi disponibili supporti basati sulla reazione antigene-anticorpo in particolare il "VITA® AFB Diagnostic Kit" messo a punto dalla "Pocket Diagnostics section" del "Central Science Laboratory" di York (UK).

Si tratta di un sussidio di utilizzo semplice e rapido con l'accortezza di utilizzarlo solo a scopo di conferma diagnostica su larve in evidente stato di alterazione.

#### **Prove diagnostiche per il monitoraggio e la prevenzione**

L'assenza di manifestazioni cliniche non costituisce garanzia di assenza dell'agente infettivo nell'alveare, dato i favi e le arnie possono essere contaminate dalle spore di *P. larvae* che possono rimanere quiescenti anche per anni. Scoprire la presenza dell'infezione allo stato sub-clinico, ovvero in assenza di sintomi, è evidentemente di importanza strategica ai fini della prevenzione; a tal fine si ricorre a metodi microbiologici di laboratorio applicati ad alcune matrici dell'alveare, più frequentemente il miele, le api, i detriti raccolti dal fondo delle arnie. Il metodo analitico prevede l'omogeneizzazione del materiale opportunamente diluito e l'inoculazione di un'aliquota in un apposito substrato colturale; segue l'incubazione e infine il conteggio delle unità formanti colonia che rappresentano solo una frazione non superiore al 10% delle spore totali. In alternativa al metodo microbiologico tradizionale sono in corso di studio metodi in PCR più rapidi e più sensibili. La ricerca analitica deve essere necessariamente quantitativa, ossia occorre valutare il livello di contaminazione da spore, che è correlato con il rischio di sviluppo della malattia.

La ricerca delle spore nelle suddette matrici è quindi uno strumento di prevenzione che può essere impiegato in modo routinario nell'ambito di programmi di monitoraggio a livello aziendale o territoriale, con il fine di valutare la prevalenza dell'infezione da una parte e di individuare gli alveari o gli apiari che presentano un livello critico di contaminazione. I risultati analitici vanno quindi interpretati secondo uno schema predefinito che richiami le misure di intervento da adottare secondo i livelli di infezione sub-clinica rilevati. Seguono alcune note relative al campionamento delle matrici più comunemente analizzate.

*Analisi del miele:* la determinazione quantitativa delle spore nel miele fornisce una indicazione attendibile sul grado di infezione a livello di apiario o di intera azienda apistica. Il miele può essere campionato dopo l'estrazione dai maturatori, distinguendo eventualmente i lotti. Oppure può essere prelevato all'inizio della stagione attiva, campionando una percentuale prestabilita di alveari per apiario, ad esempio il 20%. Ai fini della omogeneità e rappresentatività del campione, bisogna prelevare il miele nei pressi della covata.

*Analisi delle api:* la ricerca delle spore in un campione di 50-100 api per alveare fornisce un risultato altamente correlato con l'effettiva presenza della peste americana e questo rende questa determinazione particolarmente utile a scopo predittivo, anche a livello di singolo alveare. Come per il miele, se ci si limita ad un monitoraggio a livello di apiario, si può optare per una raccolta a campione (20% degli alveari)

*Analisi dei detriti del fondo:* è il metodo di indagine più recente e si presta ad una valutazione previsionale eseguita a fine inverno. Si raccolgono e si analizzano i detriti che si accumulano sul fondo dell'arnia, utilizzando allo scopo il telaietto o il cassetto diagnostico antivarroa. E' quindi possibile il controllo simultaneo della caduta degli acari e la ricerca delle spore della peste americana. La praticità del metodo consiste nel fatto che non è necessario aprire gli alveari ed è possibile eseguire sullo stesso campione il controllo della caduta degli acari. Anche per questa determinazione è stata riscontrata una buona correlazione con il rischio di insorgenza della peste americana nella primavera successiva al prelievo.

### **Come comportarsi in caso di rinvenimento della malattia**

Non esistono medicinali risolutivi nei confronti della peste americana. Non esistono farmaci (antibiotici) specificamente registrati per l'impiego sulle api per le malattie pestose delle api. Gli antibiotici ed i chemioterapici riescono ad avere effetto solo sulla forma vegetativa del germe e non sulla forma sporigena; contengono quindi gli effetti clinici dell'infezione, ma non eliminano le spore. Anzi, qualora impiegati in maniera impropria (es. trattamenti preventivi ed a tappeto su tutto l'apiario), ne facilitano la diffusione per l'azione di mascheramento della sintomatologia. Inoltre, il ricorso agli antibiotici, se effettuato in maniera non idonea da personale non adeguatamente preparato, potrebbe favorire la comparsa di forme di farmacoresistenza e portare a residui nei prodotti dell'alveare.

In caso di malattia in stadio conclamato, soprattutto a carico di famiglie deboli, la distruzione per incenerimento delle colonie e dei favi colpiti (Fig. 11) resta tuttora l'intervento più indicato, così come viene indicato dal Regolamento di Polizia Veterinaria (RPV<sup>1</sup>). In questo caso si procederà prima all'uccisione delle api adulte con vapori di zolfo ad arnia chiusa, operando nelle ore serali o al mattino presto, in modo che nessuna bottinatrice rimanga fuori dall'arnia. Dopo aver ucciso le api, si procederà alla distruzione di tutti i favi messi insieme alle api morte in una buca scavata per l'occasione, mediante il fuoco. Tutti gli oggetti impiegati per la manipolazione degli alveari infetti, comprese le attrezzature utilizzate dall'apicoltore per le operazioni apistiche (ad esempio, la leva, i guanti, la tuta, lo smielatore, ecc.), andranno accuratamente lavati con acqua calda e sapone e poi disinfettati (ipoclorito di sodio al 3%, sali di ammonio quaternario). Le arnie possono essere trattate, con: radiazioni ionizzanti (raggi gamma), immersione in paraffina a 160 C° per 10 min, forno 170 C° per 1 ora, soda caustica (raschiatura delle superfici, immersione per 5-20 min. in soluzione bollente al 1%, risciacquo per immersione in acqua), passaggio alla fiamma azzurra, per essere così recuperate.

Una pratica che può essere applicata in famiglie forti, in presenza di importazione nettarifera, è quella della messa a sciame (fig. 8 e 9) conosciuta anche come "*Cura famis*".

Questa tecnica apistica consiste nel trasferire le api adulte e la regina su fogli cerei nuovi



**Fig.11-** Distruzione con il fuoco dei favi infetti  
(Foto di Carlo Ferrari)

<sup>1</sup> denuncia obbligatoria all'Autorità Sanitaria, ed a livello dell'intera area sospetta (raggio di 3 km), divieto di rimozione degli alveari e del materiale, disinfezione delle arnie e delle attrezzature, trattamenti curativi consentiti solo in caso di malattia allo stadio iniziale. Infatti l'articolo 155 del RPV, puntualizza che: "Nei casi di peste americana o europea, può venire ordinata la distruzione delle famiglie delle arnie infette....Se la malattia è allo stadio iniziale possono essere consentiti opportuni trattamenti curativi. L'apiario trattato deve poi essere tenuto in osservazione e sottoposto ad esami di controllo sino a risanamento accertato".

(importante che siano non costruiti), allontanando e distruggendo con il fuoco i favi infetti con la covata malata (in cui risiede la maggior concentrazione delle spore batteriche). La messa a sciame può essere realizzata in diversi modi, che possono prevedere o meno: la ripetizione della pratica (c.d. messa a sciame “doppia”), un periodo di chiusura al buio in un luogo fresco per 48 ore, l’ingabbiamento o la sostituzione della regina, la sostituzione o meno dell’arnia, la nutrizione della famiglia dopo la messa a sciame, la vangatura del terreno sottostante l’arnia, la asportazione totale o parziale dei favi di scorte. Obiettivo è quello di abbattere, grazie a questa tecnica, la carica infettante riducendo al massimo la possibilità di far entrare in contatto le api con le spore. In caso di presenza di fioriture, è importante non somministrare durante la messa a sciame nutrimento alle api, in modo che possano consumare il miele infetto contenuto a livello della loro borsa melaria/apparato digerente. Da cui il nome di cura della fame o “*cura famis*”, appunto.



**Figura 8** – “Messa a sciame” dell’alveare



**Figura 9** – Alveare subito dopo la messa a sciame

(Foto G. Formato e C. Ferrari)

La messa a sciame è una pratica che può dare buoni risultati se effettuata con cognizione di causa, su alveari forti, ed in un periodo favorevole (primavera/inizio estate) per lo sviluppo della famiglia (deve essere stirata cera nuova per i telaini). Ideale, sarebbe anche sostituire il prima possibile, dopo la messa a sciame, le regine delle famiglie che hanno presentato la malattia; questo al fine di migliorare il patrimonio genetico presente in apiario.

La messa a sciame rimane, in ogni caso, una pratica che prevede un certo dispendio di tempo e la necessità di fogli cerei ed api regine per la sostituzione.

Le recidive dei casi di peste in concomitanza di stagioni non favorevoli (tarda estate) per le api od in famiglie particolarmente debilitate, continuerebbe a far sì che l’eliminazione delle famiglie ammalate venga considerata, in questi casi, la via preferenziale da adottare. Logicamente tale pratica non potrà essere realizzata nè in autunno, nè in inverno.

Secondo uno studio effettuato dall’IZS Lazio e Toscana in collaborazione con i Servizi Veterinari ASL (VT, ASL RM/E) sulla pratica della messa a sciame, i casi di recidiva in primavera/inizio estate sono pari al 2%, mentre in tarda estate salgono al 26%.

### **Indicazioni sulle Buone Prassi Apistiche (BPA) da adottare per le malattie pestose:**

Alla luce di quanto sopra indicato, è possibile individuare le seguenti BPA per la peste americana:

1. Posizionare l'apiario in aree che possano garantire sufficienti risorse nutrizionali per le api (sufficiente quantità di piante nettariifere e pollinifere)
2. Effettuare una visita clinica approfondita all'inizio della ripresa primaverile ed a cadenza regolare nella stagione produttiva, al fine di diagnosticare tempestivamente le forme cliniche della malattia ed evitarne la diffusione in apiario;
3. Nutrire gli alveari subito prima della ripresa primaverile (es. mangime proteico o probiotici), per evitare carenze nutrizionali. Questa alimentazione va poi fatta seguire da una nutrizione di mantenimento al fine di evitare squilibri tra api adulte/covata.
4. Non somministrare miele o polline nella nutrizione degli alveari al fine di evitare di somministrare con tali alimenti anche gli agenti responsabili delle malattie pestose;
5. Disinfettare le arnie con sporicidi (es. fiamma azzurra, ipoclorito di sodio, sali di ammonio quaternario, etc.), prima di immettere all'interno nuovi sciami o famiglie;
6. Numerare gli alveari con numerazione progressiva da apporre sull'arnia, per facilitare la tracciabilità all'interno dell'apiario (es. alveari malati, alveari messi a sciame, etc.);
7. Registrare i trattamenti di messa a sciame realizzati in apiario e gli esiti delle analisi di laboratorio;
8. Avere in apiario solo famiglie sane e forti. Evitando la presenza di famiglie deboli in apiario, diverse dagli sciami sani (questi ultimi saranno provvisti di porticine con riduzioni degli spazi), potremo prevenire fenomeni di saccheggio e la diffusione di malattie.
9. Evitare di avere arnie rotte, con aperture o non ben mantenute, al fine di prevenire i fenomeni di saccheggio.
10. Prevenire i fenomeni di deriva colorando/disegnando numeri o segni di riconoscimento sui frontalini ed i predellini delle arnie, al fine di prevenire i fenomeni di deriva.
11. Sostituire sistematicamente 3-4 telai/alveare/anno, al fine di mantenerne bassa la carica batterica.
12. Non spostare favi tra alveari per bilanciare la forza degli alveari, a meno che non si è certi dello stato sanitario degli alveari (donante/ricevente).
13. Identificare con l'anno di inserimento i telai da nido immessi nell'alveare.
1. Sostituire le regine al massimo ogni due anni, al fine di avere sempre famiglie vigorose e con un elevato numero di operaie in grado di compensare eventuali squilibri nutrizionali/covata ed in grado di rimuovere rapidamente la covata ammalata.
14. Effettuare un campionamento dei detriti del fondo o delle api nutrici nel periodo invernale, al fine di individuare alveari/apiari sospetti (diagnosi preclinica invernale) e poter così orientare meglio la visita clinica da realizzare prima della ripresa primaverile;

15. Non sbilanciare il rapporto numerico api nutrici/covata nel bilanciamento degli alveari o nella realizzazione di sciami artificiali.
16. Provvedere alla gestione tempestiva degli alveari colpiti dalla peste.
17. Non effettuare trattamenti illeciti con antibiotici.
18. In caso di alveari ammalati, continuare a monitorarli con attenzione negli anni successivi e mettere in atto un piano di sanificazione, ricorrendo ad analisi di laboratorio per andare a ricercare la positività alle forme cliniche e nelle api nutrici e nei detriti del fondo, anche se l'alveare non presenta segni clinici di malattia.
19. Escludere dalla rimonta le regine di alveari in cui si sono presentate malattie pestose.

## 2. LA PESTE EUROPEA

### Introduzione

La peste europea (European Foulbrood – EFB) è una delle più gravi malattie della covata delle api causata dal batterio *Melissococcus plutonius*, Gram positivo, anaerobio obbligato. Ad esso si associano altri batteri di accompagnamento, tra cui *Enterococcus faecalis*, *Bacterium euridicae* e *Paenibacillus alvei* che concorrono, in funzione della loro presenza e quantità, a dare quadri clinico-sintomatici più o meno gravi e diversificati tra loro. Sebbene asporigeno, il *M. plutonius* è un germe piuttosto resistente nell'ambiente. La trasmissione dell'infezione avviene dall'ape nutrice alla larva mediante la somministrazione di alimento contaminato dal patogeno. I favi ammalati si presentano con covata non compatta, "a mosaico". La morte della covata avviene solitamente a celletta aperta. Le larve sono solitamente ingiallite e torte. La diagnosi può essere effettuata in campo attraverso il riconoscimento del quadro lesivo a carico della covata od in laboratorio. Le tecniche di biologia molecolare, peraltro di recente impiego per la rilevazione del *M. plutonius*, rappresentano oggi uno strumento di grande importanza per la diagnosi e la prognosi di tale malattia, anche alla luce delle storiche difficoltà di isolamento colturale del germe.

Il rinvenimento di questa malattia in apiario comporta sempre la comunicazione ai Servizi Veterinari ASL, essendo annoverata tra le malattie denunciabili delle api ai sensi del Regolamento di Polizia Veterinaria (DPR n. 320/1954) e successive modifiche ed integrazioni.

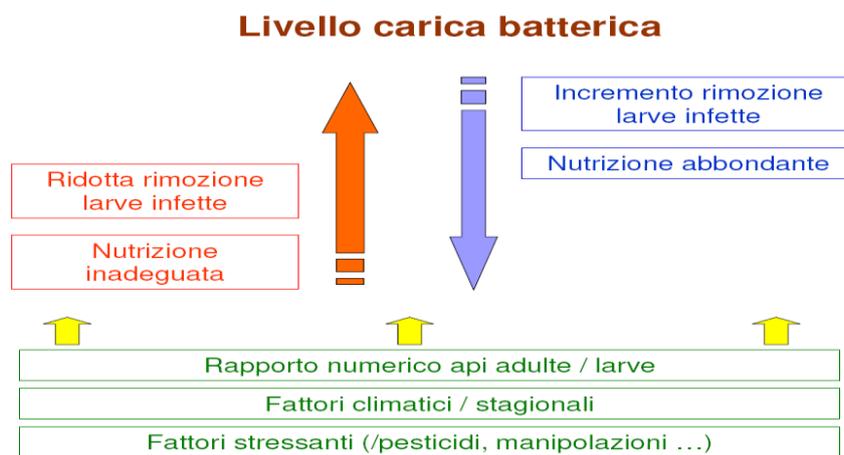
### Eziologia

E' una patologia provocata dal batterio *Melissococcus plutonius* (*M. plutonius*), spesso associato ad altri agenti batterici, tra cui lo *Streptococcus faecalis*, l'*Achromobacter eurydice*, il *Paenibacillus alvei* ed il *Bacillus laterosporus*. A seconda del tipo di associazione batterica che accompagna il *M. plutonius*, la peste europea può manifestarsi con una diversa sintomatologia (es. presenza/assenza di particolari odori).

*M. plutonius* è un germe abbastanza resistente nell'ambiente: sopravvive all'essiccamento per un anno; può rimanere vitale nel polline per alcuni mesi e per diversi anni nei favi in cui è stata presente covata infetta.

### Trasmissione

Pur potendosi manifestare in ogni periodo dell'anno, è più frequente in primavera, quando la covata è nel periodo di maggiore sviluppo e possono instaurarsi fenomeni di stress nutrizionali a suo carico per la scarsa quantità di nutrienti presenti nell'alveare. Come noto, api regine geneticamente predisposte a riempire di covata tutto il telaino "da legno a legno" senza che vengano garantiti sufficienti spazi alle scorte di polline e di miele, come pure regine con scarso comportamento igienico sono più sensibili alle malattie della covata e quindi anche alla peste europea. Anche primavere fredde e piovose possono comportare difficoltà di approvvigionamento di nettare e polline. Soprattutto una inadeguata assunzione (in termini quali-quantitativi) di quest'ultimo da parte della covata sembrerebbe predisporre verso questa patologia e condizionarne il decorso. Le famiglie deboli, le famiglie "stressate" per qualsivoglia motivo (ad esempio, quelle che non hanno potuto godere di un'alimentazione quali-quantitativamente sufficiente; oppure quelle in cui viene alterato il rapporto numerico nutrienti/covata; oppure quando l'apiario è ubicato in una zona eccessivamente umida o povera di risorse mellifere), come pure le famiglie geneticamente più sensibili, risultano essere particolarmente predisposte a questa malattia (Fig. 10).



**Figura 10** – Rapporti esistenti tra il livello di carica batterica ed alcuni fattori incidenti (by Carlo Ferrari)

Similmente a quanto avviene per la peste americana, all'interno dell'alveare la malattia si diffonde per via orale alle larve, ad opera delle api nutrici. *M. plutonius* viene infatti trasmesso alle larve attraverso l'alimento (polline, miele e la pappa reale) loro somministrato dalle api nutrici. Le larve che possiedono  $\leq 2$  giorni di vita sono particolarmente recettive al patogeno. La quantità di larve che si ammala e che perviene a morte è direttamente proporzionale alla quantità di batteri assunta dalle larve ed alla loro sensibilità genetica, mentre è inversamente proporzionale al numero di api nutrici che accudiscono la covata ed alla quantità di alimento che viene loro somministrata.

Una volta assunto per via orale, il batterio si moltiplica rapidamente nell'intestino e nella membrana peritrofica, causando, dapprima una minor assunzione di alimento, poi, verso il 3°-5° giorno di vita, cioè prima dell'opercolatura delle cellette di covata, la morte delle larve. Ma a volte la larva infetta riesce a sopravvivere fino allo stadio successivo di pupa ed in questi casi potremmo trovare (come nella peste americana) lesioni anche a carico della covata opercolata. La pupa malata elimina il suo contenuto intestinale all'interno della celletta in cui è allevata, contribuendo in tal modo a propagare l'infezione. Le larve che, pur ammalandosi, arrivano a fine metamorfosi, daranno luogo ad adulti che sfarfallano tardivamente, di dimensioni ridotte rispetto alle larve non infette.

L'elevata densità delle colonie e degli apiari promuove la diffusione del patogeno. Belloy (2007) in Svizzera ha dimostrato come alveari sani in apiari malati presentavano, nel 90% dei casi, api positive al *M. plutonius*; in apiari sani, ma limitrofi all'apiario infetto, il 30% degli alveari presentava api positive al *M. plutonius*; infine, in apiari lontani dall'apiario con sintomi di peste, il *M. plutonius* non era rinvenibile negli alveari. Questo a dimostrazione di come le stesse api operaie possono essere responsabili della diffusione della malattia sul territorio, fungendo da veri e propri *carrier* da alveare ad alveare e da apiario ad apiario e di come la loro capacità di diffondere il patogeno diminuisca con l'aumentare della distanza dall'apiario infetto.

Va comunque tenuto presente che ai fini della diffusione del patogeno, oltre all'azione delle api adulte (soprattutto con i fenomeni di deriva o di saccheggio), un ruolo determinante è giocato dall'apicoltore, mediante:

- lo spostamento di favi infetti in alveari sani (ad esempio, per mancato riconoscimento della malattia) per bilanciare la forza degli alveari;
- l'impiego di miele/polline infetti per alimentare alveari sani;
- la movimentazione di alveari infetti per nomadismo;
- il commercio di materiale apistico infetto;
- il ritardato riconoscimento e la ritardata gestione degli alveari malati di peste europea.

Non vanno neanche sottovalutati errori gestionali dell'apicoltore che possono indurre stress scatenanti la malattia per alterazione del rapporto numerico tra api adulte e covata, come ad esempio: gli spostamenti impropri delle scorte vive (covata/api) o morte (polline e miele) negli alveari (es. per bilanciare le famiglie o per realizzare la sciamatura artificiale); una errata iper-

stimolazione con sciroppo delle famiglie non seguita da una nutrizione di mantenimento; la somministrazione di feromoni di covata che possono stimolare una iper-ovodeposizione della regina.

Da alveare ad alveare o da apiario ad apiario, la malattia si può propagare sia per azione delle api (soprattutto quando avvengono fenomeni di saccheggio) che per errori dell'apicoltore (l'impiego di miele proveniente da famiglie malate per alimentare famiglie; lo spostamento di favi da un'arnia malata ad un'altra sana; il nomadismo; la compravendita; l'utilizzazione di attrezzature contaminate; l'impiego indiscriminato di antibiotici).

### Sintomatologia

La covata si presenta sempre non compatta, "a mosaico", indice dell'elevato tasso di mortalità larvale (fig. 11).



**Figura 11** – Favo di covata non compatta, detta "sparsa" od "a mosaico"

La proliferazione batterica a livello della covata comporta spesso odori aciduli di diversa entità, in funzione della vastità del quadro lesivo e della quantità e tipologia dei germi che accompagnano il *M. plutonius*.

La morte delle larve avviene solitamente a celletta aperta, non ancora opercolata (Fig. 12). Questa è una caratteristica clinica importante ai fini della differenziazione tra peste europea e peste americana.



**Figura 12** – Larve con segni clinici di peste europea (foto M. Palazzetti)

Le larve malate in una prima fase sono turgide, poi perdono il loro normale colore biancomadreperla e tendono a disidratarsi assumendo un colorito giallo-brunastro opaco. Anche la loro posizione cambia: invece di restare coricate su di un fianco a forma di C, aderenti sul fondo della

celletta, tendono a scivolare sulla parete della celletta (fig. 12), torcendosi a spirale o ripiegandosi a ponte mostrando verso l'apertura della cella il dorso oppure una delle due estremità.

Dopo morte, le pupe esitano in scaglie color bruno-ruggine, simili a quelle della peste americana ma, a differenza di quest'ultima, sono più facilmente asportabili.

In tabella 1 è possibile indicare le principali differenze tra peste europea ed americana.

**Tabella 1 - Principali differenze tra peste europea e peste americana**

<b>Peste Europea</b>	<b>Peste Americana</b>
Larva morta in cella non opercolata	Larva morta in cella opercolata
Manca un annerimento dei favi	Favi scuri, opercoli infossati, forati
Larva non filamentosa	Larva filamentosa
Scaglia asportabile	Scaglia non asportabile

### **Diagnosi**

In un alveare con segni clinici di malattia, cioè con evidente presenza di larve malate/morte, è possibile rinvenire il *M. plutonius* a carico di ogni stadio larvale, ma anche a carico del polline, del miele e delle api adulte. In merito a queste ultime è stato osservato che le api nutrici presentano cariche di *M. plutonius* 20 volte superiori rispetto alle bottinatrici prelevate dal predellino di volo dello stesso alveare.

Per la diagnosi di campo è sufficiente esaminare la covata per andare a ricercare i sintomi sopra descritti (covata sparsa, larve ingiallite morte in opercoli aperti, odore acido, etc.), cui può essere abbinato l'impiego di un kit diagnostico di campo (facilmente reperibile in commercio) o l'invio in laboratorio per accertamenti colturali o biomolecolare (Fig. 12). Per la conferma della malattia è infatti possibile inviare il campione (quello di elezione è la covata malata/morta) presso laboratori specializzati (es. Istituti Zooprofilattici) in cui possono essere isolati i germi patogeni responsabili della malattia.



**Figura 12** – Prelievo di larva malata (foto: M. Palazzetti, G. Formato)

In ogni caso va effettuata la segnalazione ai Servizi Veterinari Pubblici.

La matrice di elezione su cui andare a ricercare il *M. plutonius* sono le larve di api con segni di malattia; in mancanza di queste, un'ottima matrice è anche rappresentata dalle api nutrici, prelevate direttamente dai favi di covata.

Diversi sono i metodi diagnostici a disposizione dei laboratori di analisi:

1. l'esame colturale usando terreni selettivi (es. agar Bailey con acido nalidixico);
2. osservazione microscopica con colorazione di Gram o con nigrosina al 5%;
3. indagini di tipo biomolecolare: sono tecniche di PCR (Polymerase Chain Reaction), basate sull'amplificazione in laboratorio di sequenze genomiche caratteristiche di *M. plutonius*. Questo tipo di analisi rappresenta un importante strumento diagnostico per la diagnosi di peste europea, consentendo di diagnosticarla ancora prima della comparsa dei segni clinici. Tale tipo di indagini possono essere sia di tipo qualitativo che quantitativo come la Real-time PCR, attraverso le quali è stato possibile individuare il valore soglia di 50.000 UFC/ape di *M. plutonius* per poter rilevare i sintomi della malattia. Queste tecniche infatti riescono ad ovviare i forti limiti di coltivazione su piastra del *M. plutonius*, aprendo interessanti prospettive anche per studi di carattere epidemiologico e predittivo. In uno studio effettuato dall'IZS Lazio e Toscana nel 2014, gli stessi detriti del fondo erano in grado di evidenziare la presenza di *M. plutonius* negli alveari.

### **Profilassi**

Anche per la peste europea, come per la peste americana è fondamentale compiere un'accurata visita primaverile in modo da diagnosticare il più precocemente possibile una eventuale insorgenza della patologia.

Qualora si riscontrassero famiglie colpite gravemente da peste europea, soprattutto se la diagnosi viene effettuata a fine estate/autunno, converrà senz'altro sopprimere la famiglia e distruggerne i favi.

L'uccisione delle api adulte può essere realizzata con vapori di zolfo ad arnia chiusa, operando nelle ore serali o al mattino presto, in modo che nessuna bottinatrice rimanga fuori dall'arnia. Dopo aver ucciso le api, si procederà alla distruzione dei favi infetti con il fuoco.

Tutti gli oggetti impiegati per la manipolazione degli alveari infetti, comprese le attrezzature utilizzate dall'apicoltore per le operazioni apistiche e gli indumenti, andranno accuratamente lavati con detergenti e poi disinfettati (ipoclorito di sodio al 5%, acido peracetico, sali quaternari di ammonio, perborato di sodio).

Le arnie, se in buono stato, possono essere sanificate dopo raschiatura, scegliendo tra diverse opzioni di disinfezione: ipoclorito di sodio al 5% (varechina) diluito 1:50, clorammina T (Haminclor), acido peracetico (es. VitaOxygen™), perborato di sodio (Esodrox C), radiazioni ionizzanti (raggi gamma), immersione in paraffina a 160 °C per 10 minuti, forno a 170 °C per 1 ora, immersione per 20 minuti in soluzione bollente di soda caustica al 1%, passaggio alla fiamma azzurra.

Negli alveari in cui si opererà di intervenire con il risanamento, potremo applicare una o più delle seguenti tecniche apistiche:

1. messa a sciame con asportazione *totale* (allontanamento di tutti i favi del nido) o *parziale* (allontanamento dei soli favi di covata) dei favi del nido. Può essere associata ad una certa perdita di alveari dovuta alla uccisione od alla fuga della regina durante la messa a sciame, oppure alla incapacità delle api di ricostruirsi i favi (per estrema debolezza dell'alveare o per assenza di raccolto). Indubbiamente tale tecnica presenta il vantaggio di abbattere notevolmente la carica infettante negli alveari e di ridurre le recidive, dando la possibilità di sopravvivenza alla famiglia. Vi sono maggiori probabilità di successo se la messa a sciame è realizzata nel periodo di importazione nettarifera e su famiglie forti: in tali condizioni le api non hanno problemi a ricostruirsi i favi del nido e, se praticata ad inizio primavera, ad andare comunque a melario. E' bene ribadire che si riducono molto le probabilità di recupero degli alveari se la messa a sciame è realizzata su famiglie troppo deboli ed in assenza di raccolta nettarifera (autunno, inverno o tarda estate). In tali circostanze è opportuno ricorrere in ogni caso alla distruzione degli alveari.

2. somministrare integrazioni nutrizionali. Buoni risultati possono essere ottenuti con la somministrazione di mangimi di natura proteica, in grado di stimolare nella covata un aumento delle difese immunitarie. E' importante applicare questa tecnica su tutto l'apiario e non solo sugli

alveari malati.

3. somministrazione di microrganismi o probiotici. Questa pratica, attualmente in fase di sviluppo sperimentale, trova importanti conferme in vitro della sua efficacia terapeutica. E' importante associare a tale strategia di intervento, altre pratiche, quali, ad esempio, la messa a sciame. Anche in questo caso è opportuno sottoporre a questa tecnica l'intero apiario e non solo agli alveari malati.

4. sostituzione della regina: tale pratica da sola non è generalmente risolutiva ma può essere associata ad altre tecniche più efficaci (es. messa a sciame). Indubbiamente favorisce una selezione genetica in apiario verso i caratteri di resistenza alla peste europea, così da migliorare il patrimonio genetico dell'apiario.

5. blocco di covata mediante ingabbiamento della regina: le api, essendo stata interrotta la deposizione, tenderanno a ripulire le cellette dalla covata ammalata. Tale pratica da sola non è generalmente risolutiva ma può essere associata ad esempio alla rimozione dei favi in cui era presente covata (messa a sciame parziale) ed a nutrizione con mangimi di natura proteica. In tali casi non è necessario protrarre a lungo l'ingabbiamento.

Le suddette pratiche gestionali possono far pervenire a guarigione gli alveari soprattutto quando la malattia non è avanzata, gli alveari sono popolati e ci sono abbondanti fioriture. In ogni caso vanno tenuti sotto controllo per un anno gli alveari assoggettati ai diversi trattamenti gestionali per verificare che non si ripresentino recidive, tutt'altro che rare, della patologia.

Un aspetto fondamentale da considerare è che per migliorare il successo delle attività di risanamento non dovremo focalizzare l'attenzione sui soli alveari in cui la malattia si è manifestata con i sintomi clinici, bensì dovremo prevedere interventi per potenziare le resistenze immunitarie di tutto l'apiario, ricorrendo ad opportune pratiche gestionali (es. nutrizione proteica, somministrazione di probiotici, etc.).

### **Indicazioni sulle Buone Prassi Apistiche (BPA) da adottare per le malattie pestose:**

Alla luce di quanto sopra indicato, è possibile individuare le seguenti BPA per la peste americana:

1. Posizionare l'apiario in aree che possano garantire sufficienti risorse nutrizionali per e api (sufficiente quantità di piante nettariifere e pollinifere)
2. Effettuare una visita clinica approfondita all'inizio della ripresa primaverile ed a cadenza regolare nella stagione produttiva, al fine di diagnosticare tempestivamente le forme cliniche della malattia ed evitarne la diffusione in apiario;
3. Nutrire gli alveari subito prima della ripresa primaverile (es. mangime proteico o probiotici), per evitare carenze nutrizionali. Questa alimentazione va poi fatta seguire da una nutrizione di mantenimento al fine di evitare squilibri tra api adulte/covata.
4. Non somministrare miele o polline nella nutrizione degli alveari al fine di evitare di somministrare con tali alimenti anche gli agenti responsabili delle malattie pestose;
5. Disinfettare le arnie con sporicidi (es. fiamma azzurra, ipoclorito di sodio, sali di ammonio quaternario, etc.), prima di immettere all'interno nuovi sciami o famiglie;
6. Numerare gli alveari con numerazione progressiva da apporre sull'arnia, per facilitare la tracciabilità all'interno dell'apiario (es. alveari malati, alveari messi a sciame, etc.);
7. Registrare i trattamenti di messa a sciame realizzati in apiario e gli esiti delle analisi di laboratorio;

8. Avere in apiario solo famiglie sane e forti. Evitando la presenza di famiglie deboli in apiario, diverse dagli sciami sani (questi ultimi saranno provvisti di porticine con riduzioni degli spazi), potremo prevenire fenomeni di saccheggio e la diffusione di malattie.
9. Evitare di avere arnie rotte, con aperture o non ben mantenute, al fine di prevenire i fenomeni di saccheggio.
10. Prevenire i fenomeni di deriva colorare/disegnando numeri o segni di riconoscimento sui frontalini ed i predellini delle arnie, al fine di prevenire i fenomeni di deriva.
11. Sostituire sistematicamente 3-4 telai/alveare/anno, al fine di mantenerne bassa la carica batterica.
12. Non spostare favi tra alveari per bilanciare la forza degli alveari, a meno che non si è certi dello stato sanitario degli alveari (donante/ricevente).
13. Identificare con l'anno di inserimento i telai da nido immessi nell'alveare.
2. Sostituire le regine al massimo ogni due anni, al fine di avere sempre famiglie vigorose e con un elevato numero di operaie in grado di compensare eventuali squilibri nutrici/covata ed in grado di rimuovere rapidamente la covata ammalata.
14. Effettuare un campionamento dei detriti del fondo o delle api nutrici nel periodo invernale, al fine di individuare alveari/apiari sospetti (diagnosi preclinica invernale) e poter così orientare meglio la visita clinica da realizzare prima della ripresa primaverile;
3. Non sbilanciare il rapporto numerico api nutrici/covata nel bilanciamento degli alveari o nella realizzazione di sciami artificiali.
4. Provvedere alla gestione tempestiva degli alveari colpiti dalla peste.
5. Non effettuare trattamenti illeciti con antibiotici.
6. In caso di alveari ammalati, continuare a monitorarli con attenzione negli anni successivi e mettere in atto un piano di sanificazione, ricorrendo ad analisi di laboratorio per andare a ricercare la positività alle forme cliniche e nelle api nutrici e nei detriti del fondo, anche se l'alveare non presenta segni clinici di malattia.