SCHEDA SULLA NOSEMIASI

Introduzione

La nosemiasi è una malattia denunciabile delle api adulte provocata da funghi unicellulari appartenenti alla Classe dei *Microsporidi*, Famiglia *Nosematidi*, Genere *Nosema*.

Esistono 2 diverse specie di *Nosema* che colpiscono *Apis mellifera*: il *Nosema apis* (*N. apis*) ed il *Nosema ceranae* (*N. ceranae*), responsabili di due forme completamente distinte di malattia.

Mentre il *Nosema apis* è responsabile della forma "classica" gastro-enterica della malattia, il *Nosema ceranae* è un patogeno che è stato segnalato recentemente su *Apis mellifera*, considerato esotico e classificato nel 1996 da Fries, su cui provoca delle forme della malattia caratterizzate da lento spopolamento fino alla morte.

Sia il *N. apis* che il *N. ceranae* possono essere visti al microscopio ottico sottoforma di spore, morfologicamente non distinguibili tra le due specie, che rappresentano la forma di resistenza e di propagazione della malattia. Nell'ambiente esterno le spore possono rimanere infettanti da pochi giorni, fino a cinque anni. Nella tabella 1 è riportata la sopravvivenza delle spore di *N. apis* in diversi substrati.

Tubella 1 - Sopravvivenza delle spore di Nosellia apis	
Api morte	$5-6$ settimane in inverno; $1-2$ gg. $T^{\circ} > 37^{\circ}C$ in estate
Arnie vuote	4 mesi in inverno; 2 – 4 settimane in estate
Terreno	40 – 70 giorni (in base alle condizioni ambientali)
Feci	Fino a 2 anni
Acqua	1 minuto a 65°C
Miele	2 – 6 mesi; 10 minuti a 60°C

Tabella 1 - Sopravvivenza delle spore di Nosema apis

I. Il Nosema apis

È responsabile della forma "classica" della malattia, che è diffusa soprattutto nelle regioni fredde ed umide. In Italia è una forma rara e soggetta a vincolo di distruzione quando presente in forma clinica-sintomatica. Può comparire negli alveari mal gestiti dal punto di vista nutritivo nel periodo invernale. Viene anche detta "spopolamento primaverile", perché si presenta con maggior frequenza durante la primavera e si manifesta soprattutto con una diminuzione dell'entità numerica della colonia. Il *N. apis* vive e si moltiplica a spese delle cellule epiteliali del tubo digerente delle api adulte. Non colpisce mai gli stadi larvali, così come è difficile che la regina venga interessata dalla malattia. Nei rari casi in cui la regina si ammala, dopo qualche settimana cessa di deporre le uova.

Patogenesi

Le spore, presenti nelle deiezioni, vengono direttamente o indirettamente (es. attraverso la trofallassi) ingerite dalle api adulte, germinano nel lume intestinale dando origine a forme ameboidi dotate di movimenti propri per mezzo di un filamento polare, in grado di penetrare nelle cellule intestinali dove si sviluppano e si moltiplicano nutrendosi del citoplasma cellulare fino a far scoppiare la cellula intestinale invasa. La mucosa intestinale delle cellule si logorerà e le funzioni digestive verranno così compromesse. Considerando la veloce moltiplicazione del fungo, in breve tempo tutto il tessuto intestinale risulterà fortemente infetto. Le spore, forme di propagazione della malattia, vengono espulse con le feci e, una volta all'esterno, possono essere ingerite da altre api che a loro volta si infetteranno (Fig. 1)

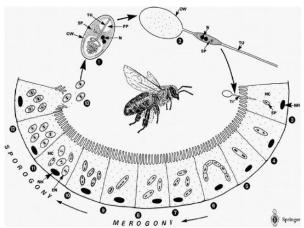




Figura 1- Ciclo biologico di Nosema spp. (a sinistra) e spore (a destra) di Nosema spp. al microscopio ottico

Vengono interessate da questo microsporidio anche le ghiandole della nutrizione (o del latte), che interrompono bruscamente la loro secrezione; quest'ultima evenienza è molto grave perché le api nutrici non possono più nutrire la covata e, di conseguenza, cessa anche il rinnovo della colonia.



Figura 2 – Arnia imbrattata da escrementi di api malate da Nosema apis

Sintomatologia

Dopo il contatto della famiglia con il *N. apis*, compaiono nelle api disturbi intestinali con diarrea (Fig. 2), le giovani nutrici divengono incapaci di secernere la pappa reale, mentre le bottinatrici riducono la loro attività, fino ad interromperla del tutto nelle forme più conclamate. Nei rari casi in cui si ammala anche la regina, diminuisce notevolmente la ovodeposizione che, a volte, cessa del tutto.

Dapprima si ha un lento spopolamento, diminuisce l'attività lavorativa, mentre aumenta lo stato di irrequietezza della colonia. Noteremo che alcune api non riescono più a volare, camminano con le ali aperte a forma di "K", sono paralizzate e si trascinano tremolanti davanti all'arnia, mentre altre api si riuniscono in piccoli gruppi. Infine, assisteremo alla presenza, sul fondo dell'alveare, di api morte con l'addome rigonfio di consistenza molle e con le zampe retratte sotto il torace, mentre il predellino dell'entrata dell'arnia, allo stesso modo dei favi, risulteranno imbrattati da feci diarroiche.

Diagnosi

Riuscire a diagnosticare la malattia nelle sue fasi iniziali non è cosa facile; l'unico segno evidente che può fare insospettire è la presenza di escrementi liquidi sul predellino dell'alveare.

Una prova di campo che è possibile effettuare, consiste nel sacrificare qualche ape catturata davanti all'arnia, per poi esaminare il colore della porzione terminale dell'apparato digerente: nell'ape sana ha un colore rossiccio, mentre nell'ape malata è bianco lattiginoso (Fig. 3). Questo segno però è riscontrabile solamente quando la malattia ha già assunto una certa gravità.

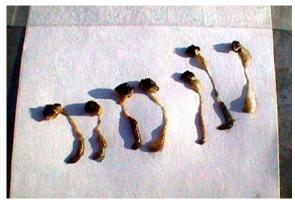




Figura 3 - Porzione terminale dell'apparato digerente di alcune api

Per effettuare una diagnosi sicura fin dalle prime fasi della patologia, dovremo ricorrere alle prove di laboratorio, nelle quali si effettua la ricerca microscopica delle spore a livello di intestino medio o direttamente sugli escrementi. Le spore di *Nosema spp.* sul vetrino risulteranno ovoidali, brillanti e rifrangenti.

Trasmissione

Il contagio avviene fondamentalmente per via oro-fecale. Soprattutto all'interno dell'alveare, il *N. apis* riesce facilmente a propagarsi mediante gli escrementi delle api ammalate. La diffusione da alveare ad alveare e da apiario ad apiario può realizzarsi attraverso la deriva delle operaie, i cambiamenti di arnia dei maschi, il saccheggio, lo spostamento di telaini infetti da un'arnia all'altra, l'alimentazione con miele o polline contaminato, l'impiego di materiali o di attrezzi infetti.

Ci troviamo di fronte ad una malattia condizionata da fattori climatici: il tempo piovoso, ad esempio, fa aumentare le probabilità di contagio tra le api di uno stesso alveare, in quanto le costringe all'interno dell'arnia; il tempo buono, invece, dà l'opportunità alla famiglia di poter uscire e riversare in volo gli escrementi (senza considerare che, se molto malate, le api non fanno ritorno all'alveare). Anche l'andamento stagionale è in grado di influire sulla diffusione dell'infezione; quest'ultima infatti viene favorita sia da inverni lunghi e freddi, che da primavere fredde e piovose (quando la stagione è cattiva, infatti, le api hanno difficoltà a reperire il nettare ed il polline). Le stesse visite dell'apicoltore all'alveare, se molto frequenti, possono essere alla base dell'insorgenza della malattia, nonché della sua diffusione. Infine, la contemporanea presenza di altre malattie (come ad esempio la amebiasi o le virosi) esaspera i quadri della nosemiasi.

Nelle zone temperate la malattia inizia a manifestarsi di solito a fine inverno; la sintomatologia conclamata è riscontrabile in aprile-maggio.

Prevenzione

Innanzitutto è bene prevenire l'infezione mediante una corretta conduzione dell'apiario, curando specialmente la sua ubicazione (preferire le zone soleggiate e poco ventilate) ed il corretto orientamento delle arnie. Di fondamentale importanza anche effettuare un corretto invernamento e, se necessario, provvedere a somministrare alimento nel periodo autunnale ed invernale (provviste sufficienti e di buona qualità) o mangimi complementari. Altri accorgimenti possono essere: posizionare piante pollinifere nei pressi delle arnie (possono offrire alimento proteico alla colonia nella tarda estate ed in autunno); lasciare in sito i ripari posizionati nell'alveare (es. porticine, diaframmi) durante l'invernamento fino a primavera avanzata per mantenere caldo il nido; inserire un numero di favi adeguatamente rapportato alla popolazione della colonia; disturbare e il meno possibile le api durante il periodo invernale.

Purtroppo, quando il *N. apis* si presenta, la prognosi è spesso infausta perché il suo insorgere resta quasi sempre inavvertito ed i sintomi si manifestano ormai in stadio troppo avanzato. Generalmente le colonie colpite non guariscono spontaneamente.

Se la malattia si presenta in forma clinica è prevista la distruzione dell'alveare (Reg. 320/54 art. 154 e successive integrazioni). Dopo aver ucciso le api, sterilizzato le arnie (con acqua bollente, soda al

6% e fiamma azzurra) e distrutti i favi, si potranno recuperare i materiali. Il miele infetto non dovrà essere assolutamente utilizzato per alimentare altre api.

II. Il Nosema ceranae

Nosema ceranae è una nuova specie di microsporidio isolato per la prima volta nel 1996 su Apis cerana, un'ape diffusa nel sud-est del continente asiatico.

Attraverso meccanismi e percorsi per ora solo ipotizzabili, il *N. ceranae* si è propagato in vaste aree europee su *Apis mellifera*, Italia inclusa, sostituendosi alla forma indigena di *Nosema apis*, dando luogo a manifestazioni del tutto differenti dalla nosemiasi classica. Sono infatti tipiche di questa malattia: la gravità dei sintomi (spopolamento e morte degli alveari), l'assenza di turbe gastroenteriche (diarrea) come sintomo tipico, l'apparizione della malattia in periodi differenti da quelli classici. Diversi autori attribuiscono a questo patogeno un ruolo rilevante nei fenomeni di spopolamento e morte degli alveari che hanno colpito in questi ultimi anni le api in UE.

Patogenesi

L'ingestione del microsporidio avviene per via digerente per via diretta o indiretta (es. attraverso il miele contaminato dalle spore). Una volta giunte nel lume intestinale, le spore germinano invadendo le cellule epiteliali; a questo livello, infatti, vivono e si riproducono.

Le spore di *N.ceranae* sono molto resistenti nell'ambiente, facilitando così le reinfezioni delle colonie e il ripresentarsi della malattia a distanza di tempo.

Sintomatologia

La malattia può manifestarsi durante tutto l'arco dell'anno, sebbene i livelli di infezione varino fortemente nei diversi mesi dell'anno. Caratteristica è l'assenza della diarrea nelle bottinatrici. Sembra invece che queste ultime vadano a morire lontano dall'alveare. Il nosema *ceranae* è spesso associato al virus della cella reale nera (Black Queen Cell Virus - BQCV). Le lesioni apportate all'intestino delle api dal *N. ceranae* ne comporterebbe un malassorbimento ed una maggior sensibilità agli stress esterni. Questo provocherebbe uno spopolamento progressivo delle colonie senza che venga rilevata la presenza di api morte, fino a giungere, nei casi più gravi, alla perdita della famiglia.

Sono state individuate (da studi di Mariano Higes) quattro fasi di infezione da *N. ceranae* (suddivise su due anni) nelle famiglie di api prima di giungere al collasso delle famiglie .

La <u>fase 1 (o fase asintomatica)</u>: all'inizio del contagio è caratterizzata da condizioni di sviluppo entro i parametri di normalità. Meno del 60% delle bottinatrici sono risultate infettate e il conteggio delle spore non ha mai fatto verificare quantità maggiori di un milione per ape. Si può considerare che questa fase duri dall'inizio del contagio fino all'autunno della stagione di infezione (in questa condizione è verosimile che le famiglie e le produzioni non siano eccezionali).

La fase 2 (o fase di rimpiazzo): ha mostrato, l'insolito prolungamento del comportamento di deposizione della regina durante i mesi invernali , a causa di un aumento della mortalità delle larve, il numero di api vecchie infette risulta in percentuale sempre più alto rispetto a quanto riscontrato nella fase 1. Per tale motivo viene anche ad essere rinvenuto in esse un maggior numero di spore.

La <u>fase 3 (o di falso recupero):</u> inizia nella primavera successiva quando la famiglia comincia a svilupparsi più velocemente. I parametri clinici (percentuale di api infette e numero di spore) sono simili alla fase 1, come risultato dell'aumento di popolazione.

Finché la popolazione cresce, la famiglia riesce a fronteggiare la malattia. Fino a tutto maggio risultano in diminuzione sia la percentuale di bottinatrici infette che la percentuale delle api infette prelevate dall'interno delle arnie, nonché la carica di spore/ape per entrambe.

Da giugno però lo sviluppo di popolazione non ha più la stessa intensità, la popolazione di api tende a diminuire ed il patogeno ricomincia ad avere lentamente il sopravvento. Aumenta quindi la percentuale di api infette sia bottinatrici che nell'arnia nonché il livello di infezione per ape.

La <u>fase 4 (o di spopolamento)</u> inizia a settembre, l'aumento del numero di spore è esponenziale sia nelle bottinatrici che nelle api all'interno dell'arnia. Diventa anche progressivamente crescente la percentuale delle bottinatrici infette fino a raggiungere oltre l' 80%, ma in parallelo aumenta anche la percentuale di infezione delle api dell'arnia, fino al 90%.

Nella fase 4 da settembre a novembre, è repentino il calo di popolazione. Il numero di favi popolati si riduce drasticamente fino al ritrovamento di sole poche api con spesso la regina morta. Miele e polline sono presenti e in molti casi è rinvenibile una piccola rosetta di covata opercolata.

Quando il collasso avviene durante i mesi freddi più del 50% delle api trovate morte nell'alveare risulta infettato da più di 10 milioni di spore e anche la regina risulta infettata; quando invece il collasso avviene in primavera sia la percentuale di api infettate che il numero di spore risultano inferiori. La regina risulta non infettata o con infezione minima. Probabilmente la differenza tra i due casi riflette la differenza di api vecchie e giovani in ogni stagione. Ad inizio primavera la quantità di api appena nate non infette riduce i parametri di infezione ritardando l'infezione della regina e quindi lo spopolamento.

Diagnosi

Le spore al microscopio non sono distinguibili da quelle del *N. apis*. E' possibile effettuare una diagnosi differenziale solo attraverso accertamenti più approfonditi sul genoma delle spore stesse. In particolare, si può adottare una tecnica di biologia molecolare (Polymerase Chain Reaction - PCR) che consente di sequenziare una parte molto specifica e caratteristica del genoma del *N. ceranae*, permettendo di arrivare ad una diagnosi certa.

Mandando i campioni presso diversi Istituti Zooprofilattici (30-50 api adulte, bottinatrici) è possibile richiedere la diagnosi di *Nosema spp.* e la differenziazione tra il *N. apis* ed il *N. ceranae*.

Buone pratiche apistiche al fine di prevenire/controllare la nosemiasi (N. ceranae):

- 1) Verificare il corretto orientamento (a sud-est) e posizionamento degli alveari: non in zone umide, esposte ai venti, in aree che siano soleggiate ed asciutte di inverno.
- 2) Disinfettare l'attrezzatura apistica prima di riutilizzarla con nuove famiglie/sciami: fiamma azzurra (le spore vengono inattivate già a 50°C); raggi gamma; fumigazioni con acido acetico glaciale per i favi; idrossido di Sodio 5% (soda caustica); ipoclorito di Sodio 0,5% (candeggina).
- 3) Stimolare e rinforzare le famiglie in autunno ed in primavera con l'apporto di integratori stimolanti composti da sostanze vegetali/melasse o integratori vitaminici (es. Api-herb®, VitaFeed Gold®, Protofil®)
- 4) Non spostare favi tra famiglie diverse;
- 5) Non somministrare miele o polline alle api (preferire candito, amido di mais, etc.);
- 6) Rinnovare le regine ogni 2 anni;
- 7) Sostituire i 3-4 favi /alveare/anno;
- 8) Effettuare in autunno e primavera un campionamento di api bottinatrici per verificare i livelli di infezione in apiario.