

PI3-18-09-LS-07

Microsporidios patógenos de abejas: detección y epidemiología molecular

Lannutti, Lucas; Mira, Anabela; Decker-Franco, Cecilia; Saborit Bandano, Juan Ignacio; Silva, Victoria; Florin-Christensen, Monica; *Schnittger, Leonhard

*Instituto de Patobiología Veterinaria, CICVyA, INTA-Castelar; schnittger.leonhard@inta.gob.ar

Contexto: La abeja europea, *Apis mellifera*, satisface las necesidades de miel y otros productos de consumo humano, y es un importante polinizador de cultivos productivos y plantas silvestres a nivel mundial. Con 8 millones de colmenas, Argentina es uno de los principales exportadores mundiales de miel. Un problema sanitario que afecta al sector apícola es la nosemosis, una parasitosis causada por *Nosema ceranae* y *N. apis*. Son necesarios métodos simples y económicos de diagnóstico de estos parásitos, así como aumentar el conocimiento sobre su epidemiología.

Métodos: Se desarrolló un ensayo molecular de amplificación isotérmica de ADN (LAMP) para la detección de *N. ceranae*, y se aplicó a muestras de abejas de 14 apiarios de Argentina. La reacción pudo verificarse por electroforesis o inspección visual directa, luego del agregado de un fluoróforo. Los resultados fueron comparados con los obtenidos por recuento microscópico de esporas y PCR, y se determinó la sensibilidad y especificidad del ensayo. Además, se determinó la carga de esporas y la especie de *Nosema* infectante en 82 colmenas localizadas en Buenos Aires, Chubut, Mendoza y Santiago de Estero. Finalmente, se identificaron micro y minisatélites en el genoma de *N. ceranae*, los cuales fueron amplificados por PCR a partir de ADN de aislamientos argentinos del parásito y se comparó la movilidad electroforética de los amplicones.

Resultados: El ensayo de LAMP establecido resultó diez veces más sensible que la PCR de referencia y fue específico para *N. ceranae*, ya que no amplificó ADN de *N. apis* ni de *N. bombis*. Además, sirvió para la detección directa de esporas sin previo aislamiento de ADN. En el estudio epidemiológico horizontal, se halló que todas las colmenas estudiadas estaban infectadas con *N. ceranae* y en ninguna se encontró *N. apis*. Se observó una correlación positiva entre la carga de esporas y la humedad de la región analizada. Por otra parte, no se halló polimorfismo en el tamaño de bandas obtenidas al amplificar micro y minisatélites de ADN de aislamientos argentinos de *N. ceranae*.

Conclusiones: El ensayo LAMP permite una rápida, sensible y económica detección de la infección con *N. ceranae*. Nuestros datos sugieren que la humedad ambiental sería un factor determinante de la carga de esporas de este parásito. La falta de polimorfismo en *N. ceranae* sugiere una introducción muy reciente del patógeno en Argentina. El desarrollo de LAMP y los conocimientos epidemiológicos logrados van a facilitar un mejor control de la nosemosis.

Palabras clave: *Apis mellifera*, nosemosis, *Nosema ceranae*, LAMP, genotipificación, regiones climáticas, Argentina