

I virus delle api

Hélène Berthoud, Anton Imdorf, Jean-Daniel Charrière, Monika Haueter e Peter Fluri
Agroscope Liebefeld-Posieux, Centro di ricerche apicole, Liebefeld, CH-3003 Berna

I virus sono parassiti intracellulari obbligati, in quanto la loro moltiplicazione dipende totalmente dall'interazione virus-cellula ospite. Finora i virus delle api individuati sono una ventina. Questa patologia colpisce soprattutto le larve, ma si ritiene che possa determinare pure una riduzione dell'aspettativa di vita nelle api adulte infettate.

I virus

I virus sono parassiti intracellulari obbligati, in quanto la loro moltiplicazione dipende totalmente dall'interazione virus-cellula ospite. Non sono considerati dei veri e propri organismi viventi perché sono inerti da un punto di vista metabolico, infatti le uniche funzioni biologiche che svolgono sono quelle necessarie al fine della moltiplicazione e avvengono esclusivamente all'interno della cellula ospite. Sono costituiti da acidi nucleici (materiale genetico), da un rivestimento proteico detto capside e, in alcuni casi, da un ulteriore involucro. I virus sono classificati a seconda del tipo di materiale genetico (DNA o RNA, a singolo o doppio filamento), della forma del capside e della presenza o meno di un ulteriore involucro. Queste caratteristiche influenzano la loro strategia di dispersione. Alcuni sono molto stabili nell'ambiente mentre altri restano inattivi nella cellula ospite, integrando il loro materiale genetico al genoma cellulare o restando localizzati nei tessuti meno sensibili. Alcuni virus possiedono una grande specificità e possono infettare soltanto un tipo di organismo ospite, altri invece infettano diverse specie con diversi gradi di virulenza. Gli organismi ospiti nei quali i virus provocano soltanto sintomi attenuati sono detti serbatoi di virus. L'equilibrio tra virus e organismo ospite è fragile e la minima variazione del grado di virulenza o del tasso d'infettività può avere gravi ripercussioni sulla popolazione dell'organismo ospite e su quella del virus.

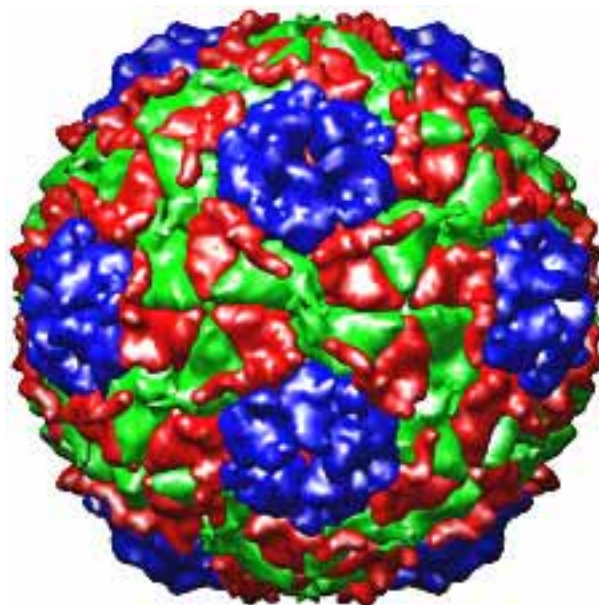


Fig. 1. Rappresentazione schematica di un virus della stessa famiglia del virus della paralisi acuta (APV). La struttura del virus era descritta da Reddy et al. (2001)⁷. I 3 colori rappresentano le 3 proteine del capside.

I virus delle api

La maggior parte dei virus conosciuti che colpiscono le api è simile ai Picornavirus, di cui fa parte il virus della polio. Sono virus di piccole dimensioni, caratterizzati da un diametro inferiore ai 40 nm, il cui materiale genetico è costituito da RNA a singolo filamento racchiuso nel capside formato da 3 proteine principali (fig. 1). Durante la moltiplicazione, la cellula ospite legge le informazioni contenute nel singolo filamento di RNA e sintetizza le proteine del capside così come l'enzima per produrre i nuovi filamenti di RNA che saranno integrati nei capsidi per formare nuovi virus che riempiono la cellula e che vengono liberati quando questa si rompe.

Finora i virus delle api individuati sono una ventina. Si tratta di una cifra indicativa siccome probabilmente ne esistono altri ancora sconosciuti mentre alcuni sono soltanto varianti geografiche di altri virus.

Il primo virus scoperto è stato il virus della covata a sacco (SBV^a), i cui sintomi tipici sono noti già da tempo (fig. 2, fig.3). Questa patologia colpisce soprattutto le larve, ma si ritiene che possa determinare pure una riduzione dell'aspettativa di vita nelle api adulte infettate⁵. In generale la malattia è tenuta sotto controllo dalla colonia, infatti le api sono in grado di rilevare le larve malate già ai primi stadi dell'infezione e le eliminano. Due studi mettono a confronto i tassi elevati di SBV ritrovati nelle api adulte morte appartenenti a colonie infestate dal *Varroa destructor*¹.

Il secondo virus scoperto è quello della paralisi acuta (APV^b). È stato isolato nel corso di infezioni sperimentali, ossia in larve o giovani api morte dopo aver ricevuto un'iniezione di un estratto di api morte apparentemente sane. L'APV era quindi presente nelle api sane, sotto forma di infezione inapparente. Questo virus sembra essere una delle cause di mortalità nelle colonie infestate dalla varroa. Il virus del Kashmir (KBV^c) assomiglia molto all'APV, tanto che talvolta questi due virus vengono confusi fra di loro. Questo virus è risultato il più virulento in laboratorio ed è pure presente nelle api apparentemente sane. Causa epidemie nelle colonie infestate dalla varroa, ma è stato descritto come agente epidemico anche in assenza di varroa¹. Il virus della paralisi lenta (SPV^d) ha la stessa sintomatologia dell'APV. In Europa questa patologia è stata osservata soltanto nel Regno Unito¹. Il virus delle ali opache (CWV^e) è fra i più comuni nei Paesi nordici senza tuttavia provocare danni o sintomi visibili⁶. Il virus delle ali deformate (DWV^f) ha una distribuzione fortemente legata a quella del *Varroa destructor*, anche se la presenza in Europa del DWV è anteriore. Il sintomo tipico è la deformazione delle ali (fig. 4) delle api che sono state infettate dalla varroa allo stadio larvale e sono riuscite a sopravvivere. Non si conoscono i sintomi dell'infezione contratta in età adulta. Il virus delle celle reali nere (BQCV^g) provoca la morte delle pupe reali e l'annerimento delle celle reali. L'infezione delle api adulte dipende dal parassita *Nosema apis* e riduce l'aspettativa di vita senza l'insorgenza dei sintomi tipici. Il virus della

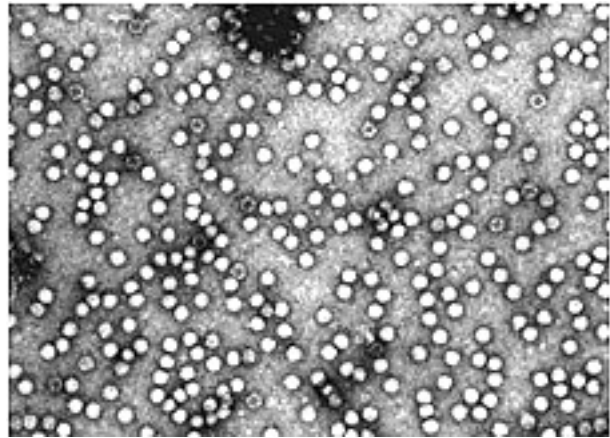


Fig. 2. Immagine al microscopio elettronico di virus della covata a sacco (SBV). (foto: Masanori Kubo, National Institute of Animal Health, Japan)



Fig. 3. Larva colpita dal virus della covata a sacco (SBV). (foto: Mid-Atlantic Apiculture Research and Extension Consortium)

^a Sacbrood Bee Virus

^b Acute Bee Paralysis Virus

^c Kashmir Bee Virus

^d Slow Paralysis Virus

^e Cloudy Wing Virus

^f Deformed Wing Virus

^g Black Queen Cell Virus

paralisi cronica (CPV^h) è il vettore della malattia nera o male di maggio. I sintomi di questa patologia sono la presenza all'entrata dell'apiario di api tremolanti, incapaci di volare e talvolta di api nerastre senza peluria. Questa malattia può provocare l'estinzione della colonia. Il virus CPV è indipendente dalla varroa e sembra interessare soltanto le api adulte. L'elevata densità di api e di colonie come pure la mancanza di cibo sembrano favorire l'insorgenza di tale malattia.

Riassumendo, la maggior parte dei virus è presente nelle colonie sotto forma di infezione inapparente. I sintomi osservati dipendono da dose e modalità d'infezione, stadio di sviluppo dell'ape nonché stato generale della colonia. Le cause dello sviluppo della malattia non sono conosciute e possono variare da un virus all'altro. La comparsa della varroa sembra aver modificato la relazione virus-ape in Europa per quel che concerne i virus DWV, APV, KBV, SPV e SBV. La varroa può trasmettere i virus alle pupe che sono più sensibili, mentre prima della comparsa di questo acaro erano le api adulte a venir maggiormente infettate. Inoltre aumenta il tasso d'infettività e soprattutto cambiano le modalità d'infezione. In laboratorio il numero di virus APV necessari per provocare un'infezione per iniezione è centomila volte inferiore a quello necessario per provocare un'infezione per contatto e un milione di volte inferiore a quello per provocare un'infezione per ingestione ².



Fig. 4. Ape colpita dal virus delle ali deformi (DWV). (foto: Martin Dettli, Dornach)

Attività di ricerca – 2004

Nel 2004 il Centro svizzero di ricerche apicole di Liebefeld ha lanciato un progetto di ricerca sui virus delle api. L'obiettivo è sviluppare metodi per la diagnosi delle malattie virali al fine di spiegare determinate estinzioni di colonie nonché valutarne la portata in Svizzera. Nella prima tappa del progetto i metodi di detezione dei virus DWV, APV, KBV, SBV, BQCV e CPV sviluppati in Francia ⁴ sono stati adeguati al nostro laboratorio. I metodi utilizzati sono detti molecolari. Il principio generale è la detezione del materiale genetico dei virus, RNA in questo caso. Una volta messi a punto i metodi funzionali, la prima questione è stata individuare i virus presenti in Svizzera nelle colonie considerate sane. A tal fine, ad agosto, apicoltori di diverse regioni ci hanno inviato campioni di api prelevati al foro di volo. I campioni analizzati comprendevano una cinquantina d'insetti e provenivano da 6 colonie per apiario e da 13 apiari. I risultati sono presentati nella tabella 1. Mostrano che il KBV non è stato riscontrato in nessun campione e che il CPV è stato osservato soltanto in 9 colonie su 78. In 66 delle 78 colonie, tuttavia, era presente almeno un virus. Il DWV è stato il virus maggiormente riscontrato (51 casi). 35 colonie sono risultate positive per più di un virus. Questi risultati corrispondono a quelli dello studio più completo realizzato dal Laboratorio di patologia comparata degli invertebrati dell'Università di Montpellier ⁴. I virus riscontrati con maggior frequenza negli apiari sono soprattutto i virus DWV, SBV e BQCV ed in misura minore il virus APV. I virus riscontrati più raramente, invece, sono i virus KBV e CPV, con una frequenza rispettivamente di circa 1 apiario su 10 e 1 su 5⁴.

^h Chronic Bee Paralysis Virus

Tab. 1: Presenza dei virus in Svizzera in agosto 2004 in colonie sane.

+++ : segnale positivo molto forte, ++ : segnale positivo forte,
 + segnale positivo, (+) : segnale positivo basso, +/- : segnale
 positivo molto basso,
 +/-? : segnale supposto positivo, - : segnale negativo

Apiario	Colonia	APV	CPV	DWV	BQCV	SBV	KBV	Apiario	Colonia	APV	CPV	DWV	BQCV	SBV	KBV
								7	1	-	-	-	-	-	-
									2	-	-	+/-	-	++	-
									3	-	-	+	-	-	-
									4	-	-	-	-	-	-
									5	-	-	+/-	-	-	-
									6	-	-	-	-	-	-
1	1	-	-	+++	+/-?	-	-	8	1	++	+	+++	+	-	-
	2	-	-	+++	++	-	-		2	+	+	++	+	-	-
	3	-	-	-	+++	+++	-		3	+++	+	+++	+++	-	-
	4	-	-	+++	+/-?	+/-?	-		4	++	+	+++	+++	+	-
	5	-	-	+++	-	+/-?	-		5	+	-	+	++	-	-
	6	-	-	+++	-	-	-		6	-	-	+/-	++	-	-
2	1	-	-	-	-	-	-	9	1	-	-	+++	+	-	-
	2	-	-	+/-	-	-	-		2	-	-	+++	++	-	-
	3	++	-	+	-	-	-		3	-	-	+++	+++	-	-
	4	-	-	-	-	-	-		4	-	-	+++	+++	-	-
	5	+++	-	-	-	-	-		5	+/-	-	+++	+++	-	-
	6	+++	-	-	-	-	-		6	+/-	-	+++	+	-	-
3	1	+++	-	-	-	-	-	10	1	+++	-	+	-	-	-
	2	-	-	+	-	-	-		2	+	-	+	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-		3	-	-	++	-	-	-
	4	+	-	-	-	-	-		4	-	-	-	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-		5	-	-	+	-	-	-
	6	-	-	-	-	+/-	-		6	-	-	-	-	-	-
4	1	-	-	+++	-	-	-	11	1	-	-	-	-	+	-
	2	-	-	+++	-	-	-		2	-	-	+++	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-		3	-	-	+	-	+	-
	4	-	-	-	-	+	-		4	-	-	+++	-	+/-	-
	5	-	-	++	-	-	-		5	-	-	-	-	+	-
	6	-	-	++	+	-	-		6	-	-	+/-	-	+++	-
5	1	-	-	-	+++	-	-	12	1	-	-	+	-	-	-
	2	-	(+)	+	+++	++	-		2	+++	-	+++	+/-	-	-
	3	-	(+)	-	++	-	-		3	+++	-	+++	-	-	-
	4	-	-	+	+++	+/-	-		4	-	-	+++	-	-	-
	5	(+)	(+)	-	++	-	-		5	-	+	+++	-	-	-
	6	-	-	+++	+++	-	-		6	-	+	+++	-	-	-
6	1	+/-	-	-	-	++	-	13	1	-	-	+++	-	-	-
	2	-	-	-	-	++	-		2	-	-	+++	-	-	-
	3	-	-	-	-	+++	-		3	-	-	+++	-	-	-
	4	+/-	-	+	-	++	-		4	-	-	+++	-	-	-
	5	-	-	-	-	-	-		5	+	-	+++	-	-	-
	6	-	-	-	-	-	-		6	-	-	+++	-	-	-

Attività di ricerca – 2005

Siccome i virus sono presenti nelle colonie considerate sane, l'obiettivo per il 2005 è mettere a confronto i campioni provenienti da colonie sane con quelli provenienti da colonie in cui si sono osservati casi di forte mortalità o addirittura di estinzione. All'inizio dell'anno, alcuni apicoltori ci hanno segnalato casi di forte mortalità che hanno interessato i loro apiari. I campioni da analizzare sono costituiti da api invernali. Sono state prelevate api morte dalle colonie estinte, api vive e morte dalle colonie indebolite e api vive dalle colonie apparentemente sane dello stesso apiario e di quelli senza problemi. Non sono stati ancora analizzati tutti i campioni e quindi i risultati verranno pubblicati in un prossimo articolo. Tuttavia è stato possibile delineare una prima tendenza che sembra mostrare per le api invernali la presenza quasi sistematica di APV negli apiari con problemi e la sua assenza negli apiari sani. Il DWV è presente in tutti gli apiari, contrariamente ai virus KBV, CPBV, SBV, BQCV che sono generalmente assenti. Per i virus DWV e APV sono state svolte analisi quantitative. Inoltre saranno effettuate analisi individuali su api provenienti da colonie estinte, indebolite o sane, in modo da fare una stima della percentuale di insetti infettati e del tasso virale. In tal modo si spera di poter distinguere in maniera analitica le colonie sane dalle altre.

Se nel corso dell'anno ci verranno segnalati altri casi di mortalità d'api, provvederemo all'analisi di altri campioni con la probabilità d'individuare altri virus dominanti. Inoltre, visto che la varroa ha un ruolo nella trasmissione di virus quali DWV e APV, intendiamo valutare il legame tra tasso di varroa, tasso di virus e dimensione della colonia. Questa ricerca sarà svolta nell'ambito di un progetto condotto da Martin Dettli³, nel quale 11 colonie isolate, di cui 7 non trattate contro la varroa, sono seguite nell'arco di diversi anni. Verranno rilevati i dati relativi alle colonie ovvero stimate la dimensione della popolazione, la quantità di covata e l'importanza della popolazione di varroa, nonché verranno stoccati campioni per le analisi virali, che saranno svolte, con tutta probabilità, non prima del 2006.

Ringraziamenti

Un sentito ringraziamento va agli apicoltori che hanno preso parte allo studio 2004, la cui collaborazione è fondamentale per l'esito di simili ricerche. Si ringraziano anche Laurent Gauthier e Max Bergoin di Montpellier per la loro totale disponibilità a condividere i loro metodi d'analisi ed esperienza.

Bibliografia

1. Allen, M. and B. Ball. 1996. The incidence and world distribution of honey bee viruses. *Bee World* 77:141-162.
2. Ball, B. 2005. Infectivity tests and their interpretation. *Bee Research And Virology in Europe. Conference Proceeding*
3. Dettli, M. 2004. Bienenhaltung ohne Varroabehandlung. *Versuchsplan*
4. Gauthier, L., D. Tentcheva, F. Cousserans, J. M. Bonmatin, M. Bergoin, and M. E. Colin. 2003. Le point sur la présence de virus dans les ruchers français. *Abeilles et fleurs* 644:28-31.
5. Grabensteiner, E., A. Ritter, M. J. Carter, S. Davison, H. Pechhacker, J. Kolodziejek, O. Boecking, I. Derakhshifar, R. Moosbeckhofer, E. Licek, and R. Nowotny. 2001. Sacbrood virus of the honeybee (*Apis mellifera*): Rapid identification and phylogenetic analysis using reverse transcription-PCR. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8:93-104.
6. Nordstrom, S., I. Fries, A. Aarhus, H. Hansen, and S. Korpela. 1999. Virus infections in Nordic honey bee colonies with no, low or severe *Varroa jacobsoni* infestations. *Apidologie* 30:475-484.
7. Reddy, V. S., P. Natarajan, B. Okerberg, K. Li, K. V. Damodaran, R. T. Morton, C. L. Brooks, III, and J. E. Johnson. 2001. Virus Particle Explorer (VIPER), a website for virus capsid structures and their computational analyses. *J Virol.* 75:11943-11947.