

ACARIOSIS DE LAS ABEJAS

RESUMEN

*La acariosis o enfermedad acarina es una enfermedad de la abeja adulta de la miel *Apis mellifera* L. y de otras especies de *Apis*. Está causada por el ácaro Tarsonémido *Acarapsis woodi* (Rennie), conocido como ácaro traqueal. El ácaro tiene un tamaño aproximado de 150 μm y es un parásito interno del sistema respiratorio, que vive y se reproduce sobre todo en la gran tráquea protorácica de la abeja. A veces se encuentra también en los sacos aéreos de la cabeza y en los torácicos y abdominales. Los ácaros se alimentan de la hemolinfa de su hospedador.*

Los efectos patológicos en las abejas infectadas dependen del número de parásitos en la tráquea y se deben tanto a daños mecánicos como a disfunciones fisiológicas derivadas de la obstrucción de los conductos aéreos, lesiones en las paredes traqueales y descenso de la hemolinfa. A medida que aumenta la población de parásitos, las paredes traqueales, que normalmente son blancas y traslúcidas, se vuelven opacas y descoloridas con manchas eruptivas negras, probablemente debidas a incrustaciones de melanina.

La mortalidad puede variar de moderada a alta. Las primeras manifestaciones de la infección suelen pasar desapercibidas, y sólo cuando la infección es masiva se hace aparente. Suele ocurrir a principios de primavera. La infección se extiende por contacto directo. En general, sólo son sensibles las abejas recién salidas del huevo con menos de 10 días de edad. La reproducción tiene lugar dentro de la tráquea de las abejas adultas, donde las hembras del ácaro pueden depositar 8–20 huevos. Se producen de 2 a 4 veces más hembras que machos. El desarrollo dura 11–12 días para los machos y 14–15 días para las hembras.

Identificación del agente: *Los parásitos se ponen de manifiesto sólo por métodos de laboratorio y por microscopía. Se necesita observar los ácaros dentro de las tráqueas o extraerlos de ellas para observación microscópica. Se dispone de diversas técnicas para demostrar la presencia de los ácaros, como la disección, la homogenización y la tinción.*

Los tórax de abejas sospechosas se diseccionan para exponer la tráquea. Cada tráquea se examina con un microscopio de disección ($\times 18$ – 20), donde se pueden ver los ácaros a través de la pared transparente como pequeños cuerpos ovals.

Alternativamente, se pueden prensar u homogeneizar en agua muestras mayores de abejas sospechosas y después filtrar la suspensión y centrifugarla. El precipitado se trata con ácido láctico sin diluir durante 10 minutos, luego se prepara para examen microscópico.

Los parásitos se pueden teñir por técnicas histológicas de modo que se observen dentro de la tráquea de la abeja. Se separan las tráqueas, se clarifican con 8% de hidróxido potásico, y se tiñen con 1% de azul de metileno. Éste es el mejor método cuando hay que analizar gran número de muestras.

Pruebas serológicas: *No hay pruebas serológicas disponibles*

Requisitos para las vacunas y los reactivos de diagnóstico: *No hay productos biológicos disponibles. Los niveles de ácaros se pueden mantener bajo control con cristales de mentol o preparaciones de aceite hechas con aceite vegetal (no con grasa animal) o con azúcar blanco granulado.*

A. INTRODUCCIÓN

La acariosis es una enfermedad de la abeja adulta de la miel *Apis mellifera* L. y de otras especies de *Apis*, causada por el ácaro Tarsonémido *Acarapsis woodi* (Rennie). El ácaro tiene un tamaño aproximado de 150 μm y es un parásito interno del sistema respiratorio (Figura 1). Esto ácaros traqueales entran, viven y se reproducen principalmente en la gran tráquea protorácica de todas las abejas, alimentándose de la hemolinfa de su hospedador (Figura 2). A veces se encuentran también en los sacos aéreos de la cabeza, tórax y abdomen (5).

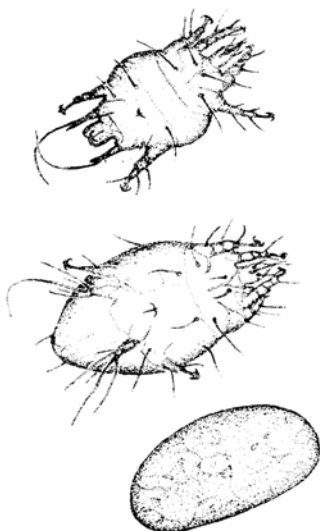


Fig. 1. *Acarapsis woodi* Rennie. Arriba: Macho adulto. Centro: Hembra adulta. Abajo: Huevo.

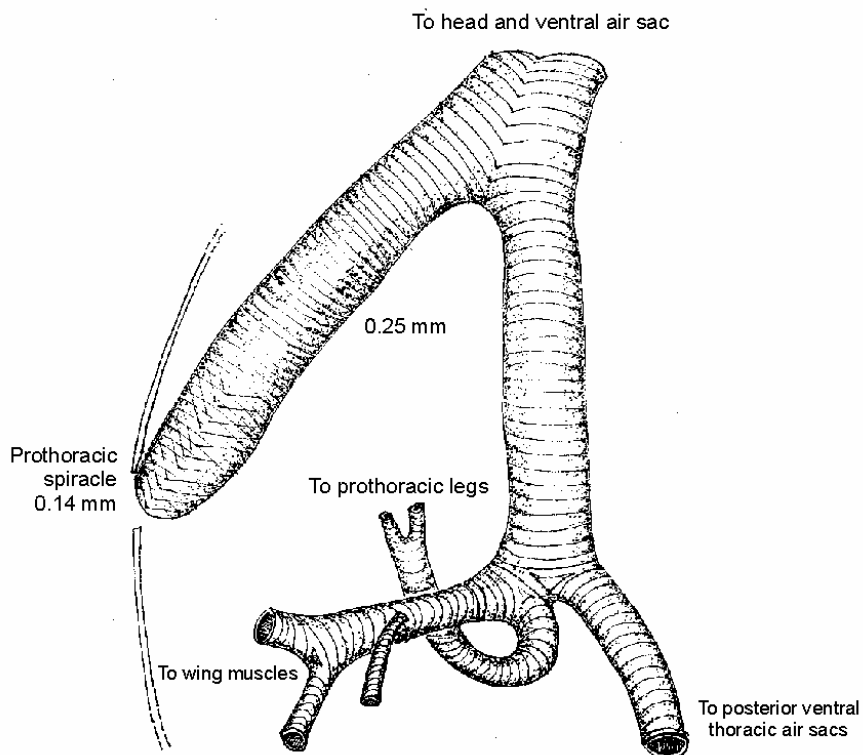


Fig. 2. Principales tráqueas torácicas de la abeja de la miel donde suele encontrarse *Acarapsis*; las infecciones más leves se encuentran cercanas a la abertura del espiráculo.

Los efectos patológicos en las abejas individuales dependen del número de parásitos en la tráquea y se deben tanto a daños mecánicos como a disfunciones fisiológicas derivadas de la obstrucción de los conductos aéreos, lesiones en las paredes traqueales y descenso de la hemolinfa. A medida que aumenta la población de parásitos, las paredes traqueales, que normalmente son blancas y traslúcidas, se vuelven opacas y descoloridas con manchas eruptivas negras, probablemente debidas a incrustaciones de melanina (4).

La mortalidad varía de moderada a alta. Los primeros signos de infección pasan generalmente desapercibidos, excepto en lo que se refiere a una pequeña disminución en el tamaño de la colonia. Sólo cuando la infección es masiva se hace aparente. Esto suele ocurrir a principios de primavera, después del período invernal de agrupamiento, cuando los ácaros se reproducen y se multiplican sin problemas en las abejas que sobreviven al invierno. Esto es válido fundamentalmente en el Hemisferio Norte, donde hay variaciones estacionales en la reproducción de las abejas.

La infección se extiende de una abeja a otra por contacto directo. En general, solamente son sensibles las abejas jóvenes de menos de 10 días de edad. Los intentos de cultivar *A. woodi* con dietas artificiales y sintéticas no han tenido éxito, aunque se ha logrado en parte su cultivo en los estadios inmaduros de la misma abeja de la miel (6). La vida de los ácaros en abejas muertas es de aproximadamente 1 semana. La reproducción de los ácaros ocurre dentro de las tráqueas de las abejas adultas, donde las hembras pueden depositar de 8–20 huevos. Se producen de 2 a 4 veces más hembras que machos; el desarrollo dura 11–12 días para los machos y 14–15 días para las hembras.

No hay signos clínicos fiables para el diagnóstico de la acariosis debido a que no son específicos y la abeja se comporta de modo muy similar a como lo hacen abejas afectadas por otras enfermedades o trastornos. Giran sobre sí mismas cerca del enjambre y se suben a las briznas de hierba, incapaces de volar. Se puede presentar disentería.

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

1. Identificación del agente

La acariosis sólo se puede detectar en el laboratorio mediante examen microscópico o por enzimoimmunoensayo (ELISA). No hay un método fiable para la detección de niveles muy bajos de infección. El número de abejas en la muestra determina el umbral de detección del método. Se ha comprobado que se puede detectar una tasa de infección del 2% utilizando 50 abejas, mientras que una tasa de infección del 1% se detecta utilizando 100 abejas (el límite de confianza es del 80% para una colonia de tamaño medio en primavera). Debido a la cantidad de trabajo manual requerido, es adecuado examinar 50 abejas. En la ref. 15 se dan datos sobre muestreo secuencial. El mejor tiempo para coger abejas de muestra es a principios de primavera o en el otoño tardío (Hemisferio Norte), cuando las poblaciones de *Acarapsis* son elevadas. La observación de ácaros es más fácil en abejas viejas, que tienen más. Se pueden utilizar muestras de abejas reinas, zánganos u obreras, pero *Acarapsis* prefiere los zánganos.

a) Disección (7)

Se toma al azar una muestra de 50 abejas de la colonia sospechosa, principalmente de abejas que se arrastran e incapaces de volar, que se encuentren dentro de un área de unos 3 metros del frente de la colmena. Las abejas pueden ser vivas, moribundas o muertas. Las vivas se matan primero con alcohol etílico o en un congelador (–20°C); las abejas no deben llevar muertas más de 2–3 días a menos que se hayan mantenido a 4°C hasta 4 semanas o a –20°C hasta 2 meses. Pueden conservarse de modo indefinido en una solución de conservante tal como Oudemann: ácido acético glacial (80 ml); glicerol (50 ml); etanol al 70% (870 ml).

- **Procedimiento de la prueba**

- i) Fijar las abejas de espaldas o mantenerlas con el dedo pulgar y el índice.
- ii) Quitar la cabeza y las patas delanteras utilizando unas pequeñas pinzas y eliminar el collar que rodea la abertura del cuello para exponer la tráquea (Figura 3). Inspeccionar las tráqueas más cercanas al espiráculo (pues los ácaros entran a través del espiráculo) para ver pequeñas infecciones. Las infecciones más densas son fácilmente visibles como manchas u objetos oscuros en las tráqueas de color marrón claro a oscuro. Las infecciones más antiguas y densas dan un color marrón oscuro a las tráqueas.
- iii) Cortar el tórax con una cuchilla afilada entre el par de las patas medias y la base de las alas anteriores. Estos pequeños discos se pueden tratar más para eliminar el tejido muscular.
- iv) Macerar con ligero calentamiento en una solución de hidróxido potásico al 8% durante unos 20 minutos o dejando la preparación sin calentamiento durante toda la noche.

- v) Examinar el primer par de tráqueas, que están cubiertas por tejido muscular, en un microscopio de disección a un aumento de x 18–20, o transferir las tráqueas a otro porta, añadir glicerina o agua y observar a mayor aumento.
- vi) Los ácaros se ven con facilidad como pequeños cuerpos ovales a través de la pared transparente.

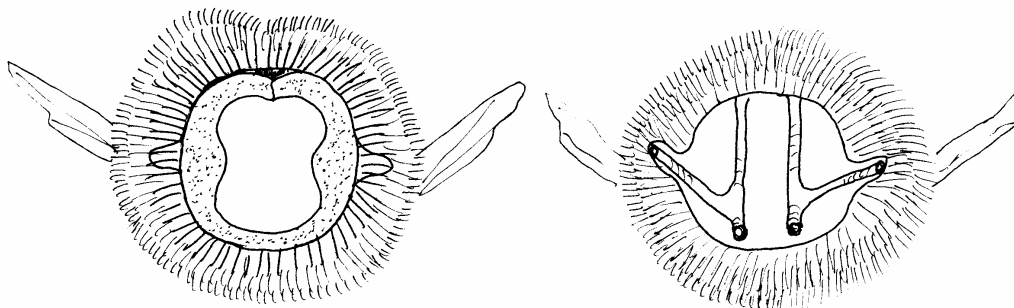


Fig. 3. Izquierda: vista frontal del tórax de la abeja con la cabeza eliminada y el collar intacto. Derecha: El collar ha sido extraído y las tráqueas expuestas para ver las aberturas del espiráculo.

Esta es la técnica más simple y fiable para el diagnóstico de la acariosis, que facilita la detección de infecciones iniciales y permite establecer la tasa de infección. Utilizando un microscopio de disección, con esta técnica se pueden detectar incluso infecciones leves. Sólo en ocasiones muy excepcionales será necesario emplear mayores aumentos para establecer un diagnóstico. Sin embargo, esta técnica es exigente, sobre todo cuando se tiene que hacer un gran número de diagnósticos de acariosis. Si sólo es necesario distinguir entre colonias con infecciones ligeras y masivas o colonias no infectadas, la disección se puede detener en el paso ii y observar el color de las tráqueas.

b) Homogenización (3)

Se toma al azar una muestra de 200 abejas de la colonia sospechosa. Se quitan del tórax de cada abeja las patas y las alas, y se juntan los cuerpos en un recipiente de 100 ml lleno de agua hasta la cuarta parte. Esta suspensión se homogeniza tres veces, varios segundos cada vez, en un homogenizador a 10.000 rpm añadiendo más agua. La solución que resulta se pasa a través de un filtro (malla de 0,8 mm) y el filtro se lava con agua hasta un volumen final de unos 50 ml. El filtrado se centrifuga a 1.500 *g* durante 5 minutos y se elimina el sobrenadante. Se añaden unas cuantas gotas de ácido láctico sin diluir el precipitado, que contiene los ácaros. Se deja reposar durante 10 minutos para que se disuelvan las fibras musculares, y luego se hace un montaje bajo un cubre para examen microscópico. Esta técnica es más rápida que la disección, pero menos exacta. A menudo en el tórax de abejas sanas se encuentran ácaros externos como *A. externus*, *A. vagans* y *A. dorsalis*, que son morfológicamente similares a *A. woodi* y que pueden confundirse fácilmente con *A. woodi* (Cuadro 1). Sin embargo, no parecen ocasionar ningún daño serio a las abejas o a sus cuidadores. Por tanto, este método debería elegirse sólo cuando lo que se necesita es una estimación aproximada del grado de infección en una región. No resulta apropiado para diagnosticar un primer brote.

Cuadro 1. Diagnóstico diferencial de especies de Acarapsis (13)

Carácter	<i>A. dorsalis</i>	<i>A. externus</i>	<i>A. woodi</i>
Muesca de la placa coxal	Profunda	Corta	Aplanada
Espacio entre los estigmas	16.7 µm	16.8 µm	13.9 µm
Longitud de la pata tarsal (VI par de patas)	7.6 µm	11.4 µm	7.5 µm

c) Tinción (9)

Los ácaros y la tráquea se pueden teñir específicamente, haciéndolos fácilmente visibles por microscopía.

- **Procedimiento de la prueba**

- i) Eliminar la cabeza y las patas delanteras.
- ii) Hacer un corte transversal a través de las áreas membranosas detrás de las patas delanteras.
- iii) Hacer un segundo corte transversal entre el par de las patas medias y la base de las alas anteriores.
- iv) Para clarificar las secciones (1–1,5 mm de grosor), colocarlas en una solución de hidróxido potásico al 8%.
- v) Agitar lentamente y calentar hasta casi ebullición durante 10 minutos hasta que los tejidos internos blandos se disuelvan y clarifiquen, dejando intactos los tejidos quitinosos.
- vi) Recuperar las secciones por filtración y lavar con agua del grifo.
- vii) Teñir y montar las secciones.
- viii) Examinar para ácaros a bajo aumento en microscopio.

Los montajes permanentes se preparan según técnicas histológicas usuales.

Los colorantes catiónicos son los más adecuados y específicos pues tiñen con intensidad los ácaros pero débilmente las tráqueas. Lo más adecuado es una solución de azul de metileno al 1% en agua, preparada disolviendo primero el azul de metileno y luego añadiendo cloruro sódico hasta hacer una solución con 0,85% de NaCl.

- **Procedimiento de la prueba**

- i) Teñir con 1% de azul de metileno acuoso.
- ii) Diferenciar las secciones en agua destilada durante 2–5 minutos.
- iii) Lavar las secciones con alcohol al 70%.

Los ácaros retienen el colorante 6 horas cuando se mantienen en etanol al 95% (1). En esta técnica resulta importante macerar bien los tejidos en la solución de hidróxido potásico. Es posible con este método procesar un gran número de muestras rápida y cómodamente.

d) **Enzimoimmunoensayo**

Se ha desarrollado una técnica ELISA para ácaros de la tráquea (8, 11, 12). Esta técnica puede dar resultados positivos falsos, y por tanto sólo se recomienda para exámenes de reconocimiento. Otro método es la detección de guanina, un producto nitrogenado de desecho de los ácaros (10).

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS Y LOS MATERIALES DE DIAGNÓSTICO

No existen productos biológicos disponibles. Si se dejan en la colonia durante 28 días, los cristales de mentol (50 g para una colonia de dos pisos) controlan los ácaros, con tal de que la temperatura ambiente sea al menos 18°C. El intervalo de temperatura óptima para que se produzcan vapores es de 27–29°C. Pequeños pasteles hechos con aditivos grasos (como margarina, no con grasa animal) y azúcar blanco granulado pueden mantener los niveles de ácaros al 10%. Los pastelillos (de unos 100 g de peso) deben colocarse sobre las barras superiores de la estructura de la colmena en el otoño y a principios de la primavera (14). El ácido fórmico se puede utilizar para tratar colonias infectadas.

Algunas razas de abejas, como las abejas Buckfast (2) y las cepas higiénicas son menos susceptibles al ataque de *Acarapis*.

AGRADECIMIENTOS

Los dibujos son de Diana Sammataro y se reproducen con su permiso.

REFERENCIAS

1. BANCROFT J.D. & STEVENS A. (1982). Theory and Practice of Histological Techniques. Churchill Livingstone, Edinburgh, UK.

2. BROTHER A. (1968). 'Isle of Wight' or acarine disease: its historical and practical aspects. *Bee World*, **49**, 6–18.
3. COLIN M.A., FAUCON J.P., GIANFERT A. & SARRAZIN C. (1979). A new technique for the diagnosis of Acarine infestation in honey bees. *J. Apic. Res.*, **18**, 222–224.
4. GIORDANI G. (1964). Recherches au laboratoire sur *Acarapis woodi* (Rennie), agent de l'acariose des abeilles (*Apis mellifera* L.). Note 3. *Bull. Apic.*, **7**, 43–60.
5. GIORDANI G. (1965). Recherches au laboratoire sur *Acarapis woodi* (Rennie), agent de l'acariose des abeilles (*Apis mellifera* L.). Note 4. *Bull. Apic.*, **8**, 159–176.
6. GIORDANI G. (1970). Ricerche di laboratorio su *Acarapis woodi* (Rennie), agente dell'acarosi delle api mellifere (*Apis mellifera* L.) Nota 6. *Ann. Acc. Naz. Agric.*, **90**, 69–76.
7. GIORDANI G. (1974). Méthodes de diagnostic des maladies des abeilles adultes. Diagnostic de l'acariose. *Bull. Apic.*, **17**.
8. GRANT G., NELSON D., OLSEN P. & RICE W.A. (1993). The ELISA detection of tracheal mites in whole honey bee samples. *Am. Bee J.*, **133**, 652–655.
9. PENG Y. & NASR M.E. (1985). Detection of honey bee tracheal mites (*Acarapis woodi*) by simple staining techniques. *J. Invertebr. Pathol.*, **46**, 325–331.
10. MOZES–KOCH R. & GERSON U. (1997). Guanine visualization, a new method for diagnosing tracheal mite infestation of honey bees. *Apidologie*, **28**, 3–9.
11. RAGSDALE D. & FURGALA B. (1987). A serological approach to the detection of *Acarapis woodi* parasitism in honey bees using an enzyme–linked immunosorbent assay. *Apidologie*, **18**, 1–10.
12. RAGSDALE D. & KJER K.M. (1989). Diagnosis of tracheal mite (*Acarapis woodi* Rennie) parasitism of honey bees using a monoclonal based enzyme–linked immunosorbent assay. *Am. Bee J.*, **129**, 550–553.
13. RITTER W. (1996). Diagnostik und Bekämpfung der Bienenkrankheiten (Diagnosis and control of bee diseases). Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart, Germany.
14. SAMMATARO D. & NEEDHAM G.R. (1996). Host–seeking behaviour of tracheal mites (Acari: Tarsonemidae) on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Exp. Appl. Acarol.*, **20**, 121–136.
15. TOMASKO M., FINLEY J., HARKNESS W. & RAJOTTE E. (1993). A sequential sampling scheme for detecting the presence of tracheal mite (*Acarapis woodi*) infestations in honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies. *Penn. State Agric. Exp. Stn Bull.*, 871.

*

* *

NB: Existe un laboratorio de referencia de la OIE para la Acariosis de las abejas (véase el Cuadro en la Parte 3 de este *Manual de animales terrestres* o consúltese la página Web de la OIE para conseguir la relación más actualizada: www.oie.int).