

Viruses 2013, 5, 2282-2297;

Chronic Bee Paralysis Virus and Nosema ceranae Experimental Co-Infection of Winter Honey Bee Workers (*Apis mellifera* L.)

[sinergia fra CBPV e Nosema ceranae]

Ivan Toplak , Urška Jamnikar Ciglencčki , Katherine Aronstein and Aleš Gregorc

Introduction

Perdite di alveari non attribuibili a *Varroa* sono all'ordine del giorno in Europa e America . Una sconosciuta combinazione di fattori stressanti è sospettata di esserne causa [1,2,4]. Perciò, la conoscenza dei meccanismi di diffusione dei patogeni e degli effetti sinergici fra i differenti patogeni nell'alveare è cruciale per comprendere la dinamica delle problematiche sanitarie delle api [4–6]. Il virus della paralisi cronica Chronic bee paralysis virus (CBPV) causa una patologia infettiva alle api adulte le quali manifestano sintomi di paralisi che conducono alla morte [7,8]. Due forme patologiche risultano attualmente ben definite e ascrivibili al virus . La prima forma di patologia si manifesta sotto forma di anormale tremore del corpo e delle api . Le api sintomatiche non sono in grado di volare , spesso strisciano sul terreno morendo di fronte alla colonia . Possono presentare addome rigonfio e si accalcano a grappolo.

La seconda forma di patologia si manifesta con perdite di peli e api nere [9,10]. Api inoculate in laboratorio mostrano sintomi clinici dopo 5–6 giorni post inoculazione (dpi), similmente a quanto osservato in api naturalmente infettate [7,11]. CBPV può anche persistere in modo asintomatico [12,13].

CBPV è presente nel mondo intero ; probabilmente come risultato di intensivi scambi commerciali di api e materiali [8]. In Francia , la prevalenza di CBPV è risultata del 28% [14], 9% in Austria, 4% in Danimarca, 0% in Hungary e 15%–18.3% in Slovenia) [15–19].

Effetti sinergici tra *Nosema apis* e diversi virus delle api [filamentous virus (FV), bee virus Y (BVY) and black queen cell virus (BQCV)] sono stati osservati anni addietro [22]. L' infezione dell' epitelio dello stomaco avviene per os ovvero per via orale quando l'ape ingerisce le spore di *N. ceranae* spores [24]. Il ciclo di riproduzione di *N. ceranae* è completato

in meno di tre giorni nell'ape asiatica [25]. Consistenti lisi (deterioramenti) delle cellule epiteliali indotte da *N. apis* mostrano massiva mortalità cellulare e denutrizione dell'ape dovuta ad impossibilità di assorbire i nutrienti [26].

Il presente studio descrive i risultati di tre infezioni sperimentali su api invernali con CBPV (field strain M92/2010) oppure co-infezione con CBPV e *N. Ceranae*.

Results and Discussion

La co-infezione di operaie con CBPV e *N. ceranae* mostra una aumentata abilità di replicazione del virus CBPV quando inoculato per contatto, suggerendo un effetto sinergico tra *N. ceranae* e replicazione di CBPV. Il più alto livello di mortalità di api è osservato col virus inoculato per via orale, confermando che questo virus è un importante patogeno delle api adulte. In gruppi di operaie inoculati simultaneamente con CBPV e *N. ceranae* per os si è osservato lo stesso tasso di mortalità del gruppo inoculato con CBPV p/c (per contatto), seguito dal gruppo inoculato con solo *N. ceranae* p/o (per os).

Tutti questi tipi di trasmissione orizzontale sono possibili sia all'interno dell'alveare che tra apiari.

2.2. Esperimento No II: CBPV Co-Infezione con *N. ceranae*

In questo esperimento No II, i due modi di infezione virale a mezzo CBPV (p/o vs. p/c) sono stati testati in congiunto con infezione da *N. Ceranae* (p/o co-infezione). Si è trovato che l'inoculazione p/c con CBPV a solo (group I A) scatena replicazione virale solo nel 12% delle api infettate mentre il 70,6% risulta infettato con la più alta incidenza di replicazione virale con api co-infettate con CBPV p/c e *Nosema* spore p/o.

CBPV può risultare un importante patogeno la replicazione del quale è scatenata da *N. Ceranae* e in coppia possono essere responsabili di indebolimento degli alveari. Per contro, i dati supportano il fatto che *N. ceranae* può essere un importante patogeno in co-infezione con CBPV oltre che "a solo" [21].

I risultati supportano precedenti osservazioni indicanti che il sistema digestivo delle api sia il sito primario di infezione da CBPV [29]. *N. ceranae* causa danni all'epitelio dello stomaco e sopprime la risposta immunitaria dell'ape. Il che può aumentare la virulenza del patogeno virale. In aggiunta, i risultati mostrano che la co-infezione con CBPV e *N. ceranae* può aumentare la replicazione virale anche quando CBPV si trova a infettare per contatto api infette da *Nosema*.

2.3. Experiment No III: The Mortality Test

Inoculazione delle api con CBPV e / o *N. ceranae* rivelano l'impatto negativo sulla sopravvivenza delle api invernali. I dati confermano maggiore mortalità nelle api infettate rispetto al gruppo di controllo. Tutto ciò conferma che l'infezione da CBPV può essere una delle cause maggiori di perdite di alveari [18,19].

2.4. CBPV e *N. ceranae* agiscono in maniera sinergica ?

Pur ammettendo che altri patogeni non identificati nello studio possano avere un ruolo - In Slovenia, l'80%–90% delle api adulte è positiva a BQCV e il 97% dei campioni contiene almeno un virus [19]- i due patogeni testati in questo studio, CBPV e *N. ceranae*, agiscono in maniera sinergica sulla replicazione di CBPV specialmente quando il virus infetta per contatto. Sarà molto interessante ripetere lo studio su api estive.

Conclusions

The replication in individual bees after p/o inoculation was most successful, while the replication of CBPV was less effective when bees were inoculated p/c. Co-infection of workers with CBPV and *N. ceranae* showed increased replication ability for CBPV when using p/c inoculation, suggesting a synergistic effect of *N. ceranae* on CBPV replication. The highest level of bee mortality was observed in the group of bees inoculated with CBPV p/o, confirming that this virus is an important pathogen responsible for adult bee mortality. In the group of workers simultaneously

inoculated with CBPV and *N. ceranae* p/o, we observed the same rate of mortality as in group inoculated with CBPV p/c, followed by the group inoculated only with *N. ceranae* p/o. CBPV is widespread and the results of this experimental study confirm that CBPV alone and combined with *N. ceranae*, is an important pathogen.