

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y FORESTALES**



Título: Manejo de la loque americana en Argentina, desde su introducción a la actualidad.

Nombre y Apellido: **Maite Arribillaga**

Legajo: **24161/9**

DNI: **28779614**

Correo electrónico: maite.arribillaga@agro.unlp.edu.ar, maitearri@hotmail.com

Teléfono: **221-5372118**

Director: **Dra. Albo Graciela**

Co-director: **Dr. Reynaldi Francisco**

Modalidad: **Revisión bibliográfica**

A. RESUMEN

La loque americana (LA) es la enfermedad bacteriana más grave que afecta a las abejas melíferas (*Apis mellifera*, L) tiene distribución cosmopolita. El agente causal es *Paenibacillus larvae*, una bacteria gram positiva flagelada, cuya principal característica es la formación de endosporas altamente resistentes. Este patógeno afecta la cría durante las etapas larval o pupal, siendo sus esporas la forma infecciosa. Las larvas de abejas son más susceptibles a la infección durante las primeras 36 horas después de la eclosión del huevo. Eventualmente conduce al colapso de la colonia entera, cuando no se detecta a tiempo y se procede a su control. La enfermedad es considerada muy contagiosa; por lo tanto, es una patología de declaración obligatoria en la mayoría de los países, incluyendo a la Argentina. Desde su introducción a la Argentina, en 1989, se realizaron distintas investigaciones para controlar la enfermedad. Los primeros estudios se basaron en el empleo de antibióticos hasta que en 2016 se prohibieron debido a la aparición de casos de resistencia. Otras líneas de trabajo ensayaron aceites esenciales, control biológico, pautas de profilaxis y manejo como alternativas de control para asegurar mieles sin residuos de antibióticos, exigidas en el mercado internacional. El propósito de este Trabajo Final de Carrera es realizar una revisión bibliográfica del manejo de la LA desde su introducción en la Argentina en 1989, a la actualidad.

ÍNDICE GENERAL

A.	RESUMEN	2
B.	INTRODUCCION	7
C.	OBJETIVO GENERAL	9
D.	METODOLOGIA DE REVISION BIBLIOGRAFICA	9
E.	RESULTADO DE LA REVISION	9
1.	Patogénesis	10
2.	Filogenia de <i>Päaenibacillus larvae</i>	11
3.-	Distribución de la loque americana	12
	<u>3.1. En el mundo</u>	12
	<u>3.2. En Argentina</u>	13
4.	Síntomas clínicos	14
5.	Epizootiología	16
6.	Alternativas de control de loque americana	17
	6.1. En la Unión Europea y Estados Unidos	17
	6.1.1. <i>Quema de colmenas vs Control con antibióticos</i>	17
	6.2. Estrategias de control de loque americana empleadas en Argentina desde su detección al presente	19
	<u>6.2.1. Uso de antibióticos</u>	19
	6.2.1.1. <i>Características de los antibióticos más usados y estudiados para el control de la loque americana</i>	20

6.2.1.1.1. <i>Tetraciclinas</i>	20
6.2.1.1.2. <i>Tilosina</i>	21
6.2.1.1.3. <i>Lincomicina</i>	22
6.2.1.1.4. <i>Eritromicina</i>	23
6.2.1.1.5. <i>Estreptomicina</i>	23
6.2.1.1.6. <i>Sulfonamidas</i>	23
6.2.1.1.7. <i>Cloranfenicol</i>	24
6.2.1.1.8. <i>Sulfatiazol sódico</i>	25
6.2.1.1.9. <i>Tilmicosina</i>	25
6.2.1.2. <i>Problemas con los residuos de antibióticos en mieles</i>	25
6.2.1.3. <i>Surgimiento de la resistencia a antibióticos:</i>	26
<u>6.2.2. <i>Buenas prácticas apícolas</i></u>	28
6.2.2.1. <i>Monitoreo y diagnóstico temprano</i>	28
6.2.2.2. <i>Aislar colonias enfermas (cuarentena):</i>	28
6.2.2.3. <i>Higiene y profilaxis: métodos</i>	29
6.2.2.3.1. <i>Destrucción total por fuego de colmenas enfermas</i>	30
6.2.2.3.2. <i>Paqueteado o enjambre artificial</i>	30
6.2.2.3.3. <i>Método de la sacudida, cepillado o trasvase simple o Cepillado doble</i>	31
6.2.2.3.4. <i>Paqueteado en cámaras de cría</i>	32
6.2.2.3.5. <i>Raleo de panales enfermos</i>	33
6.2.2.4. <i>Descontaminación o esterilización del material inerte</i>	33

6.2.2.4.1. <i>Por inmersión en parafina:</i>	33
6.2.2.4.2. <i>Por esterelizacion de la madera por fuego:</i>	34
✓ <i>Flameado:</i>	35
✓ <i>Quemado: en forma de chimenea</i>	35
6.2.2.4.3. <i>Lavado con soda cáustica:</i>	35
6.2.2.4.4. <i>Óxido de etileno</i>	35
6.2.2.4.5. <i>Hipoclorito de sodio:</i>	35
6.2.2.4.6. <i>Irradiación</i>	36
6.2.2.4.7. <i>Calor y Presión</i>	36
6.2.2.4.8. <i>Tratamiento con solución al 1% de Virkon S</i>	36
6.2.2.5. <i>Desinfección de la indumentaria y herramientas del apicultor:</i>	37
<u>6.2.3. <i>Control fitobióticos</i></u>	37
6.2.3.1. <i>Control con aceites esenciales y extractos naturales</i>	37
6.2.3.1.1. <i>Marcela de campo</i>	38
6.2.3.1.2. <i>Manzanilla y tomillo andino</i>	38
6.2.3.1.3. <i>Canela</i>	39
6.2.3.1.4. <i>Laurel</i>	39
6.2.3.1.4. <i>Ajedrea, tomillo, lemon grass y orégano</i>	39
6.2.3.2. <i>Control con propóleos</i>	40
6.2.3.3. <i>Control con jalea real</i>	41
<u>6.2.4. <i>Control con bacterias y bacteriocinas</i></u>	41

<u>6.2.5. Selección genética</u>	42
6.3. Situación actual de a loque americana relacionada a la pérdida de colmenas	43
F. CONCLUSION	44
G. BIBLIOGRAFIA	46
H. ANEXO	65

B. INTRODUCCIÓN

Las abejas melíferas (*Apis mellifera*, L.) están ligadas al bienestar humano porque a través del pecoreo impactan en el mantenimiento de la biodiversidad. Son protagonistas centrales de la reproducción de las plantas silvestres y la producción de cultivos. Constituyen el grupo más importante de polinizadores manejados por el hombre, ya que visitan más del 90% de los 107 cultivos globales básicos que garantizan la seguridad alimentaria en el mundo (Potts et al., 2016). Por este motivo, en el mundo la apicultura forma parte integral de la agricultura, ya sea como actividad principal o complementaria (Narjes et al., 2019).

En los últimos años, la polinización y la producción de miel se han visto amenazadas por una serie de condiciones hostiles y, para complejizar este escenario, la agricultura mundial está aumentando la dependencia de la polinización entomófila año tras año, (Aizen et al., 2008; Aizen et al., 2019). Más aún, en este momento, donde los polinizadores silvestres están disminuyendo, las abejas melíferas crecen más lentamente que la demanda agrícola de polinización y también se ven afectadas por las pérdidas de población (Aizen et al., 2009; Potts, 2010; Saéz et al., 2020).

En este contexto mundial, la República Argentina se posiciona como el 4° productor y 3° exportador mundial de miel, después de China y Australia (Manzoni, 2021). Históricamente, exporta el 95% de su producción anual, que para el año 2020, se estima correspondería con 72.000 toneladas. Los principales compradores de miel argentina son: Estados Unidos y Alemania (más del 60% de lo exportado); el resto se destina a destinos tales como España, Italia, Francia, Reino Unido y Japón (Manzoni, 2021). Solo el 5% de la producción se utiliza para consumo interno (SAGyP, 2020), en

este sentido, se sabe que el consumo de miel per cápita de Argentina es muy bajo, de tan solo 250 gramos/habitante/año (SAGyP, 2020).

El clúster productivo apícola está compuesto por 14.000 productores y 3,3 millones de colmenas, distribuidos en 21 provincias, según datos de la Coordinación Nacional de Apicultura, del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (MAGyP) (Manzoni, 2021). Este sistema productivo ha adquirido en los últimos 20 años una organización destacada, cuenta con un Sistema de trazabilidad Apícola (SENASA, 2020) y un Sistema de Certificación de Exportaciones Apícolas (SENASA, 2020). Según datos oficiales en Argentina, de los 14.000 apicultores inscriptos, el 80% tiene 200 colmenas o menos y sólo un 5% tiene 2.000 o más colmenas (SENASA, 2019). Por otra parte, según (Ardanaz 2016), la provincia de Buenos Aires posee cerca del 42% de las colmenas de nuestro país; el pequeño apicultor posee hasta 50 colmenas y, sólo se ocupa los fines de semana; el apicultor mediano, de 50 a 400 colmenas que también tiene otro ingreso y, el apicultor profesional que tiene más de 500 colmenas y vive de la actividad exclusivamente.

En las últimas décadas se ha observado una pérdida significativa de abejas en Estados Unidos, Europa y, más recientemente en América Latina, Esta pérdida tendría un origen multifactorial, y entre los indicadores más significativos están la exposición a fitosanitarios, los efectos agudos del cambio climático, mala nutrición, inadecuado manejo de las colmenas y distintos patógenos que afectan a la abeja. Entre ellos, una de las mayores amenazas para las colonias de abejas y la viabilidad de la apicultura es la loque americana (LA), una enfermedad bacteriana altamente contagiosa y letal, que se encuentra distribuida alrededor del mundo. El agente etiológico de la LA es la bacteria *Paenibacillus larvae*, que junto a *Melissococcus plutonius*, agente etiológico de la loque europea, son las únicas dos enfermedades bacterianas que afectan a las

crías de las abejas. Sin embargo, se diferencian entre sí, ya que la loque europea solo afecta a las larvas en el estadio de cría abierta y no representa un riesgo severo para el apicultor. Existen además otras infecciones que afectan a las crías de las abejas como la cría yesificada, originada por el hongo *Ascosphaera apis* y, la cría ensacada provocada por el virus SBV. Además, las pupas de las abejas pueden verse afectadas por una infestación generada por el ácaro *Varroa destructor*, que también afecta a las abejas adultas (Ritter, 2014)

C. OBJETIVO GENERAL

Realizar una revisión bibliográfica del Manejo de la loque americana en Argentina, desde su introducción a la actualidad y, determinar el estado actual de esta patología en nuestro país.

D. METODOLOGIA DE REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Para realizar la revisión bibliográfica se utilizaron bases de datos científicas internacionales y regionales como: La Referencia.info/es; <https://scihub.org/search/>; search.google.com; doarj.org; redaly.org; scopus.com; researchgate.net; [google scholar.com](https://google-scholar.com); scielo.org. y revisiones tecnológicas nacionales. Se estudió la patogénesis, filogenia de *P. larvae*, distribución de la loque americana, síntomas clínicos, epizootiología de la enfermedad y en particular las distintas alternativas de control que se emplearon en el país desde la detección de loque americana en Argentina, en 1989, hasta el presente.

E. RESULTADOS DE LA REVISION

1. Patogénesis

La LA es la enfermedad bacteriana más grave que afecta a las larvas de las abejas melíferas (*Apis mellifera*, L.) y presenta una distribución cosmopolita (Genersch et al., 2010; Alippi, 2017). El agente causal de LA es *Paenibacillus larvae* (*P larvae*), una bacteria Gram positiva flagelada, cuya principal característica es la formación de endosporas altamente resistentes, que constituye la forma infectiva de la patología (Alonso-Salces et al., 2017). Este patógeno infecta a la etapa larval, mientras que sus signos clínicos aparecen en la etapa de pupa (Genersch et al., 2006). Eventualmente puede conducir al colapso de la colonia entera (Genersch et al., 2010; Alippi, 2017). La infección de las larvas se produce por la ingestión de las esporas con el alimento (miel, polen y jalea real) proporcionado por las abejas nodrizas a las larvas (Hansen & Brodsgaard, 1999; Forgen et al., 2018). Las larvas de abeja melífera son altamente susceptibles a la infección durante las primeras 36 horas (h) después de la eclosión del huevo (Ashiralieva & Genersch, 2006), de hecho, sólo diez esporas se requieren para enfermar una larva de menos de 24 h (Bamrick, 1967). Sin embargo, se requieren dosis mucho más altas para infectar con éxito una larva de mayor edad, en condiciones naturales (Genersch et al., 2005). Experimentalmente, se comprobó que la DL₅₀ (dosis letal media) es de $8,49 \pm 1,49$ esporas para larvas de 24-48 horas de edad mientras que se necesitan millones de esporas para infectar larvas de más de 2 días (Hansen & Brødsgaard, 1999; Borracci et al., 2004). La relación dosis-mortalidad está muy influenciada por la edad de las larvas, la constitución genética y la cepa bacteriana (Genersch et al., 2005). Las abejas adultas no son afectadas (Genersch et al., 2010).

Las esporas germinan en el intestino de la larva y las células vegetativas atraviesan la membrana peritrófica e infectan la hemolinfa, multiplicándose activamente (Genersch et al., 2010). Finalmente, la larva muere debido a la septicemia y sus cadáveres son

digeridos por las células bacterianas vegetativas que finalmente esporulan y transforman esas larvas en un material gomoso primeramente y luego en escamas secas que contienen millones de esporas de *P. larvae* (**Foto1**) (Hansen & Brodsgaard 1999; Cornman et al., 2013; Djukic et al., 2014).



Foto 1. Pupa afectada por loque americana, transformada en una escama típica de la enfermedad (Reynaldi & Leveratto

2. Filogenia de *Paenibacillus larvae*

Hace más de un siglo, George F. White, fue quien caracterizó por primera vez el agente etiológico de LA denominándolo *Bacillus larvae* debido a su forma de bastón y la capacidad de formar endosporas (White, 1906). Casi 100 años después, en 1993 Ash y colaboradores realizaron un estudio del ARN 16s y lograron reclasificar al género *Bacillus* en dos géneros, *Bacillus* y *Paenibacillus*, ubicando en este género a la especie *Paenibacillus larvae*. Posteriormente, (Heyndrickx et al 1996) subdivide a la especie *P. larvae* en dos subespecies, *P. larvae larvae* y *P. larvae pulvificiens*. Finalmente, De Graaf y colaboradores (2006), a partir de un estudio taxonómico polifásico que comprendió características morfológicas, bioquímicas y estudios genómicos del ADN bacteriano, usando técnicas de rep-PCR y electroforesis en gel de

campo pulsado (PFGE), concluyeron que la diferenciación entre las subespecies *P. larvae larvae* y *P. larvae pulvifaciens* no era justificada, ya que ambas eran variantes de la especie *P. larvae*, sin diferenciación a nivel de subspp. En la actualidad, el uso de huellas dactilares de ADN generadas por rep-REP y empleando primers BOX-PCR y REP-PCR permiten distinguir cuatro patrones distintivos de *P. larvae*, denominados A, B, C y D (Genersch et al., 2010.)

En Argentina, (Alippi & Aguilar, 1998) confirmaron la presencia de tres genotipos (A, B y C). Posteriormente, en 2004 (Alippi et al., 2004) caracterizaron distintas poblaciones de la especie *P. larvae* a partir de un estudio donde se recuperaron aislamientos de *P. larvae* a partir de mieles de la provincia de Buenos Aires, Argentina. En ese muestreo se detectó por primera vez el genotipo D por primera vez en nuestro país. Los patrones de huellas dactilares rep-PCR obtenidos se compararon con los patrones existentes en una colección mundial de cepas de *P. larvae*. Otro hallazgo derivado del estudio molecular de los aislamientos de *P. larvae* fue el hecho de detectar el patrón C (solo encontrado en Argentina), y en una muestra de Uruguay ubicada en la línea fronteriza, lo que sugiere que el genotipo C podría haber sido derivado del genotipo A y diseminado a Uruguay desde Argentina. Estos tipos de hallazgos apoyan la hipótesis de que la LA está expuesta a una presión selectiva limitada de fuentes climáticas y ambientales (Alippi et al., 2004)

3. Distribución geográfica de la loque americana

3.1. En el mundo

Debido a su naturaleza altamente contagiosa y patogénica, la LA causa enormes pérdidas económicas a la apicultura. La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) considera que la enfermedad es de importancia socioeconómica en el comercio

internacional de abejas y productos apícolas (Djukic et al., 2014, Meziane et al., 2015). La enfermedad está presente en todo el mundo, excepto en la región central de Africa (Ellis & Munn, 2005; Human et al., 2011, Pirk et al., 2016) y en India (Pieterse et al., 2014), donde no existen registros de la patología. En América Latina y Central se la detectó en países como Uruguay, Colombia, Ecuador, Perú, México, Cuba, Belice, Haití, Bermudas, Jamaica, Bahamas, Costa Rica, Guatemala, Nicaragua, Panamá, y Chile (Matheson & Reid, 1992; Matheson, 1996; OIE, 2004; 2008). Estudios más recientes determinaron la presencia de la enfermedad en Uruguay, Brasil, Colombia; Chile y Argentina (Alippi et al., 2014; Maggi et al., 2016; Requier et al., 2018).

3.2. En Argentina

En 1980, *P. larvae* se detectó por primera vez en América del Sur en mieles argentinas (Hansen, 1984). En 1989, se registró el primer brote de LA en la localidad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina (Alippi et al., 2014). Este foco se originó en un colmenar de 1500 colmenas de abejas italianas, que sufrió una mortandad del 42%. El productor había realizado una importación de reinas de un criadero no fiscalizado de Estados Unidos (Alippi & Nuñez, 1991). A partir del primer brote, se originó una epidemia en toda la Argentina (Alippi & Nuñez, 1991).

Desde su introducción en la Argentina, se difundió en todas las zonas productoras del país, difusión posiblemente vinculada a la trashumancia de colmenas con el objeto de realizar multiplicación temprana de colonias, aumentar la producción de miel y polinizar cultivos, además de la compra-venta de núcleos, colmenas, paquetes y reinas sin control sanitario (Alippi, 1992a; Alippi et al., 2004; Passucci et al., 2006). Cabe destacar, que en 1994 se realizó un Taller Internacional sobre LA que reunió a especialistas extranjeros y nacionales que trabajaban el tema. Su objetivo fue elaborar en forma conjunta un paquete tecnológico de estrategias de control y prevención para

ser implementadas en todo el país. De este modo y ayudados por una coyuntura de precios altos en los años subsiguientes, se desarrolló el programa de "Control de Loque Americana", el cual estaba respaldado por un fuerte criterio técnico. Así se entra en una etapa llamada "de maduración" en la cual la enfermedad pasa por diversos momentos de un control casi total a la presencia de pequeños focos peligrosos en distintas regiones apícolas. La concientización del productor sobre la seriedad del problema llevó a una transformación de la industria apícola, la cual generó tecnologías tendientes a reducir el número de esporas de *P. larvae* en los materiales apícolas y consecuentemente la incidencia de la enfermedad.

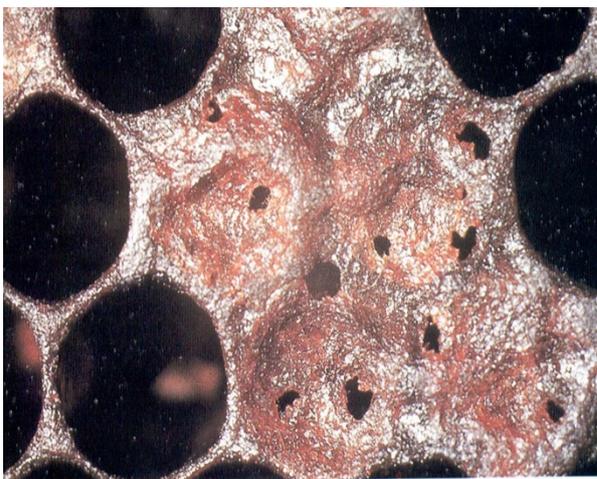
Según la Secretaría de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentación (SAGPyA), ya en el año 2005 nuestro país tenía una incidencia del 5% de la enfermedad. La prevalencia de la enfermedad no supera el 5% (Reynaldi & Guardia López, 2011). Actualmente, a pesar de existir frecuentes denuncias de pequeños focos infecciosos que requieren su atención (Laboratorio Central de Apicultura, MAA, Com. Pers., 2015), Es importante recordar que en la República Argentina la LA es una enfermedad de declaración obligatoria a SENASA, a través de la Resolución N° 383 del 16 de agosto de 1990 de la ex-Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca, y es este organismo el que eleva la denuncia a la OIE (Oficina Internacional de Epizootias de la Organización Mundial de Sanidad Animal) (OIE, 2020; Alippi, 2014).

4. Síntomas clínicos

Los síntomas clínicos más frecuentes en colonias que sufren LA se manifiestan por la presencia de celdas de cría vacías, intercaladas con celdas con cría (cría salteada), que muestra celdas operculadas y desoperculadas, ubicadas en forma irregular en los cuadros de cría. Los opérculos se presentan oscuros, hundidos, a menudo perforados (**Foto 2**) y, al introducir un palillo en el interior de las celdas, se observa que la pupa se

ha transformado en un “material pegajoso”, que se estira más de 2,5 cm **(Foto 3)**. Posteriormente, las pupas afectadas se transforman en escamas, estiradas a lo largo de la celda y firmemente adheridas **(Foto 1)**. La colonia afectada presenta olor a cola de carpintería. El diagnóstico se basa en la observación de estos síntomas clínicos en la colmena y en el aislamiento bacteriano a partir del material de colonias infectadas

1 (De Graaf et al., 2006).



2

3 **Foto 2. Opérculos hundidos, oscurecidos y grasientos** (Reynaldi & Leveratto)



4

5 **Foto 3. Estadíos pupales afectados de loque americana. La pupa, con**
6 **septicemia, se estira 2,5 cm y contiene millones de endosporas de *P. larvae***
7 **(Reynaldi & Leveratto)**

8

9 5. Epizootiología

10 La resistencia de las esporas de *P. larvae* es el principal problema en el control y
11 prevención y además favorece la diseminación de la enfermedad, ya que estas
12 esporas pueden sobrevivir más de 35 años a campo, varios años en la miel, e incluso
13 en el material apícola (Generch et al., 2010). Esta estructura propia de las esporas, les
14 da la capacidad de tolerar la acción de desinfectantes de uso común. Una vez que se
15 infecta una larva de menos de 36 horas de vida con esporas viables de *P. larvae*, esta
16 larva en general logra llegar a pupa y es en ese estadio donde muere,
17 transformándose primero en un material viscosa de color marrón oscuro que se puede
18 estirar hasta 2,5 cm (**Foto 3**). Luego de 10 días aproximadamente y debido a las
19 características de temperatura y humedad constante dentro de la colmena (Genersch
20 et al., 2010), esta masa viscosa se transforma en una escama seca fuertemente
21 adherida a la celda que contiene entre $1,5$ y $2,5 \times 10^9$ esporas (Genersch et al., 2010)
22 (**Foto 1**). Tanto el material viscoso como la escama que se encuentran dentro de las
23 celdas, intentan ser retirados de las celdas por las abejas “limpiadoras” utilizando sus
24 mandíbulas y maxilas. De esta forman “contaminan” sus piezas bucales con esporas
25 de *P. larvae*. Posteriormente, y debido a que las abejas son insectos sociales y pasan
26 por diversas funciones, las abejas limpiadoras pasan a ser “nodrizas” que alimentan a
27 las larvas En primera instancia las abejas nodrizas alimentan a las larvas grandes (3 a
28 6 días de edad) con papilla de miel (miel + polen + saliva) y luego comienzan a
29 alimentar a las larvas chicas (0 a 3 días de edad) con jalea real que es producida por
30 las glándulas hipo faríngeas. Simultáneamente, las abejas pecoreadoras cuando
31 regresan a la colmena con cargas de néctar o polen, transfieren las cargas a otras
32 abejas, principalmente el néctar a otras abejas obreras hasta que finalmente depositan
33 miel “verde” en las celdas (trofalaxia). Si la colonia tiene síntomas de loque americana

34 (escamas o material viscoso), las nodrizas, que primeramente fueron abejas
35 limpiadoras, distribuyen el alimento que les llega a partir de la trofalaxia con esporas
36 de *P. larvae*, generando la diseminación de la infección a otras celdas de la colonia.
37 Tanto el material viscoso como la escama de la pupa con LA, son difíciles de remover
38 de las celdas y las abejas limpiadoras tienen mayor tiempo de contacto y
39 contaminación. Este es el ciclo epizootiológico dentro de una colonia. Una vez que las
40 esporas están disponibles en la colonia, se pueden diseminar en los enjambres, la
41 deriva natural de las abejas (que suele darse en hasta el 5% de los viajes de pecoreo),
42 el pecoreo; el intercambio del equipo y materiales de la colmena entre colonias o
43 colmenares (Feldlaufer et al., 2001; Mutinelli, 2003; Lindström et al., 2008; Ritter,
44 2014); la multiplicación de material vivo contaminado (núcleos, reinas, celdas reales;
45 jalea real; miel, cera) (Fries & Camazine, 2001)

46 Una colonia enferma con LA se detecta cuando aparecen los síntomas clínicos, sin
47 embargo, muchas colonias pueden albergar muchas esporas de *P. larvae* sin mostrar
48 síntomas (Riessberger-Gallé et al., 2001).

49 **6. Alternativas de control de loque americana**

50 6.1. En la Unión Europea, Estados Unidos y Canadá

51 *6.1.1. Quema de colmenas vs Control con antibióticos*

52 En la Unión Europea (UE) las colmenas con infecciones por LA deben quemarse y
53 enterrarse (Anjum et al., 2015). Teniendo en cuenta que en la UE, las abejas se
54 clasifican como productoras de alimentos de origen animal. Por lo tanto, se debe
55 establecer un Límite Máximo de Residuos (LMR) del producto o metabolitos
56 intermedios en la miel para aprobar su comercialización. Hasta el presente, el Comité
57 de Medicamentos de uso veterinario (CVMP) no ha establecido los LMR para

58 antibióticos (ATB) y sulfonamidas en la miel, lo que significa que el uso de los
59 antibióticos en la apicultura es cero (0), y en la práctica no están permitidos el uso de
60 estos productos en colonias de abejas. La legislación actual ha prohibido el uso de
61 antibióticos en la mayoría de la UE para tratar la LA, ya que tienen el potencial de
62 dejar residuos en la miel (Bargańska et al., 2011).

63 Por otra parte, en los Estados Unidos de América (EUA) el tratamiento con antibióticos
64 de la clase de las tetraciclinas, que incluyen tetraciclina y el compuesto relacionado
65 con el clorhidrato de oxitetraciclina, ha sido el método preferido para tratar LA en los
66 últimos 50 años (Bulson et al., 2021). Entre ellos, la oxitetraciclina (OTC =
67 Terramycin®) es el antibiótico más utilizado para el tratamiento de esta enfermedad
68 (Kochansky et al., 2001). Más recientemente, la tilosina (Elzen et al., 2002; Alippi et al.,
69 2005) y la lincomicina (Pettis et al., 1996) se han estudiado e incluso utilizado para
70 controlar la LA a campo (Pettis et al, 1996).

71 En la actualidad en Estados Unidos y Canadá hay tres antibióticos aprobados para su
72 uso en abejas melíferas; oxitetraciclina, tilosina y lincomicina. Los veterinarios
73 documentan la aprobación del uso de antibióticos en la abeja melífera emitiendo una
74 receta siguiendo una Directiva de Regulación Veterinaria, según lo dicta la etiqueta.
75 Los veterinarios suministran los productos recetados, mientras que las Empresas
76 Veterinarias proporcionan los productos formulados. En Canadá, no existe un requisito
77 de Regulación, los mismos tres antibióticos se recetan y puede haber variaciones
78 regulatorias entre las provincias. Es importante que los veterinarios conozcan las leyes
79 de sus estados o provincias. Los tres antibióticos se aplican a las abejas melíferas
80 mezclándolos con azúcar y rociándolos dentro de la colmena. Los cambios de la Food
81 Drugs Administration (FDA) en UE y del Programa de Colmenar Provincial de Canadá
82 (Canadian Provincial Apiary Program) requieren que los veterinarios trabajen con una

83 especie con la que no han trabajado antes, la abeja melífera. Las oportunidades para
84 los veterinarios familiarizados con la apicultura crecerán a medida que los apicultores
85 comiencen a trabajar con los veterinarios y reconozcan sus habilidades como expertos
86 en el control de enfermedades (Cripps, 2021). Sin embargo, el uso de estos
87 antibióticos debe suspenderse con tiempo suficiente antes del flujo principal de miel,
88 60 días antes de la cosecha, para evitar residuos.

89 Resulta trascendental saber que el uso de antibióticos solo enmascara los síntomas y
90 no previene la propagación de la enfermedad porque son activos solo en la parte
91 vegetativa de la bacteria y no a los esporos; por eso el tratamiento con antibióticos sin
92 realizar una limpieza del material afectado solo genera un retraso en la aparición de
93 los síntomas, conocido como recurrencia de la LA, que se produce en poco tiempo
94 (Locke et al., 2019). Además, se han detectado cepas de *P. larvae* resistentes a los
95 antibióticos en los EE. UU., Canadá y Argentina (Alippi et al., 2007; Evans, 2003 ;
96 Miyagi et al., 2000).

97

98 **6.2. ESTRATEGIAS DE CONTROL DE LOQUE AMERICANA EMPLEADAS EN** 99 **ARGENTINA DESDE SU DETECCIÓN AL PRESENTE.**

100 6.2.1. Uso de antibióticos.

101 En Argentina se empleó OTC (oxitetraciclina) desde la década del 60 para el control
102 de loque europea en forma preventiva. Esta forma preventiva de administrar
103 antibióticos en los colmenares para evitar posibles infecciones, produjo un
104 enmascaramiento de los síntomas clásicos de LA, cuando ingresó *P. larvae* al país
105 Esta situación, complicó el diagnóstico de *P. larvae* en el laboratorio porque se
106 encontraban asociadas a otras bacterias saprobas como *Paenibacillus alvei* o

107 *Brevibacillus laterosporus* (Alippi, 1999). Alippi desarrolló un medio semiselectivo que
108 permite aislar *P. larvae* a partir de diversas muestras (Alippi, 1991, 1992, b; 1995).

109 Asimismo, en Argentina, la “administración preventiva” del ATB clorhidrato de
110 oxitetraciclina en las colonias durante décadas (Alippi et al., 2007), favoreció la
111 aparición de cepas resistentes (Reynadi et al., 2010a).

112 Ante la aparición de resistencia de cepas de *P. larvae* a la OTC y, considerando que
113 más del 50% de la miel argentina se exporta a la UE que exige residuos cero de ATB,
114 en 2016, el **Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA)**
115 estableció el “**Retiro y Prohibición**” del listado de productos veterinarios aprobados
116 para uso en apicultura de aquellos elaborados **en base al principio activo**
117 **oxitetraciclina**, destinados al tratamiento de las enfermedades loque americana y
118 loque europea (SENASA, 2016). Asimismo, cabe destacar que su uso está prohibido
119 en muchos otros países del mundo (Foram, 2010).

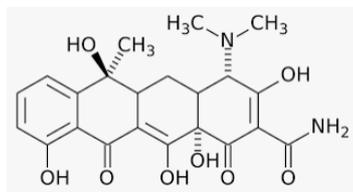
120

121 **6.2.1.1. Características de los antibióticos estudiados para el control de la loque**
122 **americana en Argentina, desde su introducción hasta 2016, momento de la**
123 **Prohibición de su Uso por SENASA**

124 **6.2.1.1.1. Tetraciclinas**

125 Las tetraciclinas son antibióticos bacteriostáticos de amplio espectro con una larga
126 trayectoria en medicina veterinaria y son utilizados para el tratamiento y control de una
127 amplia variedad de infecciones bacterianas. Oxitetraciclina (OTC), generalmente en su
128 forma de clorhidrato, se ha utilizado en la apicultura desde el principio de los años
129 sesenta para el tratamiento de enfermedades bacterianas de la cría como LA

130 (Hopingarner & Nelson, 1988) y LE (Waite et al., 2003; Thompson et al., 2005). Si bien
131 se puede usar un mismo ATB para el control de dos infecciones diferentes, nunca se
132 deberían usar dosis terapéuticas diferentes, ya que al aplicar la dosis mas baja (por
133 ejemplo en este caso para el control de LE), se genera una sudosificación para LA, lo
134 que favorece la selección artificial de cepas poco susceptibles al ATB en uso. Las
135 tetraciclinas inhiben en forma reversible la síntesis de proteínas, impidiendo la
136 asociación del aminoacil ARNt (aminoacil ARN de transferencia) con el ribosoma
137 bacteriano. Por lo tanto, para interactuar con su objetivo esta molécula necesita
138 atravesar uno o más sistemas de membranas dependiendo si la bacteria sensible es
139 Gram-positiva o Gram-negativa (Chopra & Roberts, 2001). La resistencia a tetraciclina
140 se debe generalmente a la adquisición, por parte de las bacterias comensales y
141 patógenas, de los genes *tet* (tetraciclina) y/o *otr* (oxitetraciclina). Usualmente estos
142 genes están asociados con plásmidos y/o transposones ósea una transferencia
143 horizontal de la resistencia (Abrahamovich, 2018).



144).

145 **Figura 1. Estructura química del antibiótico tetraciclina**

146 Reynaldi et al., 2016

147 6.2.1.1.2. Tilosina

148 La tilosina, un antibiótico macrólido que se ha utilizado a nivel mundial en apicultura.
149 Su eficacia fue probada por diferentes autores (Hitchcock et al., 1970; Moffett et al.,
150 1970; Peng et al., 1996; Pettis y Feldlaufer, 2005; Alippi et al., 1999, 2005; Reynaldi et
151 al., 2010). Se encontró que la tilosina era más estable en jarabe de azúcar que la OTC

152 (Kochansky et al., 1999). En Octubre de 2005, se aprobó Estados Unidos, el empleo
153 de Tylan (tartrato de tilosina) Soluble (Elanco Animal Health, Indianapolis, IN) para el
154 tratamiento de LA con síntomas clínicos visibles, pero no para uso preventivo en
155 colonias sanas. Se debe suspender el uso de tilosina al menos 4 semanas antes del
156 flujo de miel (Anon., 2010). El uso de tilosina contra LA fue promovido después de que
157 se demostrara que *P larvae* tiene resistencia a las tetraciclinas. En Argentina, la
158 tilosina fue evaluada *in vitro* y a campo (Alippi et al., 1999).

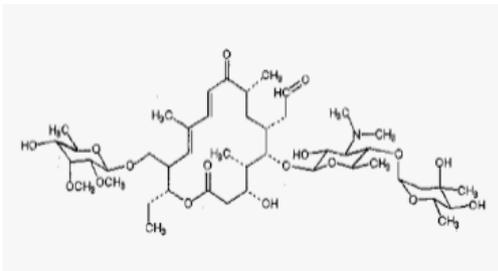
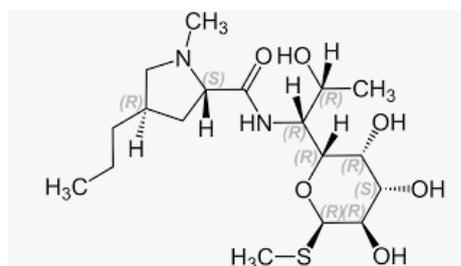


Figura 2. Estructura química de la tilosina

159

160 6.2.1.1.3. Lincomicina

161 La lincomicina pertenece al grupo de las lincosamidas. Su actividad contra las cepas
162 de larvas de *P larvae* ha sido reportado por algunos autores en el mundo (Okayama et
163 al., 1996; Kochansky et al., 2001), y en Argentina (Reynaldi, 2006). La lincomicina se
164 aprobó por la FDA en US para el control de LA, en colmenas resistentes a OTC. La
165 lincomicina fue eficaz para controlar la LA cuando se aplicó a las colonias de abejas
166 como polvo en el azúcar de repostería (Feldlaufer et al., 2001).



167

168

Estructura química de lincomicina

169 6.2.1.1.4. *Eritromicina*

170 La eritromicina, otro macrólido, se probó por primera vez en 1955 (Katznelson et al.,
171 1955; Katznelson, 1956). Según la bibliografía, se ha informado que la eritromicina es
172 eficaz contra LA (Machova, 1970; Okayama et al., 1996) y LE (Wilson y Moffett, 1957),
173 mientras que otros autores lo encontraron ineficaz contra LA (Katznelson et al., 1955;
174 Moffett et al., 1958; Alippi et al., 1999). A pesar de las dudas sobre su eficacia, los
175 apicultores profesionales de la región de Mármara meridional de Turquía utilizaron la
176 eritromicina (Gunes et al., 2008). En Argentina fue ensayada *in vitro* por Alippi (1992c)
177 y a campo (Alippi et al., 1999).

178 6.2.1.1.5. *Estreptomicina*

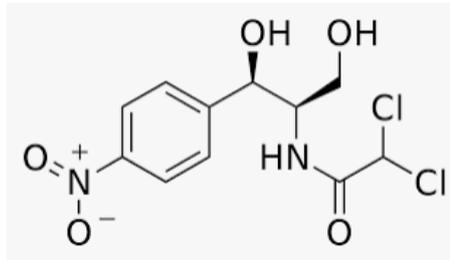
179 La estreptomicina es un antibiótico aminoglucósido utilizado en apicultura para
180 proteger a las larvas de las abejas contra una variedad de enfermedades bacterianas,
181 a pesar de que el fármaco no está autorizado en la mayoría de los países (UE, EUA,
182 Argentina),

183 6.2.1.1.6. *Sulfonamidas.*

184 Debido a la ineficacia de las sulfonamidas contra LA, su baja estabilidad y que deja
185 residuos en miel, en el año 60 se permitió que el registro caducara (Shimanuki & Knox,
186 1994). Algunos apicultores también aplican sulfonamidas contra nosemosis de forma
187 profiláctica entrando al invierno con solución de azúcar. Esta práctica, esta sugerida en
188 los manuales de apicultura y en publicaciones sobre el tratamiento de infecciones por
189 microsporidios y, aumentaron después que la fumagilina se volvió menos disponible en
190 la UE. **En Argentina no se usaron.**

191 6.2.1.1.7. *Cloranfenicol*

192 El cloranfenicol (CAP) es un potente antibiótico de amplio espectro, aunque ya hace
193 más de 25 años que se ha demostrado su carcinogenicidad potencial. Por esta razón,
194 este antibiótico ha sido prohibido en la UE desde 1994 para su uso en la producción
195 de alimentos de origen animal incluidas las abejas melíferas (Reglamento de la
196 Comisión (CE) No. 1430/94). En relación a su poder carcinogénico, se sabe que el
197 consumo de CAP puede presentar riesgos para la salud humana asociados con el
198 desarrollo de un trastorno sanguíneo potencialmente mortal, llamado anemia aplásica.
199 En Argentina está prohibido (Ortelli, et al., 2004).



200

201

Estructura química del cloranfenicol

202

6.2.1.1.8. Sulfatiazol sódico

203

Pertenece al grupo químico de las sulfamidas. No se ha recomendado debe usar en

204

Argentina desde mucho tiempo previo a la prohibición de OTC en 2016. Se han

205

encontrado un gran número de cepas bacterianas de *P larvae* resistentes al sulfatiazol.

206

Es importante recalcar que el sulfatiazol sódico permanece dentro de la colmena por

207

varios meses en forma activa, por lo cual su uso puede contaminar seriamente la miel.



208

Estructura química de sulfatiazol sodico

209

210 6.2.1.1.9. *Tilmicosina*

211 La tilmicosina es un antibiótico macrólido de uso veterinario. En Argentina fue
212 evaluado *in vitro* para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM)
213 sobre cepas de *P. larvae*, obteniéndose un valor de 0.250 mg/ml 1. Se determinó que
214 no fue tóxico sobre abeja adulta y se empleó a campo para el control de LA a 1000 mg
215 p.a/colonia. La tilmicosina eliminó los síntomas de LA por 60 días (Reynaldi et al.,
216 2008). En la actualidad, no se emplea, al igual que ningún ATB.

217 6.2.1.2. *Problemas con los residuos de antibióticos en mieles en el mundo y en* 218 *Argentina*

219 En China entre 1997–1998, cientos de miles de colmenas fueron infectadas por LA y
220 tratados por los apicultores con cloranfenicol o estreptomina para salvar sus
221 colmenas y su industria. En enero de 2002, preocupaciones sobre graves deficiencias
222 en el sistema de control y problemas relacionados al uso de sustancias prohibidas en
223 el ámbito veterinario, llevaron a la UE a emitir una suspensión de importaciones de
224 todos los productos de origen animal de China. La prohibición de importación de miel
225 de China se levantó en julio de 2004. Mientras tanto, se denunciaron un número
226 creciente de notificaciones de alerta con la presencia de cloranfenicol en la
227 importación de mieles de China (Anon., 2011).

228 En la UE, los nitrofuranos son sustancias prohibidas para todos animales productores
229 de alimentos. Nitroimidazoles El dimetridazol (DMZ), metronidazol (MNZ) y ronidazol
230 (RNZ) están clasificados en la UE como sustancias prohibidos. para todas las
231 especies productoras de alimentos (Zhou et al., 2007).

232 En general, las mayores concentraciones de residuos en la miel se encuentran dentro
233 de una semana después de la dosificación. Después, los niveles de residuos en la miel
234 disminuyen por la dilución producida por efecto del flujo de miel y, para algunos
235 compuestos (oxitetraciclina, tilosina, furazolidona), por una degradación del fármaco
236 original. No respetar el período de carencia de los productos de síntesis usados en
237 abejas permitirá la detección de “trazas” de estos productos, contaminando la miel de
238 manera inequívoca. De hecho, esas “trazas” pueden ser detectadas hasta un año
239 después de la aplicación de la droga. Esta residualidad es causada principalmente por
240 el hecho de que los antimicrobianos no son metabolizados activamente por las abejas
241 y, en consecuencia, toda la comida debe ser consumido por las abejas con el fin de
242 eliminar los residuos en la colmena (Baggio et al., 2009)

243 *6.2.1.3. Surgimiento de la resistencia a antibióticos:*

244 La medida de control más efectiva contra la LA, y empleada en la mayoría de los
245 países, como Reino Unido, Nueva Zelanda y muchos países de la U.E. es la quema de
246 todo el material de las colmenas afectadas incluyendo las abejas.

247 En Inglaterra, las colonias infectadas se tratan con oxitetraciclina o con el método de
248 enjambrado artificial, que consiste en trasvasar las abejas sobre marcos nuevos de
249 cera fundida destruyendo los viejos. La técnica de enjambrado artificial en
250 combinación con oxitetraciclina redujo la tasa de recurrencia de síntomas clínicos en la
251 colonia (Waite et al., 2003). Sin embargo, se recomienda el método de enjambrado
252 artificial sin tratamiento con oxitetraciclina porque los síntomas clínicos desaparecen
253 por el uso del antibiótico y los apicultores pueden favorecer la propagación de la
254 infección entre colonias inadvertidamente (Forsgren, 2010). La amplia difusión de
255 estas prácticas sanitarias incorrectas generó dos problemáticas en forma simultánea:
256 **1.** la presencia de residuos de antibióticos en miel -situación altamente riesgosa para

257 la salud de los consumidores- y **2-** la generación de resistencia de los agentes
258 microbianos que se querían controlar. Este escenario propició la aplicación de dosis
259 cada vez mayores, generando mayor resistencia (Grohmann et al., 2003; SENASA,
260 2016c). La emergencia de bacterias resistentes es consecuencia de la enorme
261 capacidad de adaptación que presentan; desarrollan diversos mecanismos de
262 resistencia que incluyen la modificación y la inactivación de la droga, la exclusión del
263 antibiótico y la modificación del punto diana, impidiendo de esta manera que el mismo
264 ejerza su mecanismo de acción. Sumado a esto, el suelo es también un reservorio
265 natural de bacterias productoras de antibióticos que contienen mecanismos de
266 resistencia intrínseca y genes de resistencia transferibles El aumento de la prevalencia
267 de la resistencia antimicrobiana en bacterias patógenas es el resultado de la evolución
268 y la presión selectiva debido a la amplia implementación del uso de antibióticos en
269 medicina humana, medicina veterinaria, alimentación animal y agricultura (Grohmann
270 et al., 2003; Popowska et al., 2012). Esta adaptación ocurre no por la mutación de las
271 poblaciones amenazadas, sino por la adquisición y diseminación, en la mayoría de los
272 casos, de genes de resistencia a antibióticos mediante elementos genéticos móviles,
273 tales como plásmidos y transposones. Éstos distribuyen eficientemente los
274 determinantes de resistencia a antibióticos, individualmente o en grupos, entre muchos
275 géneros y especies de bacterias. En Argentina, Alippi et al., (1992c) detectó
276 resistencia a oxitetraciclina. Actualmente existe en Argentina una sólida información
277 científica al respecto (Alippi & Reynaldi, 2006; Alippi et al., 2007; Alippi et al., 2014).

278 6.2.2. Buenas practicas apícolas

279 *6.2.2.1. Monitoreo y diagnóstico temprano*

280 El objetivo en el manejo sanitario del colmenar es mantener las colmenas sanas,
281 fuertes y productivas. Para ello se debe procurar que todas las prácticas de manejo

282 estén dirigidas a la prevención de las enfermedades, adoptando sistemas de
283 monitoreo estratégicos, renovación continua de cuadros y reinas, alimentación
284 adecuada y la introducción de material vivo con estricto control de sanidad, control y
285 profilaxis. En Argentina está prohibido el uso de antibióticos para su uso en apicultura
286 desde 2016 por el organismo de aplicación (SENASA, 2016a). Llevando a cabo esta
287 forma de trabajo y organización, se asegurará el cumplimiento de las estrictas normas
288 de control que rigen tanto el mercado nacional como el internacional a fin de tener
289 ventajas competitivas en la producción.

290 *6.2.2.2. Aislar colonias enfermas (cuarentena):*

291 Las estrategias de manejo deben ser la solución lógica para controlar esta infección.
292 Una técnica consiste en aislar las colonias enfermas para evitar que la enfermedad se
293 propague. Esta estrategia de cuarentena, lograda con la instalación de un lazareto, ha
294 sido eficaz para el control de brotes de LA en apicultura. La cuarentena puede ocurrir
295 en 2 niveles: cuarentena de colmena donde no hay material intercambiado entre
296 colmenas; o cuarentena de colmenar donde cada colmenar es gestionado por
297 separado con intercambio de equipos entre colmenares. Los resultados de la
298 estrategia de detección temprana y cuarentena aplicada son efectivas para reducir
299 significativamente la cantidad de esporas detectables de *P larvae*. La estrategia
300 también previno cualquier reaparición de brotes de enfermedad por LA. La destrucción
301 de colmenas siempre debe considerarse un último recurso, cuando todas las demás
302 medidas para prevenir una mayor propagación de la enfermedad son ineficaces (Datta
303 et al., 2013).

304 *6.2.2.3. Higiene y profilaxis: métodos*

305 Cualquiera de los métodos de control a implementar se deben llevar a cabo
306 indefectiblemente con un programa intensivo de revisiones periódicas de los apiarios
307 afectados en un intervalo mínimo de 90 días, incluida la época invernal, ya que una
308 sola colonia descuidada en el campo puede destruir el trabajo de recuperación de esta
309 patología de varios años (Matheson & Reid.,1992).-Los manejos preventivos que el
310 apicultor puede y debe realizar y observar a lo largo del año y a través de las cuales
311 podría llegar a alterar el ciclo de transmisión de esta enfermedad son: **1-** Dar un
312 manejo independiente al colmenar donde se haya detectado LA. **2-** Evitar la
313 transferencia o intercambio de panales de cría o de alimentos (miel y polen) entre
314 colmenas sin haber efectuado una revisión previa. **3-** No realizar la cosecha de miel
315 sin haber revisado las cámaras de cría. **4-** No comprar colmenas ni núcleos que no
316 hayan sido revisadas por un Inspector Sanitario Apícola. **5-** No alimentar a las abejas
317 con miel o polen de origen desconocido. **6-** Alimentar y/o estimular las colonias con
318 jarabe de azúcar o sustitutas del mismo. **7-** Colocar las colmenas en el apiario de
319 forma tal que se minimice la deriva de abejas entre ellas. **7-** Evitar el uso de material
320 apícola contaminado sin haberlo desinfectado. **8-** Evitar el pillaje. **9-** Evitar hacer
321 paquetes de abejas o núcleos de colonias infectadas. **10-** Evitar mantener grandes
322 grupos de colonias en un mismo lugar. **11-** Evitar el pillaje en el apiario. **12-** No
323 multiplicar el apiario enfermo. Se pone de manifiesto en algunas de estas
324 recomendaciones la necesidad de saber identificar o diagnosticar correctamente la
325 enfermedad para así poder aplicar las medidas de control adecuadas evitando la
326 diseminación de la misma. Por ello la importancia de las inspecciones regulares de los
327 panales de cría en las colmenas para poder detectar en forma precoz cualquier
328 sintomatología. También se deberán revisar los panales obrados vacíos que suelen
329 guardarse en depósito para ser usados en el establecimiento de nuevas colonias en
330 primavera, se deberá verificar la presencia de escamas o larvas muertas por LA,

331 eliminándolas en caso positivo por ser una importante fuente de contagio (Bruno
332 2011).

333 *6.2.2.3.1. Destrucción total por fuego de colmenas enfermas*

334 Es el método más eficaz. En Argentina no se usa porque es muy caro reponer el
335 material destruido y el estado no subvenciona el costo de la colmena eliminado.
336 Consiste en la quema “*in situ*” (en el lugar) de todos los materiales de la colmena
337 incluyendo las abejas. Se cierra la piquera de la colmena enferma, cuando hayan
338 ingresado todas las pecoreadoras y se coloca en su interior un paño u esponja
339 embebida en nafta para matar a las abejas. Se cava un pozo cuyo tamaño dependerá
340 de la cantidad del material a destruir y se colocan en el fondo del mismo los elementos
341 combustibles para iniciar el fuego y en su boca maderas verdes o varillas metálicas
342 cruzadas que sirvan de apoyo del material a destruir. Comprobada la muerte de las
343 abejas se procede al quemado de las mismas, de los cuadros con crías, con miel, con
344 polen y posteriormente de los pisos, entretapas, techos y alzas. Una vez incinerado
345 todo el material se cubre el pozo completamente con tierra para evitar el pillaje de
346 cualquier resto de cera o miel no quemados. Para este procedimiento, no se debe usar
347 humo ya que, ante la presencia de éste, las abejas llenan sus buches melarios con
348 miel contaminada aumentando el riesgo de escape y contaminación de otras
349 colmenas. (Bruno 2011)

350 *6.2.2.3.2. Paqueteado, enjambrado artificial trasvase doble*

351 Consiste en formar un paquete con las abejas provenientes de colmenas enfermas
352 con LA de un peso aproximado a 1,8 Kg. Para su confección se deberán localizar las
353 reinas de las colmenas afectadas, cortarles las alas y enjaularlas. Luego y, con ayuda
354 de un embudo se sacuden las abejas previo rociado con jarabe de sacarosa al 50% en

355 agua p/v dentro de un cajón porta paquetes (esta tarea evita el vuelo de las abejas y el
356 uso de humo) hasta completar el peso mencionado. Se coloca una reina enjaulada, un
357 alimentador con jarabe alimenticio (al 66 %) y se lo ubica en un lugar fresco y oscuro
358 durante 48 a 72 horas. Transcurrido este lapso el paquete se coloca y libera en una
359 cámara de cría desinfectada preparada con tres marcos con cera estampada y un
360 alimentador con jarabe alimenticio previa ubicación de la reina enjaulada, pero ya sin
361 el tapón del candi entre dos de los marcos. Esta cámara permanece cerrada otras 48
362 horas. Posteriormente una vez ubicada la colmena en su lugar definitivo se abre la
363 piquera (tamaño reducido) y se llena nuevamente el alimentador esta vez con jarabe
364 alimenticio, se repite el tratamiento hasta completar la dosis total del antibiótico
365 utilizado y sin medicar hasta finalizar el desarrollo total de la cámara de cría (labrado
366 de los panales). Otra posibilidad es colocar directamente el paquete liberado con su
367 reina en su lugar definitivo y dar el manejo arriba citado. Los panales con cría y polen
368 de la colmena enferma deberán quemarse. Los cuadros con miel pueden extractarse y
369 la miel ser destinada sólo para consumo humano. El resto de los materiales de la
370 colmena deberán desinfectarse correctamente para poder ser utilizados nuevamente
371 (Bruno 2011). Esto requiere, además del jarabe artificial que se les proporciona, una
372 temperatura ambiente elevada y una buena entrada de néctar natural a la colmena (De
373 la sota & Bacci, 2005).

374 *6.2.2.3.3. Método de la sacudida, cepillado o trasvase simple o Cepillado doble.*

375 Este método si bien es más sencillo que el del paqueteado, ofrece muchos menos
376 resultados tanto en recurrencia de la enfermedad como en la pérdida de colmenas
377 durante el proceso y solo se recomienda su uso cuando se detecta un foco inicial de
378 LA: Comienza con el apartado de la colmena de su sitio original y la colocación en su
379 lugar de un nuclero desprovisto de cuadros y con un alimentador con jarabe. Se cepilla

380 o sacude los cuadros de abejas dentro del nuclero. Los marcos con cría deben
381 ser incinerados indefectiblemente y la cámara desinfectada. La cera de los cuadros
382 podrá fundirse y utilizarse para estampado, previa esterilización. La miel podrá
383 extractarse y utilizarse solamente para consumo humano; nunca se usa para alimentar
384 a las abejas porque contiene esporos de *P. larvae*. El nuclero en el que se han
385 sacudido las abejas, se dejará en el lugar hasta el anochecer para asegurarse que
386 todas las pecoreadoras retornen del campo y luego se lo debe cerrar con goma
387 espuma herméticamente, para impedir la salida de abejas, manteniéndolo así por un
388 período de 48 a 72 horas. Al cabo de ese tiempo el nuclero se podrá trasvasar a una
389 cámara de cría con cuadros con cera estampada y un alimentador con jarabe. Esta
390 alimentación debe mantenerse hasta que la colonia complete todo el espacio de la
391 cámara. En el momento que las abejas hayan labrado la cera y los cuadros contengan
392 las primeras larvas de obreras, debe añadirse en el alimentador jarabe con antibiótico
393 (Del Hoyo et al., 1999). Se reitera la aclaración que, a partir de 2016, esta técnica o
394 cualquier otra que permita la recuperación del material vivo, se debe realizar ***sin el***
395 ***empleo de ATB, porque están prohibidos***

396 6.2.2.3.4. *Paqueteado en cámaras de cría*

397 Otra opción de la técnica de sacudida consiste en correr al costado la colmena
398 contaminada, buscar, enjaular y cortar las alas de la reina. Pulverizar las abejas con
399 jarabe de sacarosa al 50% en agua, para evitar el vuelo y garantizar la posterior
400 limpieza del jarabe y esporos de sus cuerpos, dentro de una cámara descontaminada
401 y forrada con papel de diario. Colocar un cuadro de cera estampada para formar el
402 racimo, la jaula con la reina, un alimentador con jarabe de sacarosa y un poncho o
403 nylon, para evitar corrientes de aire laterales. A la noche, cuando ingresaron las
404 pecoreadoas, se tapa la colmena con goma espuma. Los cuadros de cría se quemar

405 en un pozo y se tapa; los cuadros con miel se pueden utilizar para consumo humano.
406 Todos los materiales de madera deben ser descontaminados en parafina a 150°C o
407 aceites vegetales, en el caso que el productor se dedique a la producción de miel
408 orgánica. Al segundo día, se elimina el papel contaminado y se abre la colmena para
409 que las pecoreadoras puedan vaciar la ampolla rectal en el campo y eliminar los
410 esporos de *P. larvae* afuera de la colonia. Se colocan más cuadros de cera estampada
411 y se alimenta con jarabe artificial hasta la constitución de una cámara de cría que se
412 produce aproximadamente al mes del procedimiento. La recurrencia observada por
413 Albo et al., (2005) fue de solo 5% en un año.

414 *6.2.2.3.5. Raleo de panales enfermos*

415 Previo a 2016, en colmenas con infecciones leves (menos de cinco celdas con restos
416 muertos por panal) otra alternativa consiste en retirar y destruir los cuadros de cría que
417 se encuentren con material enfermo y suministrar un antibiótico a la colmena. Se
418 recomienda el cambio de reina de la misma (Bruno 2011). Hoy sólo se emplea el raleo
419 sin ATB.

420 *6.2.2.4. Desinfección o esterilización del material inerte*

421 Como medida complementaria a las anteriores, se debe esterilizar todo aquel material
422 de madera en buen estado que se rescató luego de tratar las colmenas enfermas. Un
423 material estéril es aquel que está totalmente libre de cualquier forma de vida como
424 virus, hongos, esporas ó bacterias en forma vegetativa y por lo tanto no puede
425 reproducir una enfermedad. Los materiales apícolas contaminados de la colmena,
426 alzas, cuadros, pisos, techos, rejillas excluidoras y entretapas pueden ser tratados por
427 algunos de los siguientes procedimientos para su descontaminación (Bruno 2011)

428 *6.2.2.4.1. Por inmersión en parafina:*

429 Este método consiste en la inmersión de alzas, pisos, cuadros melarios (sin la cera)
430 en parafina caliente, de uso alimentario a 150°C durante 10 a 15 minutos o aceites
431 vegetales. Para la aplicación de este método de esterilización es necesario contar con
432 un parafinador, aparato que consta de un recipiente con capacidad suficiente para
433 contener tres alzas, de gruesas paredes metálicas con una fuente de calor para llegar
434 a la temperatura indicada y un termómetro para su control. Luego de alcanzar la
435 temperatura de trabajo se sumerge el material, se espera que la temperatura alcance
436 los grados de esterilización mencionados anteriormente y se toma el tiempo requerido,
437 luego se retira el material y se deja escurrir. Todas estas tareas deben realizarse
438 observando medidas de precaución y de protección tanto en el manipuleo del aparato
439 como del operario encargado de las tareas (Bruno 2011)

440 6.2.2.4.2. *Por esterilización de la madera por fuego:*

441 ✓ *Flameado:*

442 Se utiliza para ello un soplete de gas de boca grande con el que se quema el interior
443 de los materiales hasta que adquieran un aspecto corchoso. Quemado de la madera
444 debe ser de uno a dos milímetros de espesor (Bruno 2011).

445 ✓ *Quemado:* en forma de chimenea

446 Se apilan 5-6 alzas invertidas sobre un piso, se rocían interiormente con alcohol y se
447 prende fuego. Se deja arder hasta que se observe que comienza a salir humo de color
448 negro, en ese momento se coloca un techo encima de la pila de alzas para ahogar el
449 fuego. En caso que la madera continúe quemándose se recomienda rociar con agua.
450 El interior de las alzas adquiere un aspecto corchoso. Este método dejó de usarse
451 porque el kerosene puede dejar residuos de hidrocarburos en la miel (Bruno 2011).

452 6.2.2.4.3. *Lavado con soda cáustica:*

453 Se sumerge el material de madera (alzas y pisos) en una solución de soda cáustica al
454 10% en agua en ebullición durante 10 a 20 minutos. Es aconsejable antes del
455 tratamiento raspar todo el material a tratar para eliminar la cera y el propóleo que
456 pudiesen estar pegados a sus paredes. Los cuadros de madera sin los panales de
457 cera también pueden tratarse por este método, en este caso se sumergen en una
458 solución de soda cáustica preparada al 2% en agua durante 1 a 2 minutos. En ambos
459 casos es importante luego de retirar el material de la solución lavar con abundante
460 agua potable y dejar secar. Este procedimiento debe ser realizado con sumo cuidado
461 por el apicultor por ser un producto como su nombre lo indica cáustico pudiendo
462 provocar quemaduras al operario. El producto se disuelve primero en agua fría y
463 posteriormente se calienta hasta ebullición. No se deben utilizar utensilios de aluminio
464 para la preparación de la solución ya que la solución es cáustica y rompe el aluminio
465 así como los clavos de los cuadros de las colmenas (Bruno 2011).

466 6.2.2.4.4. *Óxido de etileno*

467 Fumigación con óxido de etileno (EtO) mata larvas de polilla y esporas de
468 microhongos (*Vairormorpha ex Nosema* spp), hongos (*Ascosphaera apis*) y bacterias
469 (*P. larvae*), el vapor es altamente tóxico para los humanos y se cree que los residuos
470 son cancerígenos (Hansen & Brodsgaard, 1999) su uso es muy engorroso, peligroso y
471 caro por lo que no se recomienda (SENASA 2014). En la actualidad, su uso está
472 prohibido en Argentina.

473 6.2.2.4.5. *Hipoclorito de sodio:*

474 Se prepara una solución al 1% de hipoclorito de sodio en agua (Bruno, 2011). Se
475 sumerge el material a descontaminar: alzas, pisos, cuadros durante 20 minutos. Se

476 retiran y lavan con abundante agua potable y se dejan secar. Esta solución **no** es
477 aconsejable para materiales metálicos, ciertos plásticos e indumentaria del apicultor.
478 El operario deberá evitar el contacto e inhalación de la misma a través de una
479 adecuada protección. La solución debe estar en un recipiente cerrado y mantenida en
480 oscuridad ya que se altera con la luz solar (Bruno 2011).

481 *6.2.2.4.6. Irradiación:*

482 Otra de las alternativas es la irradiación con rayos gamma provenientes de una fuente
483 de cobalto-60 (Co-60). Este método permite la descontaminación de los materiales y
484 productos de la colmena: alzas, pisos, techos, marcos con cera obrada, marcos con
485 crías enfermas, cera estampada, polen. (Bruno 2011). En Australia es el único país
486 que lo usa.

487 *6.2.2.4.7. Calor y Presión:*

488 Pueden utilizarse autoclaves espaciosos, se lleva a temperatura de 121 °C que se
489 corresponde con 1, 25 atmosferas de presión, se deja actuar entre 15 y 20 minutos
490 (SENASA 2004)

491 *6.2.2.4.8. Tratamiento con solución al 1% de Virkon S*

492 Es un desinfectante biodegradable (Hansen & Brødsgaard 1999). Existe muy poca
493 información disponible.

494 *6.2.2.5. Desinfección de la indumentaria y herramientas del apicultor:*

495 Las herramientas: pinza y palanca se les debe eliminar por raspado el exceso de cera
496 y el propóleo pegados, la miel por lavado y posteriormente se los quema al rojo
497 mediante fuego. Para la limpieza del ahumador deberán también raspase los restos
498 de cera y propóleos pegados a las partes de madera del fuelle y luego lavarse el

499 mismo y la base del ahumador con agua jabonosa. La indumentaria del apicultor,
500 mameluco, buzo, guantes se lavan con agua y jabón, y se los enjuaga con abundante
501 agua (Bruno 2011).

502 6.2.3. Control fitobióticos

503 *6.2.3.1. Control con aceites esenciales y extractos vegetales*

504 Se definen como vegetales que tienen, en uno o más de sus órganos, sustancias que
505 pueden ser utilizadas con fines terapéuticos o preventivos o que son precursores de
506 hemisíntesis quimiofarmacéutica. Producen principios activos, que ejercen una acción
507 farmacológica beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo que se aplican. Estas
508 plantas se utilizan comúnmente en forma de infusión, extracto o como fuente de aceite
509 esencial, las cuales están compuestas por mezclas complejas de un gran número de
510 constituyentes. Las plantas tienen una capacidad ilimitada de sintetizar compuestos
511 entre los que se encuentran fenoles, flavonas, aceites esenciales y compuestos
512 relacionados, lo que las hace fuente natural importante de sustancias que poseen
513 propiedades biológicas. Los aceites esenciales (AE) y extractos de plantas han sido
514 ampliamente usados para una variedad de propósitos durante varios años y
515 recientemente se ha generado un interés generalizado como una fuente de
516 antimicrobianos natural alternativa. Entre los compuestos que sintetizan la mayoría de
517 las plantas que poseen actividad biológica y que han sido ampliamente estudiados,
518 están los AE, constituidos principalmente por una mezcla compleja de compuestos
519 orgánicos (Saranraj y Durga Devi, 2017). Otras sustancias sintetizadas por plantas
520 medicinales, con actividad biológica relevante y de manera comparable, son los
521 compuestos fenólicos de los cuales los más simples consisten en un anillo fenólico
522 sustituido y los flavonoides. En la actualidad, se conoce que los metabolitos
523 secundarios de naturaleza flavonoide poseen actividad antifúngica, antiviral y

524 antimicrobiana, aislándose muchos grupos, identificando sus estructuras y
525 demostrando, para ciertos casos, que existe sinergia entre los flavonoides activos
526 presentes en una planta, así como entre éstos y los quimioterápicos existentes.

527 6.2.3.1.1. Marcela de campo:

528 La *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC, es un arbusto perteneciente a la familia de las
529 asteráceas, originario de América y distribuido por Europa y África. Se han llevado a
530 cabo estudios del extracto hidro-alcohólico de la Marcela de Campo, empleando
531 solventes de polaridad variable y más livianos que el agua, y se demostró que el
532 extracto hexánico (EH) era el que presentaba mayor actividad antibacteriana contras
533 cepas del *P larvae*, seguido del extracto bencénico (EB). Los extractos obtenidos con
534 éter etílico y acetato de etilo fueron los que menor actividad antibacteriana
535 manifestaron (Gonzales & Marioli, 2010). Podemos decir, que la EHC Extracto
536 Hexánico Completo (EHC) total, posee valores de CIM (Concentración Mínima
537 Inhibitoria) que se encuentran entre los valores individuales de los compuestos en
538 estado puro. Esto estaría sugiriendo que, en la mezcla de EHC se producen
539 interacciones sinérgicas y antagónicas entre sus compuestos que determinan la
540 capacidad antimicrobiana de la fracción completa. Estos estudios se deben continuar
541 para determinar las interacciones entre cada fracción en particular y cuál es la mezcla
542 responsable de la actividad antimicrobiana (Tonello, 2019)

543 6.2.3.1.2. Manzanilla y tomillo andino

544 Se evaluó el efecto antibacteriano in vitro de los aceites esenciales de manzanilla
545 silvestre (*Tagetes minuta* L.) y tomillo andino (*Acantholippia seriphioides* A. Gray)
546 frente a diferentes cepas de *P larvae*, así como también el posible efecto inhibitorio
547 adicional del propilenglicol y la lecitina de soja, utilizadas como emulsionantes de los

548 aceites esenciales. Los resultados de la evaluación in vitro indican diferencias
549 significativas entre los dos aceites esenciales emulsionados. El tomillo andino presentó
550 el mayor efecto inhibitorio con valores de concentración inhibitoria mínima y
551 concentración bactericida mínima, Los resultados muestran que el aceite de tomillo
552 andino es más eficaz contra *P larvae* de lo que es aceite de manzanilla silvestre
553 (Fuselli et al., 2005)

554 6.2.3.1.3. Canela

555 Se determinó la actividad del aceite esencial de *Cinnamomum zeylanicum* Nees
556 (aceite de canela) sobre cepas de *P larvae*. Se evaluaron en en el laboratorio y en un
557 experimento de campo con el fin de mejorar el control biológico de la LA.. Estos
558 hallazgos han ayudado a definir las concentraciones recomendadas para la aplicación
559 de colmenar con el fin de minimizar los riesgos toxicológicos para las abejas y para
560 evitar el umbral del sabor a miel (Bogdanov et al., 1999) u otros efectos indeseables,
561 como la aparición de tensiones de resistencia como consecuencia de la indiscriminada
562 uso de antibióticos. (Gende et. Al., 2009)

563 6.2.3.1.4. Laurel

564 Nombre científico *Laurus nobilis*, se ha estudiado la capacidad antioxidante
565 de extractos de laurel y el poder de inhibición contra *P. Larvae*, esto es atribuible a los
566 compuestos fenólicos, la capacidad antioxidante de HE (extracto hexanico) y los
567 efectos no letales sobre las abejas adultas en ensayos de campo sugieren que la HE
568 del laurel es una sustancia prometedora para el control de la LA (Fernandez et al.,
569 2009)

570 6.2.3.1.5. Ajedrea, Tomillo, Lemon grass y Orégano

571 Albo et al., (2003) evaluaron la efectividad de los aceites esenciales (AE) de *Thymus*
572 *vulgaris*, *Satureia montana*, *Origanum vulgare* y *Cymbopogon citratus* en experimentos
573 de laboratorio y de campo para el control de *P. larvae* en colonias de *A. mellifera*,
574 afectadas por la enfermedad. Los AE esenciales se administraron en forma preventiva
575 y curativa. Se determinaron los componentes principales por cromatografía gaseosa y
576 la toxicidad sobre abeja adulta. Los AE resultaron “*levemente tóxicos*” y no fueron
577 efectivos para el control de la enfermedad.

578

579 6.2.3.2. Control con propóleos

580 El propóleo es un producto natural derivado de las resinas de las plantas producidas
581 por las abejas melíferas para sellar las paredes y entrada de la colmena, y contribuye
582 a proteger la colonia contra diferentes patógenos. Está hecho de una mezcla compleja
583 de diferentes compuestos químicos; los componentes principales habiendo sido
584 identificados como polifenoles (flavonoides y ácidos fenólicos), terpenoides, esteroides
585 y aminoácidos, cuyas concentraciones varían según al origen geográfico y botánico
586 del propóleos (Burdock, 1998). Varias propiedades biológicas como antioxidante,
587 antimicrobiano (Boonsai et al., 2014), antifúngico (Kujumgiev et al.1999), antiviral
588 (Manolova et al., 1985), hepatoprotectores, inmunomoduladores y antiinflamatorios
589 (Burdock, 1998) atribuido al propóleo. En este sentido, varios documentos explican el
590 uso de propóleos de diferentes orígenes geográficos como antimicrobianos contra *P*
591 *larvae* para controlar LA en *Apis mellifera*; Abejas de un colmenar en Uruguay que
592 había presentado LA en años anteriores (pero sin síntomas clínicos) fueron tratados
593 por aspersión y alimentando con extractos etanólicos de propóleo. Después de 21 y 42
594 días de la aplicación, el número de esporas de *P. larvae* por gramo de miel fue
595 significativamente menor en las colonias tratadas con extractos etanólicos de
596 propóleos que en las colonias no tratadas (Antúnez et al. 2008).

597 6.2.3.3. *Control con jalea real*

598 La jalea real (JR) o jalea larvaria (JL) es la dieta de larvas de reinas y larvas de
599 obreras secretadas por las glándulas hipofaríngeas y mandibulares de abejas obreras.
600 Los principales componentes son: carbohidratos, péptidos, proteínas, grasas, y
601 compuestos de bajo peso molecular (Bogdanov et al., 2011). Las proteínas y péptidos
602 de jalea real de bajo peso molecular parecen desempeñar un papel de defensa del
603 huésped contra los patógenos de las abejas melíferas (Bíliková et al. 2001). Una
604 potente proteína antibacteriana, llamado royalisin (actualmente llamado defensin1),
605 encontrada en jalea real, esta tiene actividad específica contra varias bacterias gram
606 positivas en concentraciones bajas, pero no contra bacterias gram negativas (Fujiwara
607 et al., 1990). Antibacteriano (Nascimento et al., 2015), inmunorregulación (Sugiyama et
608 al.,2012), antitumoral (Kimura, 2008), antiinflamatorio (Kohno et al., 2004), acción
609 reprotectora (Jalali et al.2015), Los análisis de jalea real recolectados de colonias
610 individuales en dos colmenares, uno de los cuales ha mostrado incidencia de LA,
611 reveló diferencias en el contenido del péptido antibacteriano. La mayoría de las
612 colonias del colmenar con LA produjeron jalea real con mayores cantidades de
613 royalisin que las colonias sanas. Estos resultados sugirieron que las diferencias en los
614 contenidos de péptidos están relacionados con la variabilidad genética entre colonias.
615 Sin embargo, también es posible que la presencia de *P larvae* afectó el contenido de
616 royalisin en la jalea real (Bachanová et al. 2002).

617 6.2.4. Control con bacterias y bacteriocinas

618 Los probióticos son microorganismos vivos que, cuando se administra en cantidades
619 adecuadas, confiere un beneficio para la salud del anfitrión. Estos microorganismos
620 deben cumplir ciertos requisitos: capacidad de adherirse a las células; excluir o reducir
621 adherencia patógena; persistir y multiplicar; y producen ácidos, peróxido de hidrógeno

622 y bacteriocinas antagonistas del crecimiento de patógenos. Las bacterias ácidas
623 lácticas (LAB) se encuentran generalmente dentro de las abejas, intestinos y se sabe
624 que protegen a sus huéspedes a través de metabolitos antimicrobianos como ácidos
625 orgánicos, peróxido de hidrógeno y péptidos antimicrobianos, también como
626 modulación de la respuesta inmune del huésped (Vásquez et al. 2012). Las
627 bacteriocinas son bacterias sintetizadas ribosómicamente, péptidos extracelulares o
628 proteínas con actividad antibacteriana generalmente contra bacterias estrechamente
629 relacionadas con el productor (De Vuyst & Vandamme 1994; Riley & Wertz 2002).
630 Daisley, et al., (2020) demostraron que *Lactobacillus plantarum* Lp39, *Lactobacillus*
631 *rhamnosus* GR-1, y *Lactobacillus kunkeei* BR-1 vehiculizados a través de un patty
632 comercial, proporcionado a las colmenas, redujeron la incidencia de loque americana.

633 6.2.5. Selección genética

634 El comportamiento higiénico es un componente importante de la inmunidad social en
635 las colonias de abejas melíferas, actuando como complemento de la inmunidad
636 limitada de los individuos (Harpur et al., 2014; Leclercq et al., 2017). Las obreras que
637 expresan este comportamiento son capaces de detectar y eliminar crías enfermas o
638 muertas. De esta manera, el riesgo de transmisión de enfermedades y patógenos se
639 limita dentro de la colonia.

640 La selección de líneas genéticas que manifiestan un alto comportamiento higiénico o
641 una mayor resistencia de las larvas a la infección en una herramienta a utilizar para
642 aumentar la capacidad de las colonias para resistir a esta enfermedad (Bruno, 2011).

643 En Argentina, desde la introducción de LA, distintos organismos de investigación como
644 Pro-Api (INTA), la Universidad Nacional de Mar del Plata, el Ministerio de Asuntos
645 Agrarios de la Provincia de Buenos Aires (a través del Centro de Mejoramiento

646 genético, P.J. Bover), criaderos de productores fiscalizados, estudian el
647 comportamiento higiénico de las sub razas de abeja melífera presentes en el país,
648 para mejorar la resistencia a las enfermedades y, en particular a LA (Palacio et al.,
649 2000; Palacio et al., 2010).

650 **6.3. Situación actual de la loque americana relacionada a la pérdida de colmenas**

651 Estudios recientes demuestran que el número de colmenas en América Latina
652 aumentó durante los últimos 30 años, pero en solo el 9%, con respecto al 64% de
653 incremento en el mundo (Requier et al., 2018). La producción de miel Argentina se ha
654 reducido desde el año 2000. Este escenario muestra que en la actualidad existe un
655 déficit de aproximadamente de 210.000 colmenas, en comparación con el patrón
656 global de colonias de abejas productivas (Requier et al., 2018). Particularmente,
657 América Latina mostró un déficit en la productividad de la miel de aproximadamente
658 460.000 toneladas en 2016, en comparación con el patrón global. Estos resultados
659 muestran que la productividad de la apicultura y la ganadería en los países de América
660 Latina están creciendo más lentamente que la tendencia global, lo que sugiere una
661 potencial dificultad para los apicultores en tales economías en desarrollo.

662 La disminución de las existencias de abejas melíferas domesticadas en algunos
663 países se ha atribuido a enfermedades. Aizen & Harder, (2009) proponen que ese
664 criterio contradice la tendencia mundial creciente en el número total de colmenas.

665 En América Latina se observa un escenario de pérdidas de colonias de abejas
666 melíferas. Estas pérdidas podrían explicarse entre otros factores a la presencia de
667 enfermedades (Aizen & Harder, 2009), Sin embargo, estas tendencias no
668 proporcionan por sí mismas información sobre la tasa de pérdidas de colonias a escala
669 de país o región. Los programas de monitoreo para estimar las tasas de pérdida de

670 colonias lanzado en muchos países, son recientes en los países de la región (Requier
671 et al., 2017); Latino América recién a comenzado a participar de estos monitoreos
672 hace solo 6 años (Requier et al., 2017). En estudios previos, Vandame y Palacio
673 (2010) realizaron una revisión global y concluyeron que "no hay informes de pérdidas
674 masivas de colonias en América Latina". Más recientemente, Maggi et al. (2016)
675 declaró que "varios casos de pérdidas de colonias y colonias despobladas fue
676 reportada por los apicultores en todo el continente, pero no se han publicado datos
677 precisos hasta la fecha". Aunque Giacobino et al. (2016) informó estimaciones
678 validadas (es decir, publicadas en una revista científica internacional con un proceso
679 de revisión por pares) del 11,4% de pérdidas de colonias de invierno a escala regional
680 en Argentina, solo recientemente Antunez et al., (2017) publicaron estimaciones
681 pérdidas de colonias a escala nacional para Uruguay, con 19,8 y 18,3% en verano e
682 invierno, respectivamente (Requier 2018).

683 En 2015, un artículo tecnológico, alerto sobre la posible reaparición de loque
684 americana en los apiarios argentinos (INTA, 2015). Sin embargo, no se encontraron
685 estudios epidemiológicos que avalen esta afirmación.

686

F. CONCLUSIÓN

687 Desde la detección en los apiarios argentinos de *Paenibacillus larvae* se realizaron
688 numerosos trabajos de investigación para caracterizar la bacteria, estudiar la
689 epidemiología y establecer las distintas técnicas de control y manejo de la
690 enfermedad. En el país, la primera estrategia se basó en el control con antibióticos,
691 técnicas de profilaxis y descontaminación del material inerte. Posteriormente, ante la
692 aparición de resistencia de cepas de *P. larvae* a la oxitetraciclina (OTC), se ensayaron
693 alternativas de control con otros antibióticos (tilosina, lincomisina), sustancias
694 naturales, como fitobióticos (aceites esenciales y extractos naturales) y bacteriocinas.

695 Asimismo, el INTA condujo un Programa de Selección Genética para aumentar la
696 capacidad higiénica de las colonias y por ende la resistencia a la patología. A partir de
697 2016, SENASA, prohibió el uso de antibióticos en apicultura, debido a la resistencia a
698 OTC y los residuos de ATB en mieles, que en un 95% se envían al mercado europeo.
699 Sin embargo, los apicultores disponen de un paquete tecnológico para controlar la
700 enfermedad sin el uso de ATB, basado principalmente en la detección temprana, las
701 distintas técnicas de preservación del material vivo, inerte y la selección genética, que
702 se explicaron en este Trabajo Final de Carrera.

703 **G.BIBLIOGRAFÍA**

704 **Abrahamovich, E.** 2018. Estudios sobre la transferencia horizontal de resistencia a
705 tetraciclina en bacterias esporuladas aisladas de colmenas de abejas melíferas.
706 (Informe CONICET, 2018)

707 **Aizen, M.A., Garibaldi, L.A., Cunningham, S.A. & A.M. Klein.** 2008. Long-term
708 global trends in crop yield and production reveal no current pollination shortage but
709 increasing pollinator dependency. *Curr. Biol.* **18**: 1572–1575

710 **Aizen, M.A. & L.D Harder.** 2009. The global stock of domesticated honey bees is
711 growing slower than agricultural demand for pollination. *Curr. Biol.* **19**: 915–918.

712 **Aizen, M.A. Aguiar, S., Biesmeijer, J. C., Garibaldi, L. A., Inouye, D. W., Jung, C.,**
713 **... & Seymour, C. L.** 2019. Global agricultural productivity is threatened by increasing
714 pollinator dependence without a parallel increase in crop diversification. *Glob. Chang.*
715 25(10), 3516-3527.

716 **Albo, G.N., Henning, C., Ringuelet, J., Reynaldi, F. J., De Giusti, M. R., & Alippi, A.**
717 **M.** 2003. Evaluation of some essential oils for the control and prevention of American
718 Foulbrood disease in honey bees. *Apidologie*, 34(5), 417-427.

719 **Albo, G.N., Reynaldi F.J., Casanova, L y Dimenna, S.E.** 2005. Efectividad del
720 enjambrado artificial para el control de loque americana. *28º Congreso Argentino de*
721 *Producción Animal*. Trabajo OD/API 286. Publicado en la *Revista Argentina e*
722 *Producción Animal*, 25 (Supl.I): 286. Bahía Blanca. Buenos Aires. Argentina. ISSN
723 0326-0550.

724 **Alippi, A.M. & L. Nuñez.** 1991. La loque americana en Argentina. *Vida Apícola* 49: 20-
725 24.

726 **Alippi, A.M.** 1991. A comparison of laboratory techniques for the detection of
727 significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera* in Argentina. *J. Apic. Res.* 30, 75–80.

728 **Alippi, A. M.** 1992a. Characterization of *Bacillus larvae* White, the causal agent of AFB
729 of honey bees. First record of its occurrence in Argentina. *Rev. Arg. Microbiol.* 24, 67–
730 72.

731 **Alippi, A.M.** 1992b. Detección de *Bacillus larvae* en poblaciones mixtas de esporas
732 bacterianas a partir de restos larvales. *Soc. Esp. Microbiol.* 8: 115-18

733 **Alippi, A.M.** 1992c. Evaluation of the resistance of strains of *Bacillus alvei* to five
734 antibiotics used for the control of the American and European foul brood. *Revista de la*
735 *Facultad de Agronomía*

736 **Alippi, A. M.** 1995. Detection of *Bacillus larvae* spores in Argentinian honeys by using
737 a semi-selective medium. *Microbiología SEM* 11, 343–350

738 **Alippi, A.M.** 1999. Bacterial diseases. In: Colin, M.E. (ed.), Ball, B.V. (ed.), Kilani, M.
739 (ed.). Bee disease diagnosis. Zaragoza. CIHEAM, 1999. p.31 (Options
740 Méditerranéennes: Série B. Etudes et Recherches; n. 25) <http://www.ciheam.org/>
741 <http://com.ciheam.org/>

742 **Alippi, A.M., & Aguilar, O.M.** 1998. Unique DNA fingerprint patterns of *Paenibacillus*
743 *larvae* subsp. *larvae* strains. *J. Apicul. Res.*, 37(4): 273-280.

744 **Alippi, A.M., G.N. Albo, D. Leniz, I. Rivera, M.L. Zanelli. & A.E. Roca.** 1999.
745 Comparative study of tylosin, erythromycin and oxytetracycline to control American
746 Foulbrood of honeybees. *J Apic Res* 38: 149-58.

747 **Alippi, A.M., Reynaldi, F.J., López, A.C., De Giusti, M.R. y Aguilar, O.M.** 2004.
748 Epidemiología molecular de larvas de *Paenibacillus* e incidencia de loque americana

749 en mieles argentinas de la provincia de Buenos Aires. *Revista de Investigación*
750 *Apícola*: 43 (3): 135-143.

751 **Alippi, A.M., Albo, G.N., Reynaldi, F.J., & De Giusti, M.R.** 2005. *In vitro* and *in vivo*
752 susceptibility of the honeybee bacterial pathogen *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* to
753 the antibiotic tylosin. *Vet. Microbiol.*, 109(1-2): 47-55. pmid: 15951140

754 **Alippi, A.M., & Reynaldi, F.J.** 2006. Inhibition of the growth of *Paenibacillus larvae*,
755 the causal agent of American foulbrood of honeybees, by selected strains of aerobic
756 spore-forming bacteria isolated from apiarian sources. *J. Invert. Pathol.*, 91(3): 141-
757 146.

758 **Alippi, A.M., López, A.C., Reynaldi, F.J., Grasso, D.H., Aguilar, A.O.** 2007.
759 Evidence for plasmid-mediated tetracycline resistance in *Paenibacillus larvae*, the
760 causal agent of American Foulbrood (AFB) disease in honeybees. *Vet. Microbiol.* 125:
761 290-303.

762 **Alippi, A.M., León, I. & López, A.C.** 2014. Identical tetracycline-resistance encoding
763 plasmids from different *Paenibacillus larvae* strains isolated from commercial honeys.
764 *Intern. Microbiol.* 17: 49-61, 2014. ISSN 1139-6709. IF: 2.197

765 **Alippi, A.M.** 2017. Comisión Investigaciones Científicas. *Informe científico de*
766 *investigador*: Alippi, Adriana Mónica (2016-2017).

767 **Alonso-Salces, R. M., Cugnata, N. M., Guaspari, E., Pellegrini, M. C., Aubone, I.,**
768 **De Piano, F. G., ... & Fuselli, S. R.** 2017. Natural strategies for the control of
769 *Paenibacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood in honey bees: a
770 review. *Apidologie*, 48(3): 387-400.

771 **Ashiralieva, A., & Genersch, E.** 2006. Reclassification, genotypes and virulence of
772 *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees—a
773 review. *Apidologie*, 37(4): 411-420.

774 **Anjum, S.I., Shah, A.H., Azim, M.K., Yousuf, M.J., Khan, S., & Khan, S.N.** 2015.
775 Prevalence of American foul brood disease of honeybee in north-west Pakistan.
776 *Biotech. Biotechnol. Equipment*, 29(4): 659–665.

777 **Anon.**,2010. Workshop on medicines for bees – what the Agency can do to increase
778 availability. Report EMA, 14–15 December 2009, London, United Kingdom.
779 EMA/28057/2010.

780 **Anon.**, 2011. Antibiotics for bee disease control. Apiculture Factsheet 204. Ministry of
781 Agriculture, Canadá.

782 **Antúnez, K., Harriet, J., Gende, L., Maggi, M., Eguaras, M., & Zunino, P.** 2008.
783 Efficacy of natural propolis extract in the control of American Foulbrood. *Vet.*
784 *Microb.*, 131(3-4): 324-331.

785 **Antunez, K., Invernizzi, C., Mendoza, Y., van Engelsdorp, D., & Zunino, P.** 2017.
786 Honey bee colony losses in Uruguay during 2013-2014. *Apidologie*, 48(3): 364–370.
787 doi:10.1007/s13592-016-0482-2.

788 **Ardanaz S.** 2016. Análisis Socio-Económico de diferentes Modelos de Escala
789 Productiva de Colmenares en la Región Sudoeste de la Provincia de Buenos Aires.
790 Tesis grado. FCAyF. UNLP.

791 **Ashiralieva, A., & Genersch, E.** 2006. Reclassification, genotypes and virulence of
792 *Paenibacillus larvae*, the etiological agent of American foulbrood in honeybees—a
793 review. *Apidologie*. 37(4): 411-420.

794 **Bachanová, K., Klaudiny, J., Kopernický, J., & Šimúth, J.** 2002. Identification of
795 honeybee peptide active against *Paenibacillus larvae larvae* through bacterial growth-
796 inhibition assay on polyacrylamide gel. *Apidologie*, 33(3), 259-269.

797 **Baggio, A., Gallina, A., Benetti, C., & Mutinelli, F.** 2009. Residues of antibacterial
798 drugs in honey from the Italian market. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 2(1):
799 52-58.

800 **Bamrick, J. F.** 1967. Resistance to American foulbrood in honey bees: VI. Spore
801 germination in larvae of different ages. *Journal of Invertebrate Pathology*, 9(1), 30-34.

802 **Bargańska, T., Namieśnik, J., Ślebioda, M.** 2011. Determination of antibiotic residues
803 in honey (Review). **TrAC - Trends in Analytical Chemistry. 30 (7.):1035-1041**

804 **Bíliková, K., Wu, G., & Šimúth, J.** 2001. Isolation of a peptide fraction from honeybee
805 royal jelly as a potential antifoulbrood factor. *Apidologie*, 32(3): 275-283.

806 **Bogdanov, S., Martin, P., & Lullman, C.** 2011. Honey as Nutrient and Food Function
807 Food. *Bee Product Sci.*

808 **Bogdanov, S., Lüllmann, C., Martin, P., von der Ohe, W., Russmann, H., Vorwohl,**
809 **G., ... & Vit, P.** 1999. Honey quality and international regulatory standards: review by
810 the International Honey Commission. *Bee world*, 80(2), 61-69.

811 **Boonsai, P., Phuwapraisirisan, P., & Chanchao, C.** 2014. Antibacterial activity of a
812 cardanol from Thai *Apis mellifera* propolis. *Internat. J. Medical Sci.* 11(4): 327.

813 **Borracci, S. E., Chacana, P. A., Palacio, A., & Terzolo, H. R.** 2004. Loque
814 Americana de las abejas: Características y diagnóstico de la enfermedad. *Instituto*
815 *Nacional de Tecnología Agropecuaria.* 5: 1-5.

816 **Bruno, S B.** 2011. Enfermedades de las abejas. Nociones prácticas. Ed. Ciencia y
817 Abejas. General Belgrano. 136 p. 2° ed.

818 **Bulson, L., Becher, M.A., McKinley, T.J., & Wilfert, L.** 2021. Long-term effects of
819 antibiotic treatments on honeybee colony fitness: A modelling approach. *J. Appl.*
820 *Ecol.*, 58(1):70-79.

821 **Burdock, G. A.**1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis
822 (propolis). *Food Chem. Toxicology*, 36(4): 347-363.

823 **Chopra, I., & Roberts, M.** 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications,
824 molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Biology*
825 *Reviews*, 65(2): 232-260.

826 **Cornman, R.S., Lopez, D. y Evans, J.D.** 2013. Transcriptional response of honey bee
827 larvae infected with the bacterial pathogen *Paenibacillus larvae*. *PLoS One*, 8(6):
828 e65424.

829 **Cripps, C.J.** 2021. Veterinary Regulations. *Honey Bee Medicine for the Veterinary*
830 *Practitioner*, 191-200.

831 **Daisley, B.A., Pitek, A.P., Chmiel, J.A., Al, K.F., Chernyshova, A.M., Faragalla, K.**
832 **M., ... & Reid, G.** 2020. Novel probiotic approach to counter *Paenibacillus larvae*
833 infection in honey bees. *The ISME Journal*, 14(2): 476-491.

834 **Datta, S., Bull, J. C., Budge, G. E., & Keeling, M. J.** 2013. Modelling the spread of
835 American foulbrood in honeybees. *J. Royal Soc. Interface*, 10(88), 20130650.

836 **De Graaf, D.C., Alippi, A.M., Brown, M., Evans, J.D., Feldlaufer, M., Gregorc, A., y**
837 **Tomkies, V.** 2006. Diagnosis of American foulbrood in honey bees: a synthesis and
838 proposed analytical protocols. *Letters Appl Microbiol.*, 43(6): 583-590.

839 **De Graaf, D.C., Alippi, A.M., Antúnez, K., Aronstein, K.A., Budge, G., De Koker,**
840 **D., De Smet, L., Dingman, DW., Evans, JD., Foster, LJ., Fünfhaus, A., Garcia-**
841 **Gonzalez, E., Gregorc, A., Human, H., Murray, KD., Nguyen, BK., Poppinga, L,**
842 **Spivak, M., Vanengelsdorp, D., Wilkins, S., Genersch, E.** 2013. Standard methods
843 for American foulbrood research. In V. Dietemann; J.D. Ellis; P. Neumann (Eds) The
844 COLOSS BEEBOOK, Volume II: standard methods for *Apis mellifera* pest and
845 pathogen research. *J. Apicul. Res.* 52(1):

846 **Del Hoyo, M., Basualdo, M., Lorenzo, A., Palacio, A., Bedascarrasbure, E. y**
847 **Rodriguez, E.** 1999. Efecto del cepillado de colmenas afectadas por Loque Americana
848 sobre las carga de esporas de *Paenibacillus larvae*. Encuentro de investigadores en
849 temas relacionados a la apicultura Azul. Pp 66-67

850 **De la Sota, M. y Bacci, M.** 2005 Manual de procedimiento de enfermedades apícolas.
851 Disponible en:http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA
852 [/ANIMAL/ABEJAS/PROD_PRIMARIA/SANID_APICOLA/manual_de_enfermedades_d](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA)
853 [e_las_abejas_2005.pdf](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA)

854 **Djukic, M., Brzuszkiewicz, E., Fünfhaus, A., Voss, J., Gollnow, K., Poppinga, L., ...**
855 **& Daniel, R.** 2014. How to kill the honey bee larva: genomic potential and virulence
856 mechanisms of *Paenibacillus larvae*. *PloS one*, 9(3), e90914.

857 **De Vuyst, L., & Vandamme, E. J.** 1994. Bacteriocins of lactic acid bacteria, Blackie
858 academic & professional. *Inc. New York.*

859 **Ellis, J. D., & Munn, P. A.** 2005. The worldwide health status of honey bees. *Bee*
860 *world*, 86(4): 88-101.

861 **Elzen, P., Westervelt, D., Causey, D., Rivera, R., Baxter, J., & Feldlaufer, M.** 2002.
862 Control of oxytetracycline-resistant American foulbrood with tylosin and its toxicity to
863 honey bees (*Apis mellifera*). *J. Apic. Res.*, 41(3-4): 97-100.

864 **Evans, J.D.** 2003. Diverse origins of tetracycline resistance in the honey bee bacterial
865 pathogen *Paenibacillus larvae*. *J. Invert. Pathol.*, 83(1): 46-50.pmid: 12725811

866 **Feldlaufer MF, Jeffery SP, Kochansky J, Stiles G.** 2001 Clorhidrato de lincomicina
867 para el control de la enfermedad de la loque americana de las abejas
868 melíferas. *Apidologie*. 32: 547–554.

869 **Fernández, N. J., Damiani, N., Podaza, E. A., Martucci, J. F., Fasce, D., Quiroz, F.,**
870 **... & Gallai, N., Salles, J.-M., Settele, J. & Vaissière, BE.** 2009 Economic valuation of
871 the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.* **68**,
872 810–821.

873 **Forsgren, E., Locke, B., Sircoulomb, F., & Schäfer, M. O.** 2018. Bacterial diseases
874 in honeybees. *Current Clinical Microbiology Reports*, 5(1), 18-25.

875 **Fries, I., Lindström, A. y Korpela, S.** 2006. Transmisión vertical de loque americana
876 (*Paenibacilluslarvae*) en abejas melíferas (*Apis mellifera*). *Microbiología Veterinaria*,
877 114 (3-4): 269-274.

878 **Foram H.** 2010. Report on the American Foulbrood National Pest Management
879 Strategy. MAF Biosecurity New Zealand Discussion Paper No: 2008/07. 2008.

880 **Forsgren, E.** 2010. European foulbrood in honey bees. *J. Inverteb. Pathol.*, 103, S5-
881 S9.

882 **Fries, I. & Camazine, S.** 2001. Implications of horizontal and vertical pathogen
883 transmission for honey bee epidemiology. *Apidologie.*; 32:199–
884 214. <https://doi.org/10.1051/apido:2001122>.

885 **Fuselli, S. R., Gende, L. B., Garcia De La Rosa, S. B., Eguaras, M. J., & Fritz, R.**
886 **2005.** *Inhibition of Paenibacillus larvae subsp larvae* by the essential oils of two wild
887 plants and their emulsifying agents. *Span. J. Agric. Res.*, 3(2): 220-224.

888 **Fujiwara, S., Imai, J., Fujiwara, M., Yaeshima, T., Kawashima, T., & Kobayashi, K.**
889 **1990.** A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the
890 primary structure of royalisin. *J. Biological Chem.*, 265(19): 11333-11337.

891 **Gende, L. B., Maggi, M. D., Fritz, R., Eguaras, M. J., Bailac, P. N., & Ponzi, M. I.**
892 **2009.** Antimicrobial activity of *Pimpinella anisum* and *Foeniculum vulgare* essential oils
893 against *Paenibacillus larvae*. *J. Essential Oil Res.*, 21(1): 91-93.

894 **Genersch, E., Ashiralieva, A., & Fries, I.** 2005. Strain-and genotype-specific
895 differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a bacterial pathogen
896 causing American foulbrood disease in honeybees. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(11),
897 7551-7555.

898 **Genersch, E., Forsgren, J., Pentikäinen, A., Ashiralieva, S., Rauch, J., Kilwinski &**
899 **I. Fries.** 2006. Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and
900 *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies
901 differentiation. *Int. J Syst Evol. Microbiol.* 56: 501-511

902 **Genersch, E., Von Der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., ...**
903 **& Rosenkranz, P.** 2010. The German bee monitoring project: a long term study to
904 understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41(3),
905 332-352.

906 **Giacobino, A., Molineri, A., Bulacio Cagnolo, N., Merke, J., Orellano, E., Bertozzi,**
907 **E., Signorini, M.** 2016. Queen replacement: The key to prevent winter colony losses in
908 Argentina. *J. Apic. Res.*, 55 (4): 335-341. doi:10.1080/00218839.2016.1238595

909 **González, M. J., & Marioli, J. M.** 2010. Antibacterial activity of water extracts and
910 essential oils of various aromatic plants against *Paenibacillus larvae*, the causative
911 agent of American Foulbrood. *J. Inverteb. Pathol.*, 104(3): 209-213.

912 **Grohmann, L., Blenau, W., Erber, J., Ebert, P. R., Strünker, T., & Baumann, A.**
913 2003. Molecular and functional characterization of an octopamine receptor from
914 honeybee (*Apis mellifera*) brain. *J. Neurochem.*, 86(3): 725-735.

915 **Gunes, N., Cibik, R., Gunes, M. E., & Aydin, L.** 2008. Erythromycin residue in honey
916 from the Southern Marmara region of Turkey. *Food Addit. Contaminants*, 25(11), 1313-
917 1317.

918 **Hansen, H.** 1984. Methods for determining the presence of the foulbrood bacterium
919 *Bacillus larvae* in honey. *Dan. J. Plant. Soil. Sci.* 88: 325-28.

920 **Hansen, H., & Brødsgaard, C. J.** 1999. American foulbrood: a review of its biology,
921 diagnosis and control. *Bee World*, 80(1): 5-23.

922 **Hansen, H., & Brødsgaard, C. J.** 2001. World-wide distribution, early detection and
923 control of American Foulbrood. In *Proc. 37th Int. Apicultural Congress (Durban, South*
924 *Africa, 28 October–1 November 2001)*.

925 **Harpur, B.A., Chernyshova, A., Soltani, A., Tsvetkov, N., Mahjoorighasrodashti,**
926 **M., Xu, Z., & Zayed, A.** 2014. No genetic tradeoffs between hygienic behaviour and
927 individual innate immunity in the honey bee, *Apis mellifera* *PLoS One*, 9 (8), e104214.
928 doi:10.1371/journal.pone.0104214

929 **Heyndrickx, M., Vandemeulebroecke, K., Scheldeman, P., Hoste, B., Kersters, K.,**
930 **De Vos, P., ... & Berkeley, R. C. W.** 1995. *Paenibacillus* (Formerly *Bacillus*) *gordonae*
931 (Pichinoty et. al. 1986) Ash et al. 1994 is a later subjective synonym of *Paenibacillus*
932 (Formerly *Bacillus*) *validus* (Nakamura 1984) Ash et al. 1994: emended description of
933 *P. validus*. *International J. Systematic Evolutionary Microbiol.*, 45(4): 661-669.

934 **Hitchcock, J. D., Moffett, J. O., Lockett, J. J., & Elliott, J. R.** 1970. Tylosin for control
935 of American foulbrood disease in honey bees. *J. Econ. Entomol.*, 63(1): 204-207.

936 **Hornitzky, M. A. Z., & Wills, P. A.** 1983. Gamma radiation inactivation of *Bacillus*
937 *larvae* to control American foul brood. *J. Apicul. Res.*, 22(3): 196-199.

938 **Hoopingarner, R., & Nelson, K.** 1988. American foulbrood cleanup rate using three
939 terramycin treatments: 120-121.

940 **Human, H., Pirk, C. W. W., Crewe, R. M., & Dietemann, V.** 2011. The honeybee
941 disease American foulbrood—an African perspective. *African Entomol.*, 19(3): 551-557.

942 **INDEC.** 2020. [Exportaciones apícolas por país destino](https://inta.gob.ar/documentos/exportaciones-apicolas-por-pais-destino). Disponible en:
943 <https://inta.gob.ar/documentos/exportaciones-apicolas-por-pais-destino>. Ultimo acceso:
944 12 de junio de 2020

945 **INTA.** 2015. Loque americana, ¿de nuevo al ataque? Disponible
946 en:<https://inta.gob.ar/documentos/loque-americana-%C2%BFde-nuevo-al-ataque-0>

947 **Jalali, A. S., Najafi, G., Hosseinchi, M., & Sedighnia, A.** 2015. Royal Jelly alleviates
948 sperm toxicity and improves in vitro fertilization outcome in Stanazolol-treated
949 mice. *Iranian J. Reprod. Med.*, 13(1):15.

950 **Katznelson, H., C. A. Jamieson, & G. H. Austin.** 1955. Further studies on the
951 chemotherapy of diseases of the honeybee. *Can. J. Agr. Sci.* 35: 189-92

952 **Katznelson H.** 1956. Stability of antibiotics in honey, *Am. Bee J.* 96, 137

953 **Kimura, Y.** 2008. Antitumor and antimetastatic actions of various natural products.
954 Stud. Nat. Prod. Chem. 34, 35–76

955 **Kochansky, J.P., D. Knox & H. Shimanuki.** 1999. Comparative stability of
956 oxytetracycline and tylosin in sugar syrup. *Apidologie* 30: 321-326.

957 **Kochansky, J., Knox, D. A., Feldlaufer, M., & Pettis, J. S.** 2001. Screening
958 alternative antibiotics against oxytetracycline-susceptible and-resistant *Paenibacillus*
959 *larvae*. *Apidologie*, 32(3): 215-222.

960 **Kohno, K., Okamoto, I., Sano, O., Arai, N., Iwaki, K., Ikeda, M., Kurimoto, M.** 2004.
961 Royal jelly inhibits the production of proinflammatory cytokines by activated
962 macrophages. *Biosci., Biotechnol. Biochem.* 68 (1), 138–145

963 **Kujungiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., & Popov,**
964 **S.** 1999. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic
965 origin. *J. Ethnopharm.*, 64(3): 235-240.

966 **Leclercq, G., Pannebakker, B., Gengler, N., Nguyen, B. K., & Francis, F.** 2017..
967 Drawbacks and benefits of hygienic behavior in honey bees (*Apis mellifera*
968 L.): A review. *J. Apic. Res.* 56 (4): 366-375. doi:10.1080/00218839.2017
969 .1327938

970 **Lewis, K., Ausubel, F. M.** 2006 Prospects for plant-derived antibacterials. *Nature*
971 *Biotech.*, 24(12): 1504-1507.

972 **Ilyasov, RA y Kwon, HW** (Eds.). 2019. Filogenética de las abejas. *Prensa CRC.*
973 spores in adult bees and honey and larval mortality, following the addition of American
974 foulbrood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*)
975 colonies. *J. Invert. Pathol.*, 99(1): 82-86.

976 **Lindström, A., Korpela, S., & Fries, I.** 2008. Horizontal transmission of *Paenibacillus*
977 *larvae* spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through
978 robbing. *Apidologie*, 39(5): 515-522.

979 **Locke, B., Low, M. y Forsgren, E.** 2019. An integrated management strategy to
980 prevent outbreaks and eliminate infection pressure of American foulbrood disease in a
981 commercial beekeeping operation. *Prevent. Vet. Med.*, 167: 48-52.

982 **Machova, M.** 1970. Variations de la sensibilité aux antibiotiques souches de *Bacillus*
983 *larvae*. *Bull. Apic*, 13: 5-11.

984 **Maggi, M., Antúnez, K., Invernizzi, C., Aldea, P., Vargas, M., Negri, P., ... &**
985 **Barrios, C.** 2016. Honeybee health in South America. *Apidologie*, 47(6): 835-854.

986 **Maggi, M., Tourn, E., Negri, P., Szawarski, N., Marconi, A., Gallez, L., ... &**
987 **Eguaras, M.** 2016. A new formulation of oxalic acid for *Varroa destructor* control
988 applied in *Apis mellifera* colonies in the presence of brood. *Apidologie*, 47(4): 596-605.

989 **Manolova, N., Maximova, V., Gegova, G., Sekedjieva, Y., Uzunov, S., Marekov, N.,**
990 **Bankova, V.**, 1985. On the antiinfluenza action of fractions from propolis. *Comptes*
991 *rendus J. Acad. Bulgare Sci.* 38, 735–738.

992 **Manzoni C.** 2021. Miel argentina, un negocio que podría ser más dulce. Disponible en:
993 [https://www.lanacion.com.ar/economia/sectores-productivos-miel-argentina-un-negocio-que-](https://www.lanacion.com.ar/economia/sectores-productivos-miel-argentina-un-negocio-que-podria-ser-mas-dulce-nid2572016/)
994 [podria-ser-mas-dulce-nid2572016/](https://www.lanacion.com.ar/economia/sectores-productivos-miel-argentina-un-negocio-que-podria-ser-mas-dulce-nid2572016/). Ultimo acceso: enero, 2021.

995 **Matheson, A., & Reid, M.** 1992. Strategies for the prevention and control of American
996 foulbrood. *Am Bee J.* 132(6; 7; 8): 399-547.

997 **Matheson, A.** 1996. World bee health update 1996. *Bee world*, 77(1): 45-51.

- 998 **Meziani, F., Wendling, S., Hendrikx, P., & Franco, S.** 2015. Surveillance report on
999 honeybee (*Apis mellifera*) diseases and disorders in 2014. *Bull. Epidem. Animal Health*
1000 *Nutr.* 71, 80-85.
- 1001 **Miyagi, T., Peng, C.Y.S., Chuang, R.Y., Mussen, E.C., Spivak, M.S., Doi, R.H.** 2000.
1002 Verification of oxytetracycline-resistant American foulbrood pathogen *Paenibacillus*
1003 *larvae* in the United States. *J.Invert. Pathol.* 75: 95–96
- 1004 **Moffett, JO, Wilson, WT y Parker, RL.** 1958. El efecto de Penicel, tetraciclina y
1005 eritromicina en abejas adultas, crianza y producción de miel. *Soy. Bee J* , 98: 22-24.
- 1006 **Moffett, J. O., Hitchcock, J. D., Lockett, J. J., & Elliott, J. R.** 1970. Evaluation of
1007 some new compounds in controlling American Foul Brood. *J. Apic. Res.*, 9(1): 39-44.
- 1008 **Mutinelli, F.** 2003. Practical application of antibacterial drugs for the control of honey
1009 bee diseases. *J Invert Pathol*, 67: 65-71.
- 1010 **Narjes, M. E., & Lippert, C.** 2019. The optimal supply of crop pollination and honey
1011 from wild and managed bees: An analytical framework for diverse socio-economic and
1012 ecological settings. *Ecol. Econ*, 157: 278-290.
- 1013 **Nascimento, A. P., Moraes, L. A. R., Ferreira, N. U., Moreno, G. D. P., Uahib, F. G.**
1014 **M., Barizon, E. A., & Berretta, A. A.** 2015. The lyophilization process maintains the
1015 chemical and biological characteristics of royal jelly. *Evidence-Based Compl. Altern,*
1016 *Med.*, 2015.
- 1017 **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE).** 2004. Bee diseases in: Manual of
1018 Standards for Diagnostic Fifth Ed.
- 1019 **OIE.** 2008. Manual de la OIE sobre animales terrestres. Capítulo 2.2.7.

1020 [OIE. 2020. Enfermedades de la Lista de la OIE 2020: OIE - World ...Disponible en:](#)
1021 [www.oie.int › sanidad-animal-en-el-mundo › enfermedades. Ultimo acceso:](#)
1022 [16/12/2020.](#)

1023 **Okayama, A., Sakogawa, T., Nakajima, C., & Hayama, T.** 1996. Biological properties
1024 and antibiotic susceptibility of *Bacillus* larvae originated from American foulbrood of
1025 honeybee in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 58(5): 439-441.

1026 **Ortelli, D., Edder, P., & Corvi, C.** 2004. Analysis of chloramphenicol residues in honey
1027 by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Chromatographia*, 59(1): 61-64.

1028 **Palacio, M. A., Figini, E. E., Ruffinengo, S. R., Rodriguez, E. M., del Hoyo, M. L., &**
1029 **Bedascarrasbure, E. L.** 2000. Changes in a population of *Apis mellifera* L. selected for
1030 hygienic behaviour and its relation to brood disease tolerance. *Apidologie*, 31(4): 471-
1031 478.

1032 **Palacio, M. A., Rodriguez, E., Goncalves, L., Bedascarrasbure, E., & Spivak, M.**
1033 2010. Hygienic behaviors of honey bees in response to brood experimentally pin-killed
1034 or infected with *Ascosphaera apis*. *Apidologie*, 41(6): 602-612.

1035 **Passucci, J. A., West, M., Torres, J. O., Ballesteros, B., Rodríguez, G., & Tabera,**
1036 **A.** 2006. Clinical diagnostic of American Foulbrood in hives and prevalence of viable
1037 spores of *Paenibacillus larvae* subs. *larvae* in honey of apiaries from Tandil. *Rev. Arg.*
1038 *Prod. Anim.* 26(1): 57-62.

1039 **Peng, Y.S., E. Mussen., A. Fong., P. Cheng., G. Wong. & M.A. Montague.** 1996.
1040 Laboratories and field studies on the effects of the antibiotics tylosin on honey bees
1041 *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). Development and prevention of American
1042 Foulbrood disease. *J. Invert. Pathol.* 67: 64-71

- 1043 **Pettis, J. S., & Wilson, W. T.** 1996. Life history of the honey bee tracheal mite (Acari:
1044 Tarsonemidae). *Annals Entomol. Soc. America*, 89(3): 368-374.
- 1045 **Pettis, J. S., & Feldlaufer, M. F.** 2005. Efficacy of lincomycin and tylosin in controlling
1046 American foulbrood in honey bee colonies. *J. Apic. Res.*, 44(3): 106-108.
- 1047 **Pieterse, C. M., Zamioudis, C., Berendsen, R. L., Weller, D. M., Van Wees, S. C., &
1048 Bakker, P. A.** 2014. Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annual
1049 Review Phytopath.*, 52.
- 1050 **Pirk, C. W., Strauss, U., Yusuf, A. A., Démares, F., & Human, H.** 2016. Honeybee
1051 health in Africa—a review. *Apidologie*, 47(3): 276-300.
- 1052 **Potts, S. G. et al.** 2010 Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. *Trends
1053 Ecol. Evol.* **25**: 345–353
-
- 1054 **Potts, S. G., Imperatriz-Fonseca, V., Ngo, H. T., Aizen, M. A., Biesmeijer, J. C.,
1055 Breeze, T. D., ... & Vanbergen, A. J.** 2016. Safeguarding pollinators and their values
1056 to human well-being. *Nature*, 540(7632): 220-229.
- 1057 **Popowska, M., Rzczycka, M., Miernik, A., Krawczyk-Balska, A., Walsh, F., &
1058 Duffy, B.** 2012. Influence of soil use on prevalence of tetracycline, streptomycin, and
1059 erythromycin resistance and associated resistance genes. *Antimicrob. Agents
1060 Chemoth.*, 56(3): 1434-1443.
- 1061 **Requier, F., Garcia, N., Andersson, G. K., Oddi, F. J., & Garibaldi, L. A.** 2017. La
1062 pérdida global de colonias de la abeja melífera: un mundo de encuestas donde las
1063 fronteras persisten. *Apicultura sin Fronteras*. 92. Agosto de 2017.

1064 **Requier, F., Antúnez, K., Morales, C. L., Aldea Sánchez, P., Castilhos, D., Garrido,**
1065 **P. M., ... & Garibaldi, L. A.** 2018. Trends in beekeeping and honey bee colony losses
1066 in Latin America. *J. Apic. Res.*, 57(5): 657-662.

1067 **Reynaldi, F. J.** 2006. Evaluación de antibióticos para el control de loque americana en
1068 colmenas de abejas melíferas (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La
1069 Plata). Disponible en Sedici. Unlp.edu.ar

1070 **Reynaldi, F.J., Albo, G.N., & Alippi, A.M.** 2008. Effectiveness of tilmicosin against
1071 *Paenibacillus larvae*, the causal agent of American Foulbrood disease of
1072 honeybees. *Vet. Microb.*, 132(1-2): 119-128.

1073 **Reynaldi, F. J., Lacunza, J., Alippi, A. M., & Rule, R.** 2010. Binding of tylosin,
1074 tilmicosin and oxytetracycline to proteins from honeybees, larvae and beehive
1075 products. *Rev. Arg. Microb.*, 42(4): 279-283.

1076 **Reynaldi, F. J., R. Rule, M. S. Arauz & A. M. Alippi.** 2010. Sensibilidad in vitro de
1077 *Paenibacillus larvae* frente a los antibióticos oxitetraciclina, tilosina, tilmicosina y
1078 lincomicina. *Analecta Vet.*, 30.

1079 **Reynaldi, F.J. & Guardia López, A.R.** 2011. Programa de zonificación y promoción
1080 del sector apícola en la Provincia de Buenos Aires. Consejo Federal de Inversiones
1081 (CFI). Exp. no 11371.

1082 **Reynaldi, F. J., Albo, G. N., Arrebequere, M., Farina, O. H., & Rule, R.** 2016.
1083 Concentraciones-tiempo de oxitetraciclina administradas en dos formas farmacéuticas
1084 a colonias de *Apis mellifera* a campo. In *XVII Jornadas de Divulgación Técnico-*
1085 *Científicas, IV Jornada Latinoamericana, II Jornadas de Ciencia y Tecnología y I*
1086 *Reunión Transdisciplinaria en Ciencias Agropecuarias (Universidad Nacional de*
1087 *Rosario, Casilda y Zavalla, 22 y 23 de septiembre de 2016).*

1088 **Riessberger-Galle, U., Von Der Ohe, W., & Crailsheim, K.** 2001. Adult honeybee's
1089 resistance against *Paenibacillus larvae larvae*, the causative agent of the American
1090 foulbrood. *J. Invert. Pathol.* 77(4): 231-236.

1091 **Riley, M. A., & Wertz, J. E.** 2002. Bacteriocins: evolution, ecology, and
1092 application. *Ann. Reviews Microbiol.*, 56(1): 117-137.

1093 **Ritter, W.** 2014. Bee diseases are a worldwide problem. *Protecting bees, preserving*
1094 *our future*, 5.

1095 **Sáez, A., Aizen, M. A., Medici, S., Viel, M., Villalobos, E., & Negri, P.** 2020. Bees
1096 increase crop yield in an alleged pollinator-independent almond variety. *Scient.*
1097 *Reports*, 10(1): 1-7.

1098 **SAGPyA** Buenos Aires, 18 de diciembre de 2006. Disponible en:
1099 [http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-secretaria-de-](http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-secretaria-de-agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos)
1100 [agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos](http://www.senasa.gob.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-secretaria-de-agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos). Ultimo acceso: 16 diciembre, 2020.

1101 **SAGyPA.** Dir. Alim. y Bebidas. Apicultura. Síntesis Apícola. Julio 2020.
1102 <http://www.alimentosargentinos.gob.ar/HomeAlimentos/Apicultura/>

1103 **Saranraj P & Durga Devi V.** Essential oils and its antibacterial properties – a review.
1104 *Life Sci Arch.* 2017; 2: 994 – 1011. doi: 10.22192/lisa.2017.3.2.6. 156. Sarwar M.
1105 Fungal diseases of honey bees (Hymenoptera: Apidae) that induce considerable
1106 losses to colonies and protocol for treatment. *Internat J Zool Studies.* 2016: 1: 8-13.

1107 **SENASA.2005.**
1108 http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/ABEJAS/PROD
1109 [_PRIMARIA/SANID_APICOLA/EES/INFLUENZA/manual de enfermedades de las a](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/ABEJAS/PROD)
1110 [bejas 2005.pdf](http://www.senasa.gob.ar/sites/default/files/ARBOL_SENASA/ANIMAL/ABEJAS/PROD)

- 1111 **SENASA. 2014.** Listado de fármacos veterinarios. Disponible en:
1112 http://www.senasa.gov.ar/seccion_res.php?in=1471&titulo=F%E1rmacos%20ve
1113 [terinarios](http://www.senasa.gov.ar/seccion_res.php?in=1471&titulo=F%E1rmacos%20ve)
- 1114 **SENASA. 2016a.** Cadena Animal. Abejas. Producción primaria. Disponible en
1115 <http://www.senasa.gov.ar/cadena-animal/abejas/produccion-primaria>.
- 1116 **SENASA. 2016c.** Senasa comunica. Noticias. Sanidad apícola: se recuerda que no
1117 está permitido el uso de antibióticos en las colmenas. Disponible en
1118 [http://www.senasa.gov.ar/senasa-comunica/noticias/se-recuerda-que-noesta-](http://www.senasa.gov.ar/senasa-comunica/noticias/se-recuerda-que-noesta-permitido-el-uso-de-antibioticos-en-las-colmenas)
1119 [permitido-el-uso-de-antibioticos-en-las-colmenas](http://www.senasa.gov.ar/senasa-comunica/noticias/se-recuerda-que-noesta-permitido-el-uso-de-antibioticos-en-las-colmenas).
- 1120 **SENASA. 2020.** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos
1121 RESOLUCIÓN N° 870/2006 SAGPyA BUENOS AIRES, 18 de diciembre de 2006.
1122 Disponible en: [http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-](http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-secretaria-de-agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos)
1123 [secretaria-de-agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos](http://www.senasa.gov.ar/normativas/resolucion-870-2006-sagpya-secretaria-de-agricultura-ganaderia-pesca-y-alimentos). Ultimo acceso: 16 diciembre,
1124 2020.
- 1125 **Shimanuki, H., & Knox, D. A.** 1994. Susceptibility of *Bacillus larvae* to
1126 Terramycin. *Am. Bee J. (USA)*.
- 1127 <https://www.statista.com/statistics/812172/global-top-producers-of-honey>. 2019
- 1128 **Sugiyama, T., Takahashi, K., Tokoro, S., Gotou, T., Neri, P., & Mori, H.** 2012.
1129 Inhibitory effect of 10-hydroxy-trans-2-decenoic acid on LPS-induced IL-6 production
1130 via reducing I κ B- ζ expression. *Innate Immunity*, 18(3): 429-437.
- 1131 **Thompson, H. M., Waite, R. J., Wilkins, S., Brown, M. A., Bigwood, T., Shaw, M., ...**
1132 **& Sharman, M.** 2005. Effects of European foulbrood treatment regime on
1133 oxytetracycline levels in honey extracted from treated honeybee (*Apis mellifera*)
1134 colonies and toxicity to brood. *Food Addit. Contaminants.*, 22(6): 573-578.

1135 **Tonello, N. V.** 2019. Caracterización de nuevos medicamentos no contaminantes para
1136 el tratamiento de enfermedades apícolas. Disponible en:
1137 <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/81641>

1138 **Vandame, R., & Palacio, M. A.** 2010. Preserved honey bee health in Latin America: A
1139 fragile equilibrium due to low-intensity agriculture and beekeeping? *Apidologie*, 41 (3):
1140 243 – 255. doi: 10.1051/apido/2010025

1141 **Vásquez, A., Forsgren, E., Fries, I., Paxton, R. J., Flaberg, E., Szekely, L., &**
1142 **Olofsson, T. C.** 2012. Symbionts as major modulators of insect health: lactic acid
1143 bacteria and honeybees. *PloS one*, 7(3): e33188.

1144 **von der Ohe, W.** 2003. Control of American Foulbrood by using alternatively
1145 eradication method and artificial swarms. *Apiacta*. 38: 137-139.

1146 **Waite, R. J., Brown, M. A., Thompson, H. M., & Bew, M. H.** 2003. Controlling
1147 European foulbrood with the shook swarm method and oxytetracycline in the
1148 UK. *Apidologie*, 34(6): 569-575.

1149 **White, G.F.** 1906. The bacteria of the apiary with special reference to bee disease.
1150 USDA, *Bur Entomol, Technical Series*. 14:1–50.

1151 **Waite, R. J., Brown, M. A., Thompson, H. M., & Bew, M. H.** 2003. Controlling
1152 European foulbrood with the shook swarm method and oxytetracycline in the
1153 UK. *Apidologie*, 34(6): 569-575.

1154 **Wilson, WT** 1974. Residuos de oxitetraciclina en miel almacenada por *Apis*
1155 *mellifera*. *Entomología Ambiental*, 3 (4): 674-676.

1156 **Wilson, W. T., & Moffett, J. O.** 1957. The effect of erythromycin and other antibiotics
1157 on the control of European foulbrood of honeybees. *J. Econ. Entomol.*, 50(2): 194-196.

1158 **Zhou, J., Xue, X., Li, Y., Zhang, J., Wu, L., Chen, L., & Zhao, J.** 2007. Rapid and
1159 sensitive determination of two degradation products of flumethrin in honey by
1160 ultrasonically assisted extraction and gas chromatography with electron capture
1161 detection. *J. Separation Sci.*, 30(12): 1912-1919.

1162 **H. ANEXO**

1163 Foto nº 1 Pupa afectada por loque americana pag 11

1164 Foto nº 2 Operculos hundidos, oscurecidos y grasientos pag 15

1165 Foto nº 3 Escama de loque americana pag 15

1166 Figura nº 1 Estructura química del antibiótico tetraciclina pag 21

1167 Figura nº 2 Estructura química de la tilosina pag 22

1168 Figura nº 3 Estructura química de linmicocina pag 22

1169 Figura nº 4 Estructura química del clorancenicol pag 24

1170 Figura nº 5 Estructura química de sulfatiazol sódico pag 24