

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 1 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	4
2. ANTECEDENTES	4
3. JUSTIFICACIÓN	4
4. EJECUTORES DEL PROGRAMA	5
4.1. Elaboración del protocolo de vigilancia.....	6
4.2. Recepción de denuncias de casos clínicamente compatible con LA.....	6
4.3. Investigación y seguimiento de casos clínicamente compatible con LA.....	6
4.4. Toma de Muestras	6
4.5. Diagnóstico de Laboratorio	7
4.6. Aplicación de medidas sanitarias para evitar ingreso de la enfermedad, medidas de mitigación, prevención y control.	7
5. ALCANCE	7
COBERTURA DEL PROTOCOLO	7
5.1. Espacio:.....	7
5.2. Población:.....	7
5.3. Tiempo:.....	7
6. OBJETIVOS	7
Objetivo general.....	7
Objetivos específicos.....	8
7. ENFERMEDAD A VIGILAR	9
7.1. Agente etiológico.....	9
7.2. Mecanismos de transmisión	10
8. DEFINICIÓN DE CASO	10
8.1. Caso sospechoso	10
8.2. Caso confirmado	11


	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 2 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

9. ESTRATEGIAS PARA LA VIGILANCIA Y SEGUIMIENTO EPIDEMIOLÓGICO.....	12
9.1. Bases legales y reglamentarias	12
Competencia para aplicar medidas sanitarias sobre la actividad comercial:	12
Aplicación Obligatoria de Medidas Sanitarias:	12
La declaración obligatoria de la enfermedad:	12
9.2. Sistema de información y notificación.....	12
Reporte de sospechas de enfermedad:	12
Seguimiento de casos clínicamente compatibles con LA:	12
Toma y envío de muestras al Laboratorio:.....	12
Registro del evento:	13
Diagnóstico laboratorial:.....	13
Resultado laboratorial:	13
Entrega de Resultados:.....	13
Elaboración de informes y comunicación según el nivel que corresponda, a saber:	13
9.3. Diseminación de la información	13
10. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA	14
Tipo de vigilancia.....	14
Vigilancia Pasiva:	14
Vigilancia Activa	14
11. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	14
11.1. LABORATORIOS DESIGNADOS PARA EL PROCESO DE LAS MUESTRAS.	14
Laboratorio Nacional	14
Laboratorio de Referencia.....	14
11.2. MUESTRAS	14
11.3. PRUEBAS LABORATORIALES A UTILIZAR PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA:	14
Descripción del método diagnóstico.....	15
Técnicas de cultivo	15
Descripción de otros métodos diagnósticos sugeridos por OIE	16
Pruebas confirmatorias sencillas.....	16
Perfil bioquímico	17
Reacción en cadena de la polimerasa	18
Prueba láctea de Holst	20
Técnicas basadas en anticuerpos.....	20
Pruebas serológicas	20
12. CAPACITACIÓN AL SECTOR OFICIAL:	20
13. EVALUACIÓN Y SEGUIMIENTO:.....	21

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 3 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

14. ABREVIACIONES:21

15. BIBLIOGRAFÍA22

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 4 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

1. Introducción

La Loque Americana (LA) es una enfermedad de las abejas melíferas *Apis mellifera* y otras *Apis* spp. en sus estadios de larva y de pupa. El organismo causal, *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, es una bacteria que puede producir más de mil millones de esporas en cada larva infectada. Las esporas son muy longevas y sumamente resistentes al calor y a los agentes químicos, y son las únicas capaces de ocasionar la enfermedad.

Los panales de los *colmenares* infectados pueden presentar signos clínicos característicos que permiten diagnosticar la enfermedad en el terreno. No obstante, las infecciones subclínicas son comunes y necesitan un diagnóstico de laboratorio.

En los últimos años las apariciones de Loque Americano son muy esporádicas, presentándose el último caso el 2006, siendo un caso aislado presente en una sola colmena.¹

El Programa Nacional de Apicultura se encarga de atender todas las denuncias que se presentan en el país por denuncia de colmenas enfermas, en caso de las enfermedades de la cría se remiten muestras con sintomatología compatible al laboratorio de LANASEVE, en caso de detectarse la presencia de LA, se procede a realizar las inspecciones en los apiarios que se encuentren en un radio de 3 Kms, lo que se realiza de acuerdo con el marco lista que el programa cuenta, se da capacitación continua a los apicultores incentivando entre las Buenas Prácticas la desinfección de los materiales, factor al que se atribuye la baja presencia de esta enfermedad.


2. Antecedentes

El primer caso de Loque Americana en Costa Rica fue identificado por el Laboratorio de La Misión Técnica Alemana en Apicultura en 1975. De las 279 muestras tomadas en el primer muestreo nacional realizado en 1989 un 54.4% resultaron positivas en todas las zonas del país.²

En los últimos muestreos realizados durante el 2006-2007, no se presentó ningún caso positivo por lo que para el muestreo se estima una prevalencia para esta enfermedad menor al 1%.

Algunos factores que han contribuido a bajar estos niveles de incidencia son la introducción de líneas genéticas de abejas resistentes y las técnicas de manejo que los productores aplican para mantener un manejo preventivo con la aplicación de los Manuales de Buenas Prácticas Apícolas.

3. Justificación

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 5 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

El desarrollo evolutivo ha hecho que las abejas sean los polinizadores por excelencia de diferentes especies vegetales, sin olvidar que existen otros medios de polinizar cultivos específicos y otras especies polinizadoras.

Esta relación es tan importante que en la actualidad las grandes plantaciones de cultivos como sandía, melón, chayote, fresas y moras, entre otros, requieren como parte de su paquete tecnológico de las abejas para poder alcanzar el éxito en la producción.


En Costa Rica se cuenta con aproximadamente 40.000 colmenas de las cuales un 20% se dedican a la polinización de cultivos y el restante se dedica a la producción de miel y polen productos que tienen una gran aceptación en el mercado nacional. En los últimos años la apicultura se ha convertido en una excelente alternativa para la producción de las zonas aledañas a las reservas, y se encuentra principalmente distribuida en manos de pequeños agricultores, significando un rubro importante en el ingreso familiar.

4. Ejecutores del programa

Será responsable de la ejecución de este protocolo el Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA) del Ministerio de Agricultura y Ganadería. En la tabla N°1 se resume el responsable de ejecución según la actividad involucrada.

Tabla N° 1 Ejecutores del programa según actividad y responsable de la ejecución

ACTIVIDAD	RESPONSABLE DE EJECUCION
Elaboración del protocolo de vigilancia	Programa Nacional de Apicultura (PNAPI) y la Unidad de Epidemiología
Recepción de denuncias de casos clínicamente compatible con LA	Direcciones Regionales y Técnicos del PNAPI.
Investigación y seguimiento de casos clínicamente compatible con LA	Direcciones Regionales y PNAPI
Toma de muestras	<ul style="list-style-type: none"> • Médicos Veterinarios y Técnicos del PNAPI. • Médicos Veterinarios Oficiales ubicados en puestos cuarentenarios.
Diagnóstico de laboratorio	Dirección de Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios (LANASEVE).
Aplicación de prohibiciones a las importaciones	Dirección de Cuarentena Animal en el nivel central y en los puestos cuarentenarios
Controles sobre la producción apícola	PNAPI y Direcciones Regionales

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 6 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

4.1. **Elaboración del protocolo de vigilancia**

Es responsabilidad del Coordinador(a) del PNAPI, junto con el epidemiólogo de apoyo designado por el Consejo Epidemiológico del SENASA y con la supervisión del Director Técnico de la Unidad de Epidemiología; analizar y actualizar de ser necesario este protocolo cada año, después de la Asamblea General de la OIE o cuando por cambios en el status sanitario o cambios en la epidemiología de la enfermedad así lo requieran.

4.2. **Recepción de denuncias de casos clínicamente compatible con LA**

Es responsabilidad de los funcionarios de las Direcciones Regionales, técnicos oficializados y técnicos del Programa Nacional Apícola de Extensión del MAG, recibir las denuncias de los casos con sintomatología compatible con LA, mediante el Registro de Notificación de Denuncia. Además de enviar al Médico Veterinario oficial encargado del sector y dar aviso al Coordinador(a) del PNAPI, de dicha denuncia, para su análisis.

4.3. **Investigación y seguimiento de casos clínicamente compatible con LA**

Es responsabilidad de los Médicos Veterinarios oficiales analizar la información de la denuncia y clasificarla según corresponda, si la denuncia clasifica para atención de caso deberá darle seguimiento a la misma.


Es responsabilidad del Técnico Apícola del Extensión y del Técnico Oficializado durante la visita proceder a realizar el examen clínico de las colmenas, que presentan sintomatología compatible con LA. Durante la visita deberá utilizar los formularios: Hoja de Visita y Registro de Información sobre Episodios de Enfermedades Agudas (EA1).

Es responsabilidad del Técnico Apícola de Extensión y del Técnico Oficializado que realizó la visita, entregar la información al Médico Veterinario encargado de la región que corresponda y al Coordinador(a) del PNAPI, para la incorporación y registro de los eventos y el Coordinador(a) del PNAPI deberá informar al Director Técnico de La Unidad de Epidemiología a través del informe semanal epidemiológico.

4.4. **Toma de Muestras**

La toma y el envío de la muestra de colmenas con sintomatología compatible con LA son responsabilidad de los Médicos Veterinarios Oficiales o del personal formado específicamente para ello (técnicos).

Para la toma de muestras se debe de tomar un pedazo de panal con cría sellada de aspecto grasiento de 10X10 centímetros envuelto en un papel periódico blanco, se debe de mantenerla en refrigeración, la muestra debe llegar al laboratorio debidamente rotulado, con numero de colmena, nombre y dirección del apiario y los datos del propietario.

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 7 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Es responsabilidad del Médico Veterinario Oficial de cuarentena en los Puestos de Ingreso Fronterizo (PIF) al país, de la toma y del envío de la muestra de panal con sintomatología compatible con LA.

4.5. Diagnóstico de Laboratorio

Es responsabilidad de la Dirección de LANASEVE, recibir la muestra y asignarle un número de identificación (protocolo), enviarla al Área Apícola del Laboratorio de Seguridad y emitir un diagnóstico.

4.6. Aplicación de medidas sanitarias para evitar ingreso de la enfermedad, medidas de mitigación, prevención y control.

Es responsabilidad de la Dirección de Cuarentena Animal a nivel central, establecer los controles necesarios con las importaciones de animales vivos, miel, productos y subproductos de origen apícola, para cumplir con las recomendaciones que en materia de LA emita la OIE y con la normativa nacional.

Es responsabilidad de los Médicos Veterinarios Oficiales, a nivel de los PIF, realizar la comprobación de los requisitos sanitarios exigidos a las mercancías de origen animal que sean importadas, para verificar que no sean mercancías con riesgo asociado para LA. De conformidad con el Código de Animales Terrestres de la OIE, artículos 9.2.5, 9.2.6, 9.2.7, 9.2.8.

5. Alcance


Cobertura del protocolo

- 5.1. **Espacio:** El Protocolo de Vigilancia Epidemiológica de LA abarcará todo el territorio de la República de Costa Rica.
- 5.2. **Población:** La población a vigilar serán las 40 mil colmenas del territorio nacional de Apis mellifera.
- 5.3. **Tiempo:** se realizaran muestreos de vigilancia anualmente.

6. Objetivos


Objetivo general

Establecer las directrices para la Vigilancia Epidemiológica de Loque Americana con el fin de determinar las medidas que se requieren para la detección y prevención de la enfermedad.

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 8 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Objetivos específicos

- Detectar la Loque Americana en los apiarios del país mediante la vigilancia epidemiológica en sus niveles de infección inicial.
- Establecer la prevalencia de esta enfermedad.
- Definir las medidas de control
- Definir factores de riesgos para reducir la probabilidad de presentación de esta enfermedad a los apiarios nacionales.

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 9 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

7. Enfermedad a vigilar

Loque Americana


7.1. Agente etiológico

La Loque Americana afecta a la larva de la abeja de miel *Apis mellifera* y de otras sub-especies de *Apis* spp. en todo el mundo. El organismo causante de esta enfermedad, la subespecie *larvae*, *Paenibacillus larvae*, es una bacteria que puede producir más de mil millones de esporas en cada larva infectada. Las esporas son extremadamente resistentes al calor y a los agentes químicos y ellas solas son capaces de inducir la enfermedad.

Identificación del agente: Los panales de las colonias infectadas tienen una apariencia moteada debido a una mezcla de crías operculadas sanas, celdas no operculadas que contienen restos de larvas enfermas y celdas vacías. Esto no es sólo característico de la Loque Americana. Las celdas operculadas de una larva enferma aparecen húmedas y oscuras, volviéndose cóncavas y, posiblemente, perforadas a medida que progresa la infección. El color de la larva o pupa cambia a marrón crema y luego a marrón oscuro con una apariencia viscosa cuando se extraen. Durante el estadio avanzado se desprende un olor característico. Eventualmente, la cría enferma se seca y forma unas escamas frágiles características, que se adhieren fuertemente a las partes bajas de las celdas. La formación de una lengua pupal es una de las señales más características de la enfermedad, aunque raramente observada, y precede a la formación de escamas.

El método a utilizar para el diagnóstico de la Loque Americana depende de si los signos clínicos de la enfermedad están presentes o no. En caso de enfermedad clínica, se dispone de diferentes técnicas de laboratorio sencillas para su confirmación. Algunas de ellas requieren el aislamiento del agente patógeno por medio de sub-cultivos. La presencia de esporas resistentes al calor, las características de crecimiento de la bacteria, y la morfología de la colonia, combinadas con las siguientes pruebas simples de laboratorio, se consideran concluyentes: tinción de Gram, prueba de la catalasa, y prueba de la reducción de nitratos (facultativa). Puede realizarse una identificación completa de la bacteria aislada estableciendo su perfil bioquímico o mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta última también permite el examen directo de los restos de la larva sin llevar a cabo la larga etapa de cultivo previo. Las técnicas basadas en los anticuerpos son útiles cuando no se han demostrado reacciones cruzadas con otros bacilos, por ejemplo contra el *Paenibacillus alvei*, que se encuentra con frecuencia en la última fase de la Loque Europea.

Cuando no existen signos clínicos o no se tiene información sobre la apariencia de los panales de crías (exámenes de los productos de las abejas melíferas), se recomienda la identificación del agente patógeno. Ésta puede realizarse mediante perfil bioquímico (de las colonias aisladas sospechosas) o por PCR (directamente sobre las muestras o después del cultivo). Sólo las personas experimentadas pueden basarse en las características del crecimiento, en la morfología de la

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 10 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

colonia y en la utilización exclusiva de sencillas técnicas de confirmación de laboratorio antes mencionadas.

7.2. Mecanismos de transmisión


La infección puede transmitirse a la larva por las abejas nodrizas o por las esporas que permanecen en la base de las celdas de las crías. Aunque las larvas de las abejas obreras, de los zánganos y de las reinas son susceptibles de infección, las larvas de las reinas y los zánganos infectadas se observan raramente en condiciones naturales. La susceptibilidad de las larvas a la Loque Americana disminuye cuando aumenta la edad (32 horas); las larvas no pueden ser infectadas después de transcurridas 53 horas después de que el huevo ha eclosionado. La dosis media infectiva (ID₅₀= dosis de spora con la cual un 50% de las larvas mueren) necesaria para el inicio de la infección, aunque muy variable, es 8.49 esporas para las larvas que tienen entre 24 y 48 horas de vida. La forma más común de propagación de la enfermedad de una colonia a otra es el intercambio de panales con restos de larvas enfermas. Además, la enfermedad también puede propagarse por el robo de miel cargada de esporas o la alimentación con esta miel, por enjambres artificiales y por la introducción de reinas procedentes de colonias infectadas. La pronta detección de la Loque Americana puede ayudar a prevenir la propagación de la enfermedad.

8. Definición de caso

8.1. Caso sospechoso

Una larva sana tiene un color blanco perla brillante. Primero se desarrolla en forma de C en el fondo de la celda y posteriormente crece erguida hasta llenar la celda. Las larvas infectadas mueren en esta posición erecta. En colonias seriamente afectadas, los panales parecen estar moteados debido a una combinación de crías operculadas sanas, celdas no operculadas con restos de larvas enfermas y celdas vacías. El opérculo de una celda que contiene una larva enferma aparece húmedo y oscurecido y empieza a ponerse cóncavo y perforado a medida que avanza la infección.



	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 11 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

También la larva o pupa cambia de color, primero a marrón cremoso y, eventualmente, a marrón oscuro. Las larvas adquieren una consistencia glutinosa y pueden extraerse como hilos insertando una sonda dentro de los restos de la larva y retirándola de la celda. En esta etapa la larva adquiere un olor característico parecido al pegamento de zapatos.



Finalmente, después de un mes o más, los restos de las crías enfermas se secan formando las típicas escamas oscuras y duras que son frágiles y se adhieren fuertemente a las paredes bajas de la celda. Si la muerte tiene lugar durante el estado pupal, la formación de la lengua pupal, una protuberancia que va desde la cabeza pupal atravesando la parte superior de la celda, es uno de los signos más característicos de la enfermedad, aunque esto raramente se puede ver. La lengua puede persistir también en la escama seca.




8.2. **Caso confirmado**

Colmenas con resultados positivos a pruebas diagnósticas confirmatorias, realizadas en un laboratorio de referencia.

8.3. **Caso negativo**

Colmenas con resultados negativos a pruebas diagnósticas confirmatorias, realizadas en un laboratorio de referencia.

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 12 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

9. Estrategias para la vigilancia y seguimiento epidemiológico

9.1. Bases legales y reglamentarias

Competencia para aplicar medidas sanitarias sobre la actividad comercial:

El Acuerdo sobre la Aplicación de Medidas Sanitarias y Fitosanitarias (aprobado por Ley No. 7475, publicada en el Diario Oficial La Gaceta No. 245, Alcance No. 40, del 26 de diciembre de 1994), reconoce la potestad del Estado costarricense de adoptar las medidas necesarias para proteger la salud de sus habitantes y la de sus animales, entre otras. En igual sentido, la Ley de Ejecución de los Acuerdos de la Ronda Uruguay de Negociaciones Multilaterales (No. 7473 del 19 de diciembre de 1994), en su artículo 8, establece que corresponderá a los Ministerios de Salud y de Agricultura y Ganadería aplicar lo concerniente a las medidas sanitarias y fitosanitarias que incidan directa e indirectamente en el comercio.

Aplicación Obligatoria de Medidas Sanitarias:

La Ley General del Servicio Nacional de Salud Animal (No. 8495 del 16 de mayo de 2006) regula lo relativo a la aplicación de medidas sanitarias de prevención y control de las enfermedades. En éste sentido, declara de interés público y de aplicación obligatoria, las medidas sanitarias establecidas en la ley y todas aquellas que promueven el mejoramiento de la producción animal y su directa repercusión en la salud del hombre. Designa al Servicio Nacional De Salud Animal del Ministerio de Agricultura y Ganadería como la responsable de la ejecución de tales medidas.

La declaración obligatoria de la enfermedad:

El Reglamento para la Protección de la Industria Apícola No. 15563 MAG-S Artículo 2, da la lista de enfermedades de declaración obligatoria.

9.2. Sistema de información y notificación

Reporte de sospechas de enfermedad:

Los funcionarios de las Direcciones Regionales, técnicos apícolas de Extensión y técnicos oficializados, reciben las denuncias de los casos con sintomatología compatible con LA, mediante el Registro de Notificación de Denuncia (anexo 1) y envían al Médico Veterinario oficial encargado del sector dicha denuncia, para su análisis.


Seguimiento de casos clínicamente compatibles con LA:

El Médico Veterinario Oficial analiza la información de la denuncia y la clasifica según corresponda, si la denuncia clasifica para atención de caso procede a darle seguimiento a la misma.

Durante la visita procede a realizar el examen clínico de la colmena o las colmenas que presentan sintomatología compatible con LA. Durante la visita deberá utilizar los formularios: DO-MC-01-RE-006 Hoja de visita/ Orden sanitaria y Registro de Información sobre Episodios de Enfermedades Agudas (EA1) (DO-MC-01-RE-013).

Toma y envío de muestras al Laboratorio:

El Médico Veterinario Oficial o el personal formado específicamente para ello (técnicos), si se trata de colmenas vivas o muertas con sintomatología compatible con LA se procede a

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 13 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

la toma y del envío de la muestra, de acuerdo a lo establecido en el Procedimiento para la toma y envío de muestras (anexo 4).

Registro del evento:

El Médico Veterinario Oficial y/o el técnico del SENASA, registra la información de la visita en el sistema oficial de vigilancia epidemiológica (el Boletín de Eventos Epidemiológicos BOEE), y envía el formulario de Información sobre Episodios de enfermedades agudas EA1 (DO-MC-01-RE-013) conjuntos con el Formulario de Recepción de Muestras para Diagnóstico (SEG-PE-001-RE-007) al LANASEVE. La información del evento será registrado en la Unidad de Epidemiología por el PNAPI.

Diagnóstico laboratorial:

Es responsabilidad de la Dirección de LANASEVE, recibir la muestra y asignarle un número de identificación (protocolo), enviarla al Área Apícola del Laboratorio de Seguridad y emitir un diagnóstico.

Resultado laboratorial:

El encargado del Área Apícola del Laboratorio de Seguridad, emite un resultado, el cual envía a la Unidad de Servicios Generales del LANASEVE.

Entrega de Resultados:

- De reportarse el resultado sin la presencia del agente etiológico, la Unidad de Servicios Generales del LANASEVE, entrega o envía el resultado a la Dirección Regional donde corresponda y además entrega una copia al Coordinador(a) del PNAPI, para su archivo.
- De reportarse el resultado con la presencia del agente etiológico, la Unidad de Servicios Generales del LANASEVE, comunica al Director General del SENASA, al Coordinador(a) del PNAPI, al Director Técnico de la Unidad de Epidemiología y a la Dirección Regional donde corresponda, y según lo definido en el procedimiento UE-PG-004 sobre vigilancia pasiva en campo.

Elaboración de informes y comunicación según el nivel que corresponda, a saber:

Reporte semanal de los funcionarios de las Direcciones Regionales y de los Técnicos al Director de cada región del país siguiendo los procedimientos e instrumentos definidos para este efecto.


El Coordinador(a) del PNAPI deberá informar al Director Técnico de La Unidad de Epidemiología a través del BOEE.

9.3. Diseminación de la información

BOEE

Boletín Epidemiológico Semanal

Informes de seguimiento de sospechas y casos

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 14 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Boletines informativos

10. Vigilancia epidemiológica

Tipo de vigilancia

Vigilancia Pasiva:

La vigilancia pasiva de la enfermedad consiste, básicamente, en la detección de animales positivos debido a la comunicación por parte de veterinarios, técnicos o apicultores/responsables de las colmenas; de la aparición de colmenas con sintomatología clínica compatible con LA.

Vigilancia Activa:

El programa de seguimiento activo, va encaminado a la búsqueda efectiva de la enfermedad, mediante el control periódico de las colmenas, cada cinco años. Por medio de un muestreo dirigido.

11. Diagnóstico laboratorial

11.1. Laboratorios designados para el proceso de las muestras.

Laboratorio Nacional: El Servicio Nacional de Salud Animal ha designado al LANASEVE del SENASA.

Laboratorio de Referencia: En caso de ser necesario se enviará al Laboratorio de Loque Americana de la Unidad de Bacteriología del Centro de Investigaciones en Fitopatología (CIDEFI) calle 60 y 119 s/n c.c. 31, 1900 La Plata ARGENTINA. Tel: (+54-221) 423.67.58 ext. 423 Fax: (+54-221) 425.23.46


11.2. Muestras

Como muestras se pueden enviar panales enteros o una porción de panal de 10cm x 10 cm, envueltos en papel periódico, conservados en refrigeración, para recibirlos en el laboratorio el mismo día.

11.3. Pruebas laboratoriales a utilizar para el diagnóstico de LA:

En la actualidad se utilizan las siguientes técnicas:

- Técnica de cultivo
- Gota pendiente modificada

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 15 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Descripción del método diagnóstico

Técnicas de cultivo: Para cultivar *P. I. larvae* a partir de los restos larvales, se preparan suspensiones de esporas en un tubo de ensayo mezclando el material infectado en 5-10 ml de agua esterilizada, solución fisiológica (tampón fosfato salino o NaCl al 0,9%) o en medio líquido (la misma composición del medio sólido descrita más adelante, pero sin agar). Todos los medios de cultivo deben someterse a control de calidad y deben permitir el crecimiento de *P. I. larvae* a partir de pequeños inóculos. En paralelo con las muestras sospechosas deberá cultivarse también una cepa de referencia para garantizar que las pruebas funcionan de forma correcta.

Para examinar las esporas de las muestras de miel, éstas se calientan a 45–50°C y se agitan para distribuir las esporas que estén presentes. Una dilución con un volumen igual de agua (25 ml), permite un manejo más fácil. La miel diluida se transfiere a un tubo de diálisis de 44 mm de ancho que se ha atado por un extremo. El extremo que está abierto se ata después de llenar el tubo. Los tubos se sumergen en agua corriente o en un baño de agua durante 18 horas, cambiando el agua 3-4 veces durante este período.


Después de la diálisis, el contenido se centrifuga a 2.000 **g** durante 20 minutos. Se desecha el líquido sobrenadante dejando aproximadamente 1 ml (o menos) de residuo en cada muestra. El sedimento se resuspende en 9 ml de agua.

También puede prepararse la miel para cultivo sin realizar la fase de diálisis. Sin embargo, eso requiere un tiempo mayor (30 minutos) y una centrifugación más rápida (3.000 **g**). Asimismo, el volumen en el cual se resuspende el sedimento puede ser menor (200 µl) con el fin de aumentar la sensibilidad de la prueba.

Cualquiera que sea el método que se elija, cuando se expresa el resultado de los análisis de la miel de manera cuantitativa y se fijan los valores límite, siempre se debe seguir estrictamente la metodología utilizada para establecer dichos valores.

Tanto las muestras tomadas de los panales de cría como las de miel pueden procesarse de la misma forma a partir de este momento. La suspensión se calienta a 80°C durante 10 minutos para matar las bacterias no esporuladoras. Se utiliza un hisopo de algodón aséptico para transferir una porción de la suspensión a la superficie de las placas de Petri que contienen medio sólido, las cuales se incuban durante 2-4 días a 34– 37°C. Para una evaluación cuantitativa se recomienda extender un volumen fijo de la suspensión en agar sólido con una espátula aséptica en lugar de utilizar hisopos de algodón. Lo mejor es incubar las placas inoculadas en una atmósfera con 5–10% CO₂, aunque se podrá realizar también una incubación aeróbica.

Se pueden utilizar diferentes medios sólidos incluyendo agar infusión cerebro-corazón suplementado con tiamina HCl (29), medio J (19), MYPGP (7), medio de Michael (5) y agar Columbia que contenga sangre de caballo al 5% (15). Este

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 16 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

último puede empezar a decolorarse o a hemolisarse parcialmente cuando *P.I. larvae* crece en dicho medio.

Las muestras obtenidas de larvas clínicamente enfermas darán lugar a placas con crecimiento concluyente después de 2 a 4 días, lo que conduce a la fase de subcultivo con el fin de obtener colonias aisladas. En agar sangre Columbia, las colonias son pequeñas (< 1 mm de diámetro), regulares, brillantes, mantecosas, y de color grisáceo o descolorido, con pigmentos de sangre (15). En medio de Michael, las colonias son blanquecinas, opacas, aplanadas, con bordes irregulares y generalmente con un diámetro de 1-3 mm (5).

Se recomienda a los técnicos sin experiencia operar en paralelo con las cepas de referencia de *P.I. larvae*, por ejemplo LMG 9820 (otra denominación es AYCC 9545). Una muestra de miel o de crías que ha resultado positiva puede servir como control positivo para el análisis completo.

Pueden surgir dificultades cuando las suspensiones de esporas contienen otras bacterias esporuladas, las cuales pueden saturar por completo el cultivo. Si esto es así, se recomienda complementar el medio sólido con ácido nalidíxico (18) y/o ácido pipemídico (2). Las soluciones madre se preparan disolviendo 0,3 gramos de ácido nalidíxico o 0,4 g de ácido pipemídico en 2 ml de NaOH 1 N y diluyendo a 100 ml con tampón fosfato 0,01M o agua, se esterilizan por filtración y se guardan refrigeradas. Estas soluciones madre se añaden al medio de agar líquido para obtener una concentración final de 6-9 µg/ml de ácido nalidíxico y 10–20 µg/ml de ácido pipemídico.


También se han recuperado esporas similares a *P. I. larvae* de la cera de las abejas por extracción con cloroformo y del polen mediante filtración acuosa.

Descripción de otros métodos diagnósticos sugeridos por OIE

Pruebas confirmatorias sencillas:

Paenibacillus I. larvae: es un bacilo Gram-positivo, con algunos rasgos que lo diferencian de muchos otros bacilos que contaminan a las abejas y a sus productos. En efecto, la bacteria es catalasa negativa y reduce el nitrato a nitrito. En consecuencia, varias pruebas sencillas de laboratorio pueden confirmar la Loque Americana si se observan signos clínicos y cuando el cultivo de muestras tratadas con calor produce colonias con una característica morfología y velocidad de crecimiento (lenta), que contienen bacilos Gram-positivos.

Prueba de la Catalasa: Se coloca una gota de peróxido de hidrógeno al 3% en un cultivo en crecimiento activo sobre un medio sólido. La mayoría de las bacterias aeróbicas descomponen el peróxido en agua y oxígeno, produciendo una espuma efervescente, pero *P.I. larvae* casi siempre es negativa a esta reacción.

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 17 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

Cuando se utilizan cultivos en agar sangre Columbia la prueba no puede realizarse en medio sólido, dado que la presencia de sangre de caballo causaría una reacción falsa positiva. En este caso, las colonias deben transferirse a un portaobjetos limpio para la realización de la prueba.


Prueba de la reducción de nitratos: la bacteria puede obtenerse en medio agar infusión de cerebro-corazón que contenga nitrato de potasio (1-2 mg/litro de medio). Cuando tiene lugar el crecimiento, la adición de una gota de reactivo ácido sulfanílico -alfa-naftol produce un color rojo si el nitrato se ha reducido a nitrito. También se han descrito cepas nitrato reductasa negativas.

Perfil bioquímico: Cuando el analista no puede basarse en la presencia de signos clínicos (por ejemplo, examen de los productos de las abejas melíferas) o cuando la enfermedad está aun en su fase subclínica, se recomienda una identificación más completa del agente patógeno. Puede considerarse como concluyente el establecimiento del perfil bioquímico de colonias aisladas sospechosas así como de sus características básicas (resistencia al calor, velocidad de crecimiento, morfología de la colonia y morfología de las bacterias). Para establecer el perfil bioquímico se requiere, además de las pruebas de catalasa y reducción de nitratos, antes mencionadas, la producción de ácido a partir de carbohidratos, la hidrólisis de almidón y caseína, la utilización de citrato y la licuación de gelatina.

Producción de ácidos a partir de carbohidratos: Las bacterias se cultivan en caldo J (la misma composición que la del medio J, pero sin agar), en el que el 0,5% del sustrato de prueba, esterilizado por separado en una solución acuosa, se sustituye por el azúcar. Los carbohidratos utilizados son L (+)- arabinosa, D (+)-glucosa, D (+)-xilosa y D (+)-trehalosa. Los cultivos se prueban a los 14 días tomando asépticamente 1 ml o menos, mezclando la muestra con una gota de púrpura de bromocresol alcohólico al 0,04% y observando el color del indicador. *Paenibacillus l. larvae* produce ácido de forma aeróbica a partir de la glucosa y de la trehalosa. No se produce ácido a partir de la arabinosa y la xilosa (1). La diferenciación entre *P. l. larvae* and *P. l. pulvifaciens* –la última se asocia con la rara enfermedad de nombre “costra pulverulenta” – puede realizarse sobre la base de la producción de ácido a partir de manita y salicina.

Este parece ser uno de los pocos rasgos que permiten la diferenciación de las sub-especies. Además, *P. l. pulvifaciens* también crece a 20°C (*P. l. larvae* no lo hace) y algunas cepas producen colonias pigmentadas de color amarillo-naranja.

Hidrólisis de almidón (11): Se disuelve 1 g de almidón de patata en 10 ml de agua destilada fría, se mezcla con 100 ml de medio J sin glucosa, se autoclava, se enfría a 45°C y luego se mezcla con cuidado y se vierte en 5 placas de Petri. Después de 3 días de almacenamiento a temperatura ambiente (para permitir que se evapore el exceso de humedad), las placas se siembran por duplicado con cada cultivo. En los días 5 y 10 de la incubación, las placas se inundan con yodo de Gram. Transcurridos 15-30 minutos, el almidón que no ha cambiado se

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 18 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

vuelve violeta y opaco. Una vez raspado el crecimiento, una zona clara debajo y alrededor del mismo indica hidrólisis del almidón. Las cepas de *Paenibacillus l. larvae* no hidrolizan el almidón.

Hidrólisis de la caseína: El medio que se utiliza para esta prueba se compone de una solución A (10 g de leche en polvo desnatada, 90 ml de agua destilada) y una solución B (3 g de agar, 97 ml de agua destilada) que se esterilizan por separado (a 121° C durante 20 minutos), se enfrían hasta 45°C y luego se mezclan. El medio así preparado (25 ml) se vierte en placas de Petri que son inoculadas con cultivos de 24 horas. Se prolonga la incubación sin interrupción durante 7 días. Una reacción positiva se indica por la clarificación del medio por debajo y alrededor de la zona de crecimiento de la colonia. *Paenibacillus l. larvae* produce una reacción positiva.


Utilización de citrato: Este se prueba utilizando medio J semi-sólido sin glucosa, pero suplementado con 2 g de citrato de sodio (11). El medio, esterilizado en tubos de ensayo, se inocula con dos o tres gotas de un cultivo reciente (de 3-4 días) en medio J semi-sólido. Los días 14 y 21 de la incubación, se mezcla una pequeña cantidad del cultivo con un indicador rojo de fenol. Una reacción alcalina significa que utiliza el citrato. *Paenibacillus l. larvae* no utiliza el citrato.

Crecimiento en caldo nutritivo: Las bacterias se inoculan en un tubo de caldo nutritivo (3 g de extracto de carne, 5 g de peptona, 1.000 ml de agua destilada) y se incuban hasta que aparezca crecimiento o durante 14 días. Si el cultivo crece, se transfiere una pequeña cantidad a otro tubo de caldo nutritivo. Este procedimiento se repite de forma seriada con 10 transferencias sucesivas o hasta que no haya crecimiento.

Sólo los cultivos que sobrevivan a las 10 transferencias seriadas se consideran aptos para crecer en caldo nutritivo. *Paenibacillus l. larvae* no es capaz de resistir la transferencia seriada en caldo nutritivo (1). Por el contrario *P. l. pulvifaciens* puede crecer en este medio de rutina.

Licuación de la gelatina: Los cultivos en tubos de gelatina (120 g de gelatina, 1.000 ml de agua destilada, pH 7,0) incubados a 28°C se prueban para observar la licuación a intervalos de 3-4 días durante 4 semanas. Antes de la prueba, se ponen los cultivos a 20° C durante 4 horas aproximadamente para permitir que la gelatina se endurezca. *Paenibacillus l. larvae* licua la gelatina. Puede considerarse la utilización de kits comerciales, como API 50 CHB (5) y BBL CRYSTAL (8), para una caracterización bioquímica de *P. l. larvae*. Sin embargo, como se ha comprobado que estos equipos producen diferentes resultados para algunas de las reacciones bioquímicas, tiene que elaborarse un perfil de *P. l. larvae* para cada sistema de forma independiente.

Reacción en cadena de la polimerasa: La PCR es una técnica de huella genética que permite la identificación de aislados bacterianos sospechosos y la detección de *P. l. larvae* en larvas clínica y subclínicamente enfermas y en los

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 19 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

productos de las abejas melíferas. El tratamiento de las muestras depende de la aplicación de la prueba.

Se toma una colonia sospechosa, se suspende en 50 µl de agua destilada y se calienta a 95°C durante 15 minutos (12). Después de centrifugar a 5.000 x *g* durante 5 minutos, se añade como ADN molde 1 µl del sobrenadante a una mezcla de 50 µl para PCR que contiene MgCl₂ 2 mM, 50 pmoles de un cebador directo y uno inverso (las secuencias de los cebadores se indican más adelante), una concentración de 25-200 mM de cada uno de los desoxinucleótidos trifosfato, y 1-1,25 U de polimerasa *Taq*. La amplificación de un fragmento específico del ADN se obtiene mediante un termociclador ajustado a las siguientes condiciones para la PCR: una etapa a 95° C (1-15 minutos); 30 ciclos a 93° C (1 minuto); 55°C (30 segundos) y 72°C (1 minuto) y un ciclo final a 72° C (5 minutos). Los pesos moleculares de los productos obtenidos de la PCR se determinan por electroforesis en un gel de agarosa al 0.8% y tinción con bromuro de etidio.


Se suspenden los restos de dos larvas de abejas de miel enfermas en 1ml de agua destilada esterilizada y se mezcla bien; se diluyen 100 µl de esta suspensión con 900 µl de agua destilada. Esta dilución se agita y se utilizan 100 µl de la misma para extraer el ADN por calentamiento y centrifugación. El método PCR permanece igual en las diferentes aplicaciones.

El método de preparación para el ADN molde, anteriormente mencionado, basado en calentamiento y centrifugación, sólo puede utilizarse en las fases vegetativas de las bacterias. La extracción del ADN de las esporas requiere otro enfoque. En efecto, las suspensiones de esporas se centrifugan a 6.000 *g* y a 4°C durante 30 minutos. El precipitado se somete entonces a un tratamiento en microondas durante 5 minutos a la máxima potencia para romper las esporas, y el ADN liberado se suspende en 30 µl de Tris/HCl 10 mM, pH 8,0, que contenga ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) 1 mM. Cuando se trata de detectar las esporas en la miel, el ADN se diluye de forma seriada con agua destilada esterilizada para eliminar la inhibición de la PCR causada por la miel (28). Se ha descrito otro método de extracción del ADN basado en el tratamiento con lisozima y la proteinasa K.

Se pueden obtener buenos resultados incubando una suspensión de esporas precipitadas (por ejemplo, de una muestra de miel o de larvas infectadas subclínicamente) en caldo MYPGP a 37°C durante 2-24 horas.

La suspensión se centrifuga después a 14.500 *g* durante 5 minutos, se lava con agua destilada esterilizada y se resuspende en 200 µl de agua destilada esterilizada. Esta breve fase de incubación hace que las esporas germinen haciendo que sean sensibles para la preparación de ADN mediante un nuevo tratamiento por calor .

Se ha demostrado que varias combinaciones de cebadores basadas en el gen rRNA 16S son específicas de especie. Es posible la diferenciación entre *P. l. larvae* and *P. l. pulvifaciens* utilizando el conjunto de cebadores proporcionado

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 20 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

por Piccini *et al.*, cuando el número de ciclos se reduce de 30 a 25 (28). Las secuencias de los cebadores son: La identificación de las dos subespecies también es posible mediante la digestión posterior, con endonucleasa *HaeIII*, de un fragmento de ADNr 16S amplificado por PCR (3). A tal efecto, los cebadores que se utilizan tienen una especificidad mucho más baja y amplifican los genes rRNA 16S de las especies de *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus* y *Virgibacillus*.

Prueba láctea de Holst:

La prueba láctea de Holst (17) se basa en el hecho de que *P.I. larvae* produce una gran cantidad de enzimas proteolíticas durante la esporulación. Esta prueba se realiza suspendiendo una escama sospechosa, o un frotis de una larva enferma en un tubo que contenga 1-4 ml de leche en polvo desnatada al 1%. El tubo se incuba a 37°C. Si *P.I. larvae* está presente, la suspensión se aclarará en 10-20 minutos.

Técnicas basadas en anticuerpos:

Se han desarrollado diferentes técnicas basadas en anticuerpos para el diagnóstico de la Loque Americana. La mayoría de ellas utilizan suero policlonal de conejo obtenido frente a cultivos puros de *P.I. larvae*. En una prueba de inmunodifusión, los anticuerpos interactúan con el antígeno bacteriano durante un proceso de difusión doble, dejando líneas de precipitación (27). En la técnica de anticuerpos fluorescentes, estos anticuerpos se conjugan con un fluorocromo. El anticuerpo fluorescente resultante reacciona con un frotis bacteriano sobre un porta. Se enjuaga el antisuero sobrante y se examina el frotis con un microscopio de fluorescencia. *Paenibacillus l. larvae* se tiñe específicamente como una bacteria muy fluorescente sobre un fondo oscuro (26, 30, 33). Las técnicas basadas en anticuerpos son útiles cuando no se ha demostrado una reacción cruzada con otros bacilos, por ejemplo, contra *Paenibacillus alvei*, que se encuentra a menudo en la última fase de la Loque europea. Existe un ensayo de inmunoenzima en el que se utiliza un anticuerpo monoclonal específico para *P.I. larvae*.

Pruebas serológicas


No existen pruebas serológicas disponibles.

12. Capacitación al sector oficial:

Cada dos años se realiza un Congreso Nacional de Apicultura al que asisten los técnicos del sector oficial, siendo uno de los temas prioritarios la Patología Apícola dándose mucho énfasis a las características de las enfermedades en campo.

Además cada vez que el sector privado y el oficial promueven pasantías se realizan capacitaciones en todo el país y el tema de mayor relevancia son enfermedades por lo que traen expertos que visitan todo el país.

Existe una gran interacción entre el sector privado y el sector público por lo que las actividades de capacitación se realizan en conjunto.


	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 21 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

13. Evaluación y seguimiento:

Los apiarios positivos a LA se llevara un seguimiento cada tres meses por medio de muestreos, de no tener colmenas positivas al cumplir un año de la aparición se cierra el caso.

14. Abreviaciones:

LA: Loque Americana
PNAPI: Programa Nacional de Apicultura
BOEE: Boletín de Eventos Epidemiológicos

	Programa Nacional de Sanidad Apícola	Rige a partir de: 17/07/2012	Código: PNAPI-PV-001
	PROTOCOLO VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA LOQUE AMERICANA	Versión 01	Página 22 de 22
Elaborado por: Programa Nacional de Sanidad Apícola	Revisado por: Unidad de Epidemiología	Aprobado por: Director General	

15. Bibliografía

1. OIE. 2004. Manual OIE sobre animales terrestres
http://www.oie.int/esp/normes/mmanual/pdf_es/2.9.02_Logue_americana.pdf
2. OIE. 2010. Lista de datos por enfermedad.
http://www.oie.int/esp/es_index.htm
3. Blanco. 1989. Informe de estudio epizootiológico sobre la incidencia de las enfermedades y plagas de las abejas melíferas efectuado en Costa Rica de marzo a agosto de 1989. Laboratorio de Salud Animal, MAG.
4. Cubero. 2009. Situación de la apicultura en Costa Rica y su importancia. SENASA.