



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

**IDENTIFICACIÓN DE ALTERNATIVAS DE  
TRATAMIENTO CONTRA LA NOSEMOSIS EN LA  
ABEJA *Apis mellifera* MEDIANTE METAANÁLISIS**

Tesis que presenta

CARLOS ALEJANDRO CASTAÑEDA CAAMAL

En opción al título de

MAESTRO EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Recursos Naturales)

Mérida, Yucatán, México

2022

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.  
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



**RECONOCIMIENTO**

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **CARLOS ALEJANDRO CASTAÑEDA CAAMAL** titulado “**IDENTIFICACIÓN DE ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO CONTRA LA NOSEMOSIS EN LA ABEJA *Apis mellifera* MEDIANTE METAANÁLISIS**”, fue realizado en el **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección de la **Dra. Blanca Marina Vera Ku** y la **Dra. María Azucena Canto Aguilar**, dentro de la opción de Recursos Naturales, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente:



---

Dra. Cecilia Hernández Zepeda  
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 12 de enero de 2022

## DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos Experimentales, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de experimentación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.



---

Carlos Alejandro Castañeda Caamal

Este trabajo se llevó a cabo en la Unidad de Recursos Naturales del Centro de Investigación Científica de Yucatán, en el que participaste bajo la dirección de las Dras. Blanca Marina Vera Ku y María Azucena Canto Aguilar.

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios por permitirme llegar a este logro

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán A. C. por brindarme las facilidades y las herramientas para lograr la realización de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada No. 734551 para la realización la maestría en Ciencias Biológicas.

A mis directoras de tesis, la Dra. Blanca Marina Vera Ku y la Dra. María Azucena Canto Aguilar por aceptarme, por su paciencia, confianza y apoyo a lo largo de la realización de este trabajo de tesis que me permitió crecer académicamente.

A todos los compañeros y amigos del CICY que en algún momento me brindaron su apoyo y comentarios sobre este trabajo y hacer que esta estancia sea agradable con buenos momentos. Gracias.

A los integrantes de mi comité evaluación: Dra. Blanca Marina Vera Ku, Dra. María Azucena Canto Aguilar, Dra. Rocío Borges Argáez, Dr. José Luis Andrade Torres, Dr. Miguel Rosado Vallado y al Dr. Luis Medina Medina.

A mis padres por su apoyo, su paciencia y confianza en mí.

A mis entrañables mascotas "Puppy" y "Linda" por estar en mi vida, brindarme la sinceridad de su amor y robarme sonrisas.

---

---

## INDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>2</b>
ANTECEDENTES .....	2
1. MICROSPORIDIOS .....	3
2. NOSEMOSIS.....	4
2.2 DISTRIBUCIÓN DE <i>N. APIS</i> Y <i>N. CERANAE</i> .....	<del>6</del> 7
2.3 DIAGNÓSTICO DE LA NOSEMOSIS .....	<del>7</del> 8
2.4 PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA NOSEMOSIS .....	<del>8</del> 9
3. REVISIÓN DE LITERATURA CIENTÍFICA .....	<del>10</del> 11
3.1 REVISIONES SISTEMÁTICAS .....	<del>10</del> 11
3.2 METAANÁLISIS .....	<del>11</del> 12
3.3 LIMITACIONES DEL METAANÁLISIS .....	<del>13</del> 14
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN .....	<del>16</del> 17
OBJETIVO GENERAL .....	<del>16</del> 17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	<del>16</del> 18
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	<del>16</del> 18
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b><del>18</del>21</b>
MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS .....	<del>18</del> 21
INTRODUCCIÓN .....	<del>18</del> 21
2.1 MATERIALES Y MÉTODOS .....	<del>19</del> 22
2.1.1 ESTRATEGIA DE BÚSQUEDA Y CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	<del>19</del> 22
2.1.2 SELECCIÓN DE ESTUDIOS .....	<del>20</del> 23
2.1.3 RIESGO DE SESGO ENTRE ESTUDIOS INDIVIDUALES.....	<del>21</del> 24
2.1.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	<del>21</del> 24
2.2 RESULTADOS .....	<del>22</del> 26
2.2.1 ANÁLISIS DE LOS ESTUDIOS A INCLUIR.....	<del>22</del> 26
2.2.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	<del>27</del> 31
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b><del>31</del>35</b>
DISCUSIÓN, CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS.....	<del>31</del> 35
3.1 DISCUSIÓN .....	<del>31</del> 35
3.2 CONCLUSIONES.....	<del>32</del> 36
3.3 PERSPECTIVAS.....	<del>33</del> 37
<b>GLOSARIO</b> .....	<b><del>34</del>38</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b><del>35</del>39</b>

---

## LISTADO DE FIGURAS

<b>Figura 1.1.</b> Ciclo de los microsporidios .....	<b>34</b>
<b>Figura 1.2.</b> Fotografías de los parásitos causantes de la nosemosis en <i>A. mellifera</i> .....	<b>45</b>
<b>Figura 1.3.</b> Distribución de <i>N. ceranae</i> .....	<b>67</b>
<b>Figura 1.4.</b> Distribución de <i>N. apis</i> y <i>N. ceranae</i> .....	<b>78</b>
<b>Figura 1.5.</b> <i>Aspergillus fumigatus</i> con azul de lactofenol (40 X).....	<b>94</b>
<b>Figura 1.6.</b> Esquema de la estrategia experimental.....	<b>174</b>
<b>Figura 3.1.</b> Diagrama Forest-plot de los estudios sobre tratamientos alternativos para la nosemosis en artículos generados entre 1990 y 2020. ....	<b>273</b>

---

## LISTADO DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Diferencias entre revisiones narrativas y revisiones sistemáticas .....	<u>1142</u>
<b>Tabla 2.</b> Principales tipos de sesgo y sus definiciones.....	<u>1345</u>
<b>Tabla 3.</b> Estudios seleccionados para el metaanálisis .....	<u>2327</u>

---

## ABREVIATURAS

<b>MA</b>	Metaanálisis
<b>SDC</b>	Síndrome de Despoblamiento de Colmenas
<b>OIE</b>	Organización Mundial de Sanidad Animal
<b>PCR</b>	Reacción en Cadena de la Polimerasa
<b>IPBES</b>	Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services

---

## RESUMEN

Las abejas melíferas proporcionan importantes servicios ecosistémicos, como la polinización a diferentes cultivos y especies vegetales nativas, sin embargo, diversas enfermedades y parasitosis como la nosemosis afectan la integridad, desarrollo y producción de las colonias siendo necesario la aplicación de tratamientos con determinados productos como la fumagilina, el cual no está autorizado para el control de esta parasitosis en diversos países de Europa y América incluyendo a México debido a los daños que ocasiona en las abejas y el riesgo de contaminar la miel y otros productos obtenidos de las colonias bajo tratamiento con este antibiótico. Diversos estudios han evaluado la aplicación de productos alternativos para el control de la nosemosis, pero los resultados en la eficacia son muy variados debido a que los protocolos de investigación son diferentes, por lo que es necesario identificar los estudios de control de la nosemosis que ofrezcan mejores resultados para encaminar futuros estudios. Para esto se usa el metaanálisis, una herramienta estadística útil y práctica para la toma de decisiones en la investigación ofreciendo una comparación cuantitativa entre resultados científicos realizados en diferentes tiempos y espacios. En este trabajo se empleó para analizar los productos y estrategias alternativas para el control de la nosemosis causados principalmente por las especies *Nosema apis* y *N. ceranae* que afectan a las abejas melíferas a nivel mundial, y para estimar su eficacia se valoraron estudios publicados en el período de 1990 a 2020. Durante este período, se revisaron un total de 1,194 artículos publicados. De estos, se seleccionaron 1,134 referencias que incluyen estrategias de manejo, se eligieron 284 trabajos que incluyeron el efecto sobre la mortalidad del parásito, de los cuales solo 23 artículos presentaron estadígrafos de dispersión para cada tratamiento. Se calculó el tamaño del efecto y su intervalo de confianza al 95 %. Se realizó el gráfico Forest-plot. Se calculó el estadígrafo Q para demostrar la significación del análisis. Posteriormente, se agruparon los artículos según la táctica de manejo empleada. De acuerdo con este análisis, se identificaron productos alternativos prometedores en el control de la nosemosis principalmente por fitoterapias y polen, los cuales presentaron tratamientos con mayor eficacia en el control de la nosemosis.

---

---

## ABSTRACT

Honey bees provide important ecosystem services, such as pollination of different crops and native plant species, however, various diseases and parasitosis such as nosemosis affect the integrity, development and production of colonies, making necessary the application of treatments with certain products such as fumagilin, which is not authorized for the control of this parasitosis in various countries in Europe and America, including Mexico, due to the damage it causes to bees and the risk of contaminating honey and other products obtained from colonies treated with this antibiotic. Several studies have evaluated the application of alternative products for nosemosis control, but the results in efficacy are very varied due to different research protocols, so it is necessary to identify the nosemosis control studies that offer better results to guide future studies. For this purpose, meta-analysis is used, a useful and practical statistical tool for decision making in research, offering a quantitative comparison between scientific results carried out at different times and places. This work was used to analyze the products and alternative strategies for the control of nosemosis caused mainly by *Nosema apis* and *N. ceranae* species that affect honey bees worldwide, and to estimate their efficacy, studies published in the period from 1990 to 2020 were evaluated. During this period, a total of 1,194 published articles were reviewed. Of these, 1,134 references were selected that included management strategies, 284 papers were chosen that included the effect on parasite mortality, of which only 23 articles presented dispersion statistics for each treatment. The effect size and its 95% confidence interval were calculated. The Forest-plot graph was made. The Q-statistic was calculated to demonstrate the significance of the analysis. Subsequently, the articles were grouped according to the management tactic employed. According to this analysis, promising alternative products in nosemosis control were identified mainly by phytotherapies and pollen, which presented treatments with higher efficacy in nosemosis control.

---

---

---

## INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de abejas melíferas en todo el mundo están sufriendo un descenso desde principios del siglo XXI, lo que ha generado gran preocupación en la sociedad y en las autoridades sanitarias durante los últimos años (Meana Mañes, 2016)

Desde el principio, diversas y variadas hipótesis han surgido acerca de las causas que podrían provocar este fenómeno. Hoy en día, todavía no hay un consenso, pero en general se cree que la mortalidad de las colonias es un fenómeno multifactorial y los patógenos juegan un papel clave en este proceso, al igual que la exposición a insecticidas (Goulson *et al.*, 2015).

Es por esto que tras la aparición del Síndrome de Despoblamiento de Colmenas, las técnicas de detección de parásitos han mejorado significativamente, y se ha demostrado que la prevalencia de los patógenos en las abejas está en aumento (Higes *et al.*, 2009).

Entre estos patógenos de las abejas destaca la nosemosis, sobre todo por las inconveniencias de los efectos secundarios de los tratamientos existentes, por lo que el desarrollo de nuevas estrategias integrales para controlar este patógeno de manera saludable y natural, es vital para el desarrollo de la apicultura.

En el campo de la investigación, es muy esperanzador que los elementos evaluados en un bioensayo tengan resultados prometedores, significativos y efectivos, pero ¿cómo elegir de todos estos elementos al que tenga mejores resultados y rendimiento?

Una herramienta que puede ayudar a evaluar los resultados de estos bioensayos es mediante el uso de técnicas como el metaanálisis, donde se pueden comparar cuantitativamente diferentes trabajos publicados (Morales, 1993). Esta herramienta estadística es ampliamente reconocida por su practicidad en la toma de decisiones en investigación, y puede proporcionar rápidamente comparaciones entre resultados realizados en diferentes momentos y espacios (Glass, 1976)

En este trabajo, se utilizó un metaanálisis para analizar las estrategias reportadas para el control de *Nosema apis* y *N. ceranae* en las abejas *A. mellifera* y determinar aquellos tratamientos que podrían ser los más eficaces para controlar la nosemosis.

## CAPÍTULO I

### ANTECEDENTES

La apicultura, como actividad agrícola, necesita obtener rendimientos que la hagan económicamente sostenible. Esto estaría determinado fundamentalmente por la correcta combinación de los recursos disponibles y la reducción de la influencia de los factores negativos, por lo que la salud de las abejas está estrechamente relacionada con el rendimiento.

Se sabe que dos tercios de los alimentos que ingerimos dependen de la polinización (IPBES, 2016). Los polinizadores son los encargados de llevar los granos de polen de una flor a otra, asegurando que los óvulos sean fertilizados, formando así semillas y frutos. Por tanto, esta actividad es fundamental para el mantenimiento de los ecosistemas naturales y la producción de alimentos, medicinas y ropa (Morse & Calderone, 2000)

Entre los polinizadores, las abejas melíferas (*Apis mellifera*) son claramente la piedra angular, porque polinizan diversos cultivos, lo que significa que en muchas partes del mundo la producción agrícola depende de esta especie (Morse & Calderone, 2000). Además, la polinización de *A. mellifera* también es vital en el mantenimiento de la biodiversidad de diferentes ecosistemas. Por tanto, el desarrollo de la apicultura afecta a todas las cadenas productivas agrícolas (Evans & Schwarz, 2011; Morse & Calderone, 2000; Potts *et al.*, 2010).

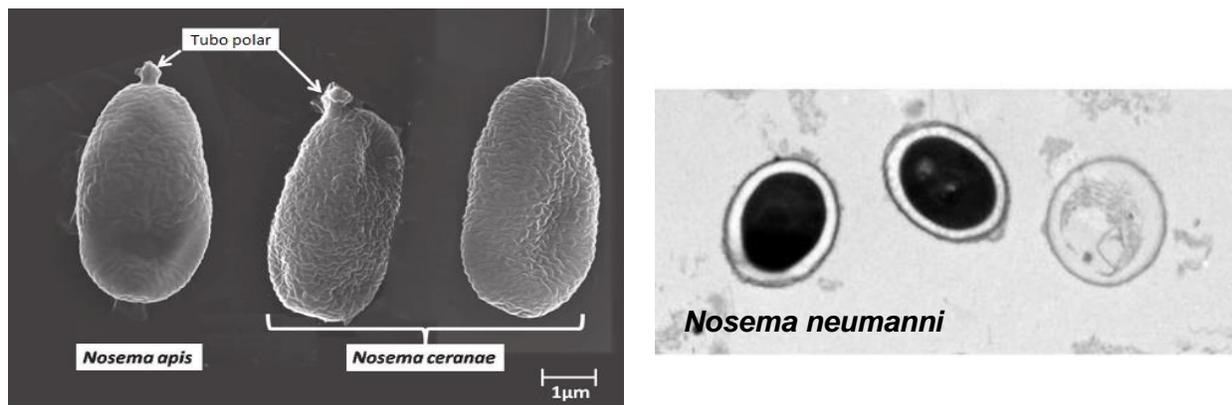
Recientemente, se ha reportado un fenómeno en Estados Unidos y varios países de Europa relacionado con la disminución de las colonias de abejas. En Europa se le conoce como “*honey bee colony depopulation syndrome*” (HBDS) y en Estados Unidos se le denomina “*colony collapse disorder*” (CCD). En este escrito lo denominaremos como “Síndrome de Despoblamiento de Colmenas” (SDC). El SDC se caracteriza por la disminución inmoderada y repentina del número de abejas adultas en la colonia sin causa aparente, provocando que la colonia entre en colapso y muera. Algunas de las características con las que se asocia al SDC son: la gran disminución en el número de abejas adultas lo que propicia el debilitamiento integral de la colonia, ausencia de abejas muertas dentro y fuera de la colmena, invasión intempestiva de las plagas en la colmena y, por último, el colapso de la colonia (vanEngelsdorp *et al.*, 2009). Se cree que los principales factores que propician al SDC son: pesticidas, patógenos, estrés por migración, estrés por desnutrición, modificación del hábitat de las abejas, reproducción inadecuada y radiación electromagnética (Boehm, 2012; Ensenbach, 2020). En concreto, el SDC



Estos parásitos intracelulares, no poseen ciertos orgánulos característicos de los eucariotas, como lo son el aparato de Golgi, peroxisomas y mitocondrias estrictas; es por ello que necesitan tomar el ATP de su entorno para poder reproducirse (Burri *et al.*, 2006; Cornman *et al.*, 2009), además presentan mecanismos de infección únicos y complejos. La infección sucede mediante un mecanismo de extrusión tubular conocido como filamento polar capaz de inyectar el contenido de las esporas maduras en las células huésped.

## 2. NOSEMOSIS

La nosemosis, es una enfermedad parasitaria causada por hongos que se reproducen por microsporidios y siendo los del género *Nosema* los que invaden las células epiteliales del ventrículo de las abejas adultas. En la actualidad, se sabe de tres especies de este género que afectan a las abejas *A. mellifera*, siendo 2 las más reconocidas y de mayor distribución a nivel mundial: *Nosema apis* descrito por primera vez por Zander infectando a las abejas melíferas (Webster *et al.*, 2008) y la especie *Nosema ceranae* identificada por primera vez infectando a la abeja melífera asiática *A. cerana* (Fries *et al.*, 1996) y actualmente con una amplia distribución en Asia, Europa y América infectando a las abejas *A. mellifera* (Higes *et al.*, 2006; Klee *et al.*, 2007) y recientemente se ha reportado a la especie *Nosema neumannii* infectando a las abejas *A. mellifera* en Uganda (Chemurot *et al.*, 2017), pero aún no se tiene mucha información acerca de los efectos de su infección (figura 1.2). Cada especie causa diferentes síntomas que pueden afectar la integridad de las abejas y dependiendo del grado de patogenicidad y frecuencia, las consecuencias pueden presentar riesgos para la viabilidad de las colmenas.



**Figura 1.2.** Fotografías de los parásitos causantes de la nosemosis en *A. mellifera* (tomado de: Chemurot *et al.*, 2017; Ptaszyńska *et al.*, 2012)

Durante mucho tiempo se consideró que *N. apis* era la única especie que parasitaba principalmente a la abeja *A. mellifera*, y que la abeja asiática *A. cerana* era el huésped natural de *N. ceranae*, sin embargo, pueden infectar a las abejas al mismo tiempo (coinfeción) y cabe señalar que *N. ceranae* en comparación con *N. apis* se desarrolla mejor en *A. mellifera* (Higes *et al.*, 2006; Huang *et al.*, 2007; Klee *et al.*, 2007; Paxton *et al.*, 2007).

Esto se puede deber a que la nosemosis causada por *N. apis*, tiene bajos niveles de infección durante el verano, un nivel medio durante el otoño y por lo general aumenta lentamente durante el invierno (Higes *et al.*, 2010), siendo las regiones con inviernos largos y otoños húmedos donde se presentan el mayor daño. Los signos principales observadas en las abejas son: abdomen hinchado, excrementos en el exterior o interior de la colmena, diarrea, alta mortalidad de abejas en primavera, dificultad motora de la abeja afectada y renovación espontanea de las reinas en primavera (Higes *et al.*, 2008).

Por otra parte, *N. ceranae*, también altera el metabolismo de las proteínas de *A. mellifera* (Basualdo *et al.*, 2014) afectando principalmente a las abejas adultas considerándose una amenaza importante para la salud de las abejas, tanto a nivel individual como en las colonias de abejas completas (Botías *et al.*, 2012; Higes *et al.*, 2010). *N. ceranae* es un parásito originariamente asociado a la abeja *A. ceranae* (Fries *et al.*, 1996), y en ocasiones no presenta los signos observados en *N. apis* (Martín-Hernández *et al.*, 2007).

Las diferencias entre los dos microsporidios, *N. apis* y *N. ceranae*, no solo está en sus características adaptativas sino también en su estructura y secuenciación del gen RNAr (16s) de la pequeña subunidad del ribosoma (SSU) (Chen *et al.*, 2009), lo que permite la identificación de la especie de *Nosema* (Klee *et al.*, 2007; Paxton *et al.*, 2007)

## 2.2 Distribución de *N. apis* y *N. ceranae*

La distribución *N. apis* y *N. ceranae* es muy amplia ya que se extiende por todo el mundo. Antes se pensaba que la distribución de *N. ceranae* se encontraba limitada geográficamente a la distribución de *A. cerana* (Fries, 1997). Según Klee *et al.* (2007), *N. ceranae* puede tener como hospedero a *A. mellifera*, y actualmente se está extendiendo dentro de otros géneros como *Bombus* y *Osmia* (Goulson *et al.*, 2015; Vavilova *et al.*, 2017; Figura 1.3 y 1.4), por lo que, no se sabe cuándo o dónde ocurrió el cambio de hospedero.

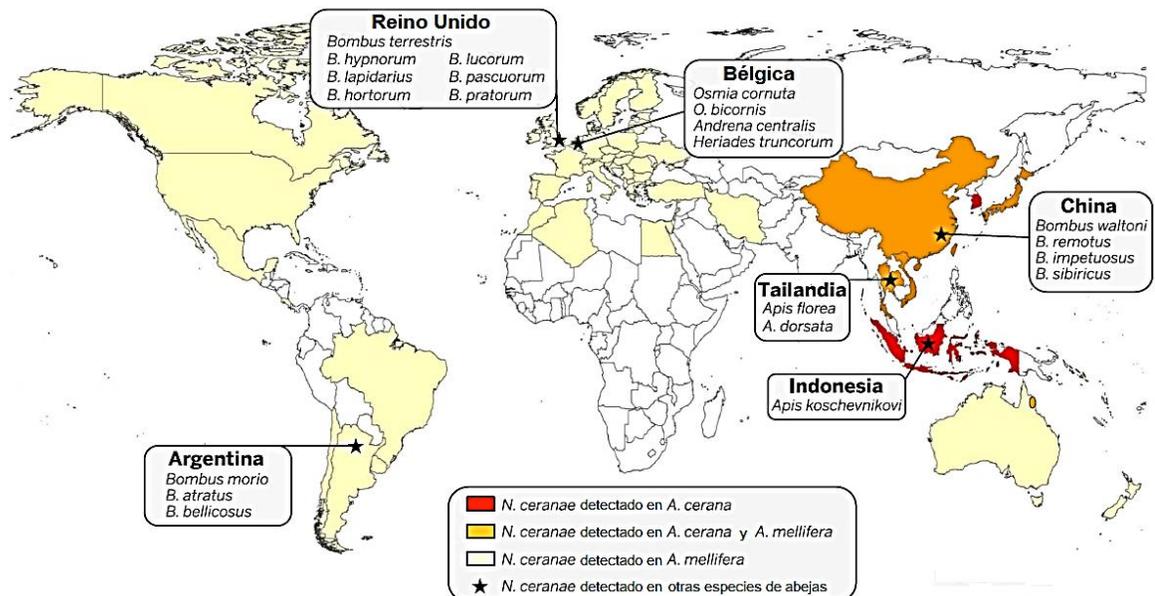


Figura 1.3. Distribución de *N. ceranae* (Fuente: Goulson *et al.*, 2015)

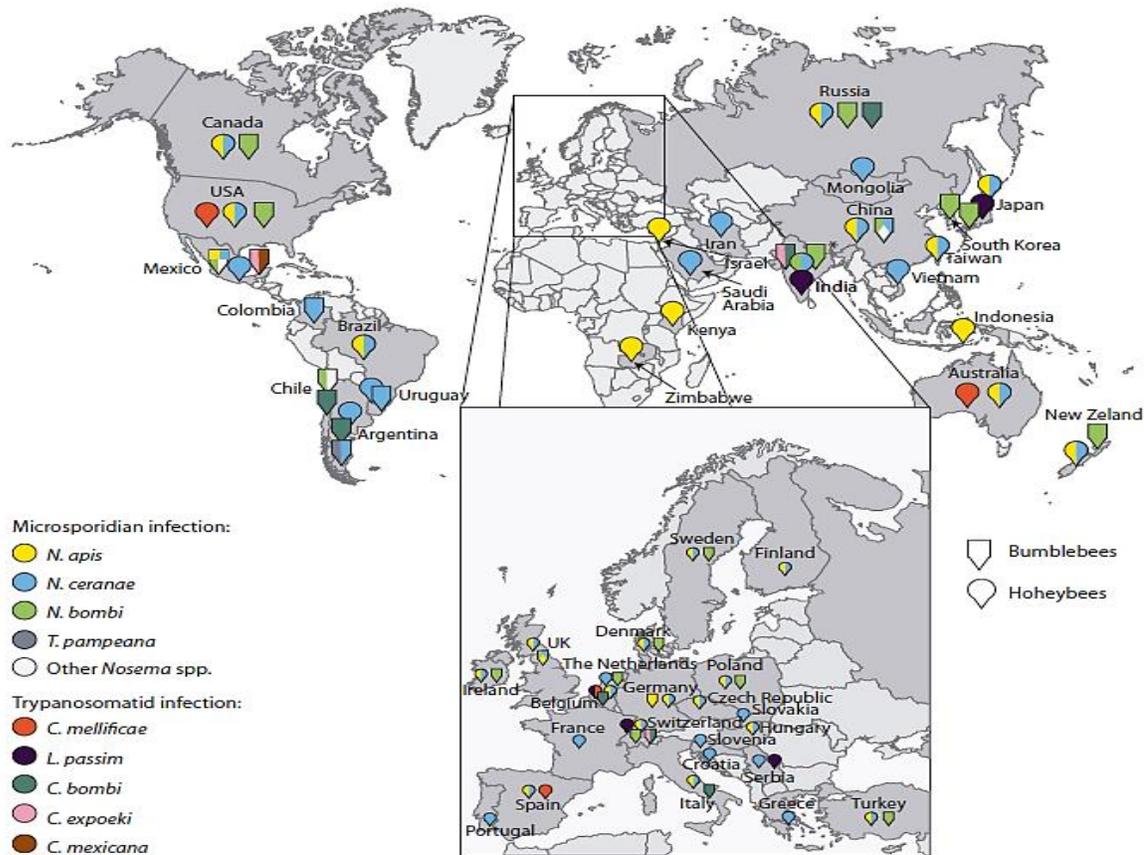


Figura 1.4. Distribución de *N. apis* y *N. ceranae* (Fuente: Vavilova *et al.*, 2017)

## 2.3 Diagnóstico de la nosemosis

Para el diagnóstico de la nosemosis en las abejas, la OIE (2019) ha propuesto métodos para su diagnóstico, las cuales están basados en: el examen microscópico del contenido del intestino medio o ventrículo de abejas adultas y por medios moleculares (PCR).

Para diagnosticar la infección causada por *Nosema* spp a través de un microscopio, se retira el segmento abdominal con unas pinzas para extraer todo el intestino medio (ventrículo) con los tubos de Malpighi y el intestino posterior (íleon y el recto). Normalmente, el ventrículo es marrón, pero después de infectarse con *Nosema*, se vuelve blanco y es muy frágil. Sin embargo, la razón de esto puede ser otras causas de problemas intestinales, por ejemplo, alimentarse de depósitos de alimentos no digeribles, como jarabes que contengan levaduras en crecimiento activo.

El método para cuantificar el crecimiento de esporas en el abdomen de las abejas es por conteo con ayuda de un hemocitómetro (Fries *et al.*, 2013) y así determinar si se trata de una infección muy ligera o severa en función del número de esporas registradas por abeja (Fries *et al.*, 2013; 1988).

Nivel de Infección	No. de esporas (millones) por abeja
Nula	Inferior a 0.01
Muy ligera	0.01 – 1.00
Ligera	1.00 – 5.00
Regular	5.00 – 10.00
semisevera	10.00 – 20.00
Severa	Superior a 20.00

Asimismo, para distinguir a la especie de *Nosema* spp. causante de la enfermedad, se realiza la técnica de PCR (Martín-Hernández *et al.*, 2007), utilizando cebadores específicos que no presentan interferencias entre ellos.

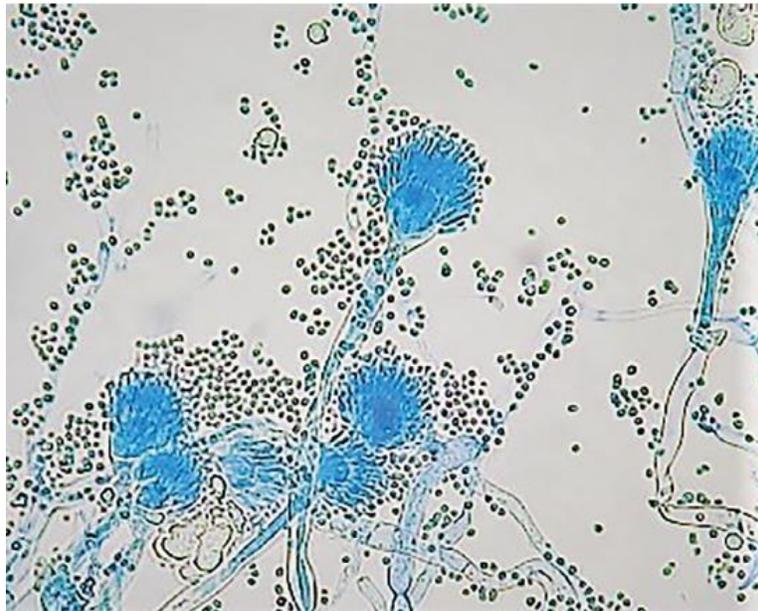
## 2.4 Prevención y tratamiento de la nosemosis

El control de la nosemosis está dirigido hacia la reducción del número de abejas enfermas en una colonia para así aumentar la producción y evitar la mortalidad de la misma. Esto se lleva a cabo mediante la prevención de la infección por estos parásitos (profilaxis), la administración de tratamientos para controlar la enfermedad (terapéutica) y evitando el contagio hacia las colonias sanas con alto riesgo de infección. Un estado sanitario adecuado de las colonias de abejas es crucial para la prevención de la nosemosis, ya que hoy en día la disponibilidad de tratamientos eficaces contra esta enfermedad es muy limitada.

Los tratamientos para contrarrestar la nosemosis en las colonias de abejas también incluyen las medidas de manejo y fumigación del equipo apícola, pues las esporas de *Nosema* spp. se pueden destruir calentando el equipo contaminado a una temperatura de 60 °C por 15 minutos, o los panales se pueden esterilizar calentándolos a 49 °C durante 24 h (Fenoy *et al.*, 2009; Malone *et al.*, 2001), así como también se recomienda la desinfección del equipo con ácido acético al 60% (Fries, 1993).

En la actualidad, para tratar y controlar la nosemosis se emplea la fumagilina (bicicloheximilamónio fumagilina), el cual es un antibiótico que se obtiene del hongo *Aspergillus*

*fumigatus* (Figura 1.5) y es conocido comercialmente como Fumidil--B<sup>®</sup>, Fumagilin-B<sup>®</sup>, Fumagilin DCH<sup>®</sup> en EUA, Canadá y Argentina (Higes *et al.*, 2011; McCallum *et al.*, 2020; Sarlo *et al.*, 2011)



**Figura 1.5.** *Aspergillus fumigatus* con azul de lactofenol (40 X) (Fuente: Béjar *et al.*, 2019)

Este antibiótico actúa únicamente sobre la forma vegetativa de *Nosema* spp., en el interior de las células del epitelio ventricular, favoreciendo la reepitelización de las zonas afectadas (Mladjan *et al.*, 2000). El tratamiento con fumagilina inhibe la replicación del ADN en las células del parásito, lo cual, a su vez, permite restablecer las tasas de síntesis de ARN en las células epiteliales del ventrículo de las abejas (Hartwig & Przełęczka, 1971). Asimismo, esta molécula es capaz de inhibir la incorporación de lípidos procedentes de las células hospedantes por parte de *Nosema* spp., alterando de este modo la formación de las membranas en las formas inmaduras de estos microsporidios (Liu & Liu, 1973) y limitando de este modo la proliferación del parásito en el ventrículo de las abejas.

Otra opción de tratamiento incluye el uso de sulfas, que son una serie de compuestos derivados de sulfamidas, pero su efectividad es menor al 60% en comparación con la fumagilina. Además, ambos productos tienen efectos secundarios en las abejas (por ej.: afectaciones durante el desarrollo, comportamiento errático y en la fertilidad) además de tener residualidad en la miel, lo que a su vez puede afectar a la salud humana causando neutropenia y trombocitopenia (Alvarado

*et al.*, 2009; Millership *et al.*, 2002), y es por eso que el uso de estos antibióticos se han prohibido para el tratamiento de la nosemosis. Adicionalmente, es importante mencionar que el agente causal de la nosemosis ha desarrollado resistencia a estos productos.

Sin embargo, la aplicación de las medidas preventivas, aún no son suficientes para contrarrestar en las colonias, la frecuencia de la infección con las esporas de este parásito, por lo que es de suma importancia encontrar productos alternativos que tengan un efecto inhibitor contra *Nosema* spp.

### **3. REVISIÓN DE LITERATURA CIENTÍFICA**

#### **3.1 Revisiones sistemáticas**

Una revisión sistemática es un diseño de investigación observacional y retrospectivo que sintetiza los resultados de múltiples estudios importantes. Además, sus declaraciones de evidencia son neutrales, es decir, son menos susceptibles al prejuicio o la subjetividad u opiniones de los propios revisores (Cooper *et al.*, 2019).

Este tipo de revisión intenta confrontar entre sí, toda la evidencia relevante que cumpla con los criterios predeterminados para responder preguntas de investigación específicas. Este tipo de investigación utiliza métodos claros y sistemáticos para minimizar el sesgo en la identificación, selección, síntesis y resumen de la investigación (Moher *et al.*, 2015). Si se realiza correctamente, este tipo de trabajo proporcionará hallazgos confiables de los que se pueden extraer conclusiones y tomar decisiones (Moreno *et al.*, 2018)

Las principales características de las revisiones sistemáticas son: a) objetivos establecidos con un método claro y reproducible; b) una búsqueda sistemática enfocada en encontrar todos los estudios que puedan cumplir con los criterios de selección; c) evaluación de la validez de los resultados de la evaluación (por ejemplo, evaluación de riesgo de sesgo e intervalos de confianza) d) la presentación y síntesis sistemática de características y hallazgos incluidos en el estudio (Moher *et al.*, 2015).

Las características anteriormente descritas de las revisiones sistemáticas muestran ventajas sobre las revisiones narrativas que tienen dos desventajas básicas. En primer lugar, no existen reglas sobre cómo obtener los datos originales y cómo integrar los resultados y, generalmente

es un criterio subjetivo de los revisores. En segundo lugar, los revisores narrativos no sintetizan cuantitativamente los datos en diferentes publicaciones, por lo que estas revisiones son imprecisas y contienen sesgos (Beltrán, 2005; Tabla 1).

**Tabla 1.** Diferencias entre revisiones narrativas y revisiones sistemáticas

<b>Características</b>	<b>Revisiones narrativas</b>	<b>Revisiones sistemáticas</b>
Focalizada	Tema	Pregunta
Estrategia de búsqueda	No especificado	Especificado
Criterios de selección	No especificado	Especificado y aplicado
Análisis de información	Variable	Riguroso y Critico
Síntesis	Cualitativa	Cualitativa o cuantitativa (MA)

### 3.2 Metaanálisis

El metaanálisis es el uso de técnicas estadísticas para fusionar y resumir los resultados de múltiples estudios que pueden o no estar incluidos en la revisión del sistema. Al combinar datos de varios estudios, el metaanálisis puede proporcionar estimaciones más precisas que los resultados de estudios separados (Moher *et al.*, 2015). El término fue propuesto en 1976 por Gene Glass en el campo de las ciencias de la educación y se ha expandido rápidamente a muchos campos, especialmente al campo médico pero que aún está relativamente infrautilizado en medicina veterinaria y ciencia animal (Lean *et al.*, 2009). El metaanálisis es también un estudio cuantitativo formalizado y diseñado para evaluar sistemáticamente investigaciones anteriores y sacar conclusiones sobre el tema de la investigación. Las variables de respuesta de un metaanálisis pueden incluir estimaciones más precisas de los efectos del tratamiento o los factores de riesgo que cualquier estudio individual que facilite el análisis combinado (Moreno *et al.*, 2018).

Los beneficios del metaanálisis incluyen una revisión unificada y cuantitativa de documentos grandes, complejos y, a menudo, aparentemente contradictorios, además de que tienen el potencial de utilizar la información existente para estudiar nuevas hipótesis, comenzando por el desarrollo de hipótesis a priori y evaluando la heterogeneidad de las respuestas de la investigación.

Los pasos para realizar un metaanálisis incluyen: a) definir claramente la pregunta de investigación ; b) especificar los criterios de inclusión y exclusión del estudio; c) desarrollar un plan de búsqueda de literatura; d) registrar los datos; y evaluar la calidad del estudio

seleccionado, e) Interpretar y presentar los resultados, f) evaluar la heterogeneidad, g) medir el efecto combinado con resultados, h) análisis de sensibilidad y análisis de subgrupos, e i) evaluación del sesgo (Moreno *et al.*, 2018).

Las medidas de impacto más comunes que se utilizan para los datos dicotómicos es el riesgo relativo (risk ratio en inglés) y la rareza o cociente de posibilidades (odds ratio en inglés). Aunque el método generalmente utilizado para analizar datos continuos son las diferencias de la media estandarizada (DME) o el estadístico d de Cohen. Los métodos de análisis usados después de los hallazgos es relativamente específico y típico de los metaanálisis, que incluye análisis de heterogeneidad, sensibilidad y evaluación del sesgo de publicación (Lean *et al.*, 2009).

El objetivo general del metaanálisis, implica la integración de informes existentes sobre temas específicos, lo que permite descubrir deficiencias como: el diseño experimental y la variabilidad existente de los resultados de diferentes estudios. Esta heterogeneidad es el problema, pero también es un desafío para determinar qué método es mejor para analizar los datos y qué métodos alternativos se utilizan para tratar de explicar la variabilidad (Moreno *et al.*, 2018).

Si el resultado muestra heterogeneidad, se puede cuantificar mediante la estadística  $I^2$  que es la proporción del cambio total en el efecto del tratamiento estimado debido a la heterogeneidad, más que al error de muestreo (Higgins y Thompson, 2002). Para saber que tanta heterogeneidad tiene un estudio se han establecido ciertos rangos para determinar si es pequeña ( $I^2 \leq 25\%$ ), moderada ( $25\% \leq I^2 < 75\%$ ) o bastante grande ( $I^2 \geq 75\%$ ) (Cooper *et al.*, 2019).

Para saber las causas de la heterogeneidad se incluyen dos métodos: el análisis de subgrupos y el análisis de sensibilidad. El análisis de subgrupos se refiere a la división de la investigación en múltiples subgrupos (que involucran variables categóricas de interés, como raza, género, ubicación geográfica, etc.) para poder compararlos. Sin embargo, a medida que se intensifica el desequilibrio de estos subgrupos, los resultados de los análisis de múltiples subgrupos pueden ser engañosos. La diferencia estadística entre los efectos de los subgrupos viene dada por la no superposición de sus intervalos de confianza. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que una pequeña superposición también puede indicar significación estadística.

El análisis de sensibilidad se basa en la repetición del análisis principal o el metaanálisis en sí mismo, reemplazando decisiones alternativas o rangos de valores con decisiones arbitrarias o ambiguas (Higgins & Green, 2011). Por ejemplo, se recomienda realizar análisis con o sin

estudios "anormales" para investigar si la elección del investigador tiene una influencia crítica en las conclusiones del metaanálisis (Lipsey & Wilson, 2000).

En resumen, el metaanálisis se ha convertido en una herramienta básica para "comprender el rápido desarrollo de la literatura científica" (Glass, 1976). Como resultado de la cooperación entre grupos a nivel internacional, su sistematización y mejora han extendido su aplicación a muchos aspectos de las ciencias sociales y naturales. Actualmente, el metaanálisis constituye uno de los soportes básicos de la medicina basada en la evidencia. Sin embargo, el prestigio ganado por este tipo de investigaciones en el campo médico y sus mayores oportunidades de publicación han estimulado la generación de metaanálisis redundantes, falsos o publicitarios generados por el análisis de información dispersa (Ioannidis, 2016).

### 3.3 Limitaciones del metaanálisis

Aunque el análisis combinado puede tener mayor poder de inferencia que cualquier estudio individual, el metaanálisis todavía tiene algunas deficiencias, una de ellas es la necesidad de recopilar todos los estudios publicados y no publicados relacionados con el metaanálisis para poder realizar inferencias válidas. Por ejemplo, la inclusión de estudios con proporciones no representativas o estudios que reportan únicamente resultados positivos. Un metaanálisis en esta situación concluirá que existe una preferencia por la significación o la efectividad (Duval y Tweedie, 2000). En la Tabla 2, se muestran los sesgos de informe que tienen efectos importantes y negativos en las conclusiones extraídas del metaanálisis.

Este problema particular es para los metaanálisis que solo contienen datos de la literatura publicada. En general, se cree que no existe una posibilidad uniforme para que todas las investigaciones se publiquen en revistas científicas, porque es más probable que se publiquen artículos con resultados positivos. Este fenómeno se denomina sesgo de publicación (Duval y Tweedie, 2000).

**Tabla 2.** Principales tipos de sesgo y sus definiciones

<b>Tipo de Sesgo</b>	<b>Definición</b>
De publicación	La publicación de los resultados de la investigación depende de la naturaleza y dirección de los resultados.
Por tiempo de retraso	La publicación oportuna o retrasada de los resultados de la investigación de acuerdo con la naturaleza y dirección de los resultados.

Por publicación múltiple	La publicación múltiple o única de los hallazgos de una investigación dependiendo de la naturaleza y dirección de los resultados
De localización	La publicación de los hallazgos de una investigación en revistas con diferente facilidad de acceso o nivel de indización en bases de datos estándares dependiendo de la naturaleza y dirección de los resultados
Por citación	La citación o no de los hallazgos de una investigación dependiendo de la naturaleza y dirección de los resultados
Por idioma	La publicación de los hallazgos de una investigación en un idioma en particular, dependiendo de la naturaleza y dirección de los resultados
Por reporte de resultado final	El reporte selectivo de algunos hallazgos y de otros no dependiendo de la naturaleza y dirección de los resultados

La forma más fácil e intuitiva de analizar cualitativamente el sesgo de la publicación es por medio del gráfico de embudo (del inglés *funnel plot*). Este gráfico compara el tamaño del efecto y la precisión de cada estudio incluido. Por lo tanto, en ausencia de sesgo, la distribución simétrica del estudio debe observarse en relación con la estimación general. Aunque la asimetría en una u otra dirección indicará que dichos estudios son menos representativos en la población evaluada, y existen las correspondientes desviaciones.

Además, se han desarrollado varias pruebas estadísticas para evaluar la presencia de este tipo de sesgo en el metaanálisis. Este es el caso de la prueba de Egger (Egger *et al.*, 1997) y la prueba de Begg (Begg y Mazumdar, 1994). La potencia de estas pruebas es baja, por lo que el límite de confianza suele ser alto ( $P < 0,1$ ); la significación estadística indica sesgo (Lean *et al.*, 2009). Otras recomendaciones de prueba determinan el impacto de las publicaciones relacionadas que están excluidas y corrigen el estimador global en función de este impacto. Este es el caso del método "cut and fill" de Duval y Tweedie (2000), que calcula múltiples estimadores para obtener un gráfico de embudo simétrico, ajustando así el estimador global. Sin embargo, una desventaja de este método es que se asume estrictamente que el efecto está distribuido simétricamente en el gráfico de embudo, porque no hay garantía de que el efecto ajustado coincidirá con el efecto que debería observarse sin sesgo de publicación (Higgins & Green, 2011). Otra opción es constar de una herramienta (la herramienta de la Colaboración Cochrane) para evaluar los sesgos propuestos por Higgins y Green (2011). Se basa en el análisis y clasificación de los individuos estudiados en el metaanálisis y tiene en cuenta el riesgo de sesgo: alto, no especificado, ambiguo y bajo. Aunque el proceso de implementación es laborioso, el

programa puede analizar rápidamente la composición y la calidad de los estudios seleccionados y explicar con rigor la certeza de las conclusiones.

Por otro lado, existe un método "preventivo" que sugiere que se deben considerar todos los estudios que cumplen con los criterios de selección predeterminados, pero no están restringidos debido a la importancia de sus resultados, idioma, fuente, método de recuperación o estado de publicación para reducir el sesgo (Higgins & Green, 2011; Lean *et al.*, 2009). McAuley *et al.* (2000) llevaron a cabo un metaanálisis para comparar los efectos de excluir o incluir literatura gris (en referencia a artículos, libros, memorias y resúmenes de eventos, información no publicada o no revisada por pares, etc.) sobre las estimaciones de metaanálisis publicados e inesperadamente, encontraron que excluir la literatura gris del metaanálisis conduciría a una estimación exagerada del efecto, y sugirieron que el metaanálisis debería intentar identificar e incluir todos los informes grises y publicados que cumplan con los criterios de inclusión predeterminados. Sin embargo, en la práctica, a menudo es difícil y problemático evaluar la calidad de la literatura gris.

Además, también puede ocurrir un sesgo de selección. Este puede ocurrir en dos puntos durante el período de revisión: 1) en establecer dónde obtener literatura relevante; 2) en decidir qué estudios deben incluirse en la revisión una vez completados. Sin embargo, hay dos herramientas para reducir el sesgo de selección. La primera implica búsquedas exhaustivas para encontrar tantos documentos relevantes como sea posible, y el segundo tener un objetivo y los criterios de elegibilidad claros. También se debe considerar la posibilidad de extraer información repetidamente (por ejemplo, revisores independientes) para reducir los sesgos causados por errores en la identificación de la investigación y la recopilación de información.

Existe un fenómeno llamado adquisición predatoria (*predatory access*), que tiene un impacto negativo en la comunicación científica global, especialmente entre investigadores de países subdesarrollados (Clark, 2015). Por lo general, el problema es que las revistas ficticias (*fake journals*) se involucran en prácticas de publicación poco éticas o servicios de edición para obtener ganancias, con el propósito de publicar los resultados de la investigación de manera gratuita y "abierta". Pisanski *et al.* (2017), señalan cómo identificar este tipo de revistas con mayor frecuencia que las revistas conocidas y evitar publicar artículos de calidad cuestionable (Clark, 2015).

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Qué alternativas de farmacopea y nutrición resultan efectivas para el control de la nosemosis en *Apis mellifera* según la información científica publicada y disponible?

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar mediante un metaanálisis la factibilidad de tratamientos contra la nosemosis en *A. mellifera* usando literatura científica de farmacopea y nutrición.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Identificar mediante una revisión bibliográfica tratamientos aplicables contra la nosemosis en *A. mellifera* almacenados en bases de datos.
2. Diferenciar mediante un metaanálisis los tratamientos más eficaces contra la nosemosis en *A. mellifera*.
3. Proporcionar orientación para optimizar el impacto de los tratamientos eficaces en la apicultura.

## **ESTRATEGIA EXPERIMENTAL**

La estrategia experimental de este trabajo (Figura 1.5) fue formular preguntas específicas de investigación como: población de estudio, intervenciones a evaluar, intervenciones y resultados con los que comparar con la ayuda de método PICO (de las palabras en inglés: population, intervention, comparison, outcome).

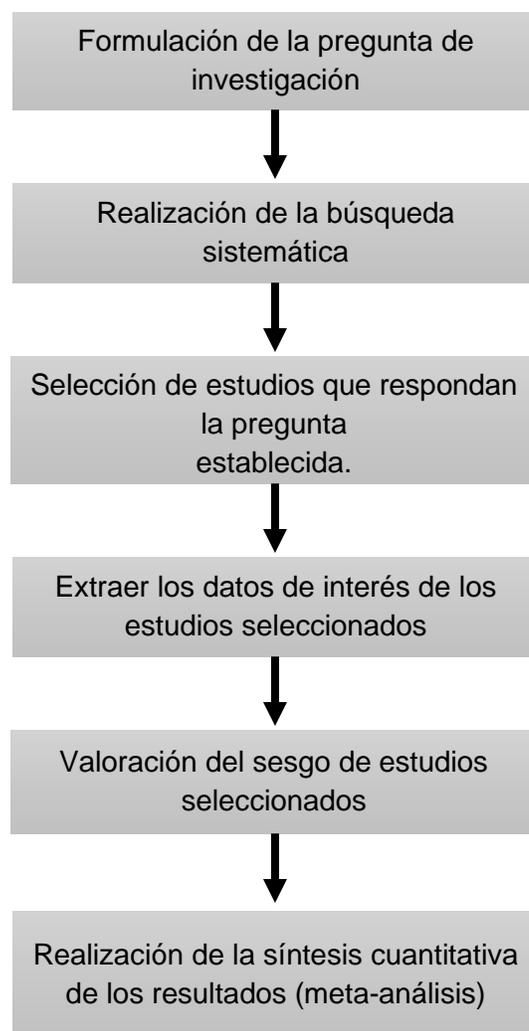
Se realizó una revisión sistemática de todos los artículos publicados sobre tratamientos activos antinosema en las diferentes bases de datos (Science Direct, PubMed, Google Scholar, Web of Science, Scielo y Scopus) durante el periodo de 1990 a 2020.

Posteriormente, se definieron los criterios de inclusión quedando los siguientes: solo estudios de alta calidad, tamaño de muestra, características de la técnica.

Después de seleccionar los estudios que cumplieron con los criterios de inclusión, se evaluó la calidad metodológica y el grado de evidencia científica para cada estudio seleccionado.

Se realizó la valoración del sesgo de estudios seleccionados para evaluar la metodología de la evidencia científica. Luego de ello se asignó un valor que determinó el alto o bajo nivel de sesgo.

Posteriormente, se realizó la síntesis cuantitativa de resultados que incluye el proceso de análisis estadístico por medio del programa RevMan (Review Manager 5.3) con el que se comparó los resultados de los diferentes tratamientos contra la nosemosis y observar cuales son los más óptimos y efectivos para la apicultura.



**Figura 1.6.** Esquema de la estrategia experimental

## CAPÍTULO II

### MATERIALES, MÉTODOS Y RESULTADOS

#### INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el crecimiento de la información científica imposibilita la comprensión clara de un tema de interés y dado que la evidencia científica no es el resultado de un solo trabajo de investigación, sino de la integración y reproducción de diferentes resultados de investigación, es necesario una revisión crítica e integral. El metaanálisis es una investigación cuyo objetivo es recopilar toda la información disponible, agruparla por temas específicos y evaluarla con herramientas de calidad metodológica. El objetivo principal es estimar el tamaño del efecto resumen después de combinar los resultados individuales de cada estudio seleccionado bajo un análisis estadístico suficientemente efectivo.

Sin embargo, aunque el MA se considera de alto nivel en modelos epidemiológicos, es importante recordar que tienen algunas limitaciones inherentes a los modelos observacionales, incluida su naturaleza retrospectiva y agregada, y la pérdida de aleatorización.

Salvo en las investigaciones clínicas, su objetivo es obtener resultados claros y fiables, que puedan utilizarse para el manejo del paciente y puedan servir de base para las guías de la práctica clínica. El propósito del próximo capítulo es presentar y describir los pasos básicos y fundamentales del MA tradicional en la realización de una investigación, utilizar esta información como recurso para futuras revisiones sobre tratamientos contra la nosemosis que se están utilizando y aplicarlos junto con otros métodos avanzados de MA, como metaanálisis indirecto o metaanálisis en red.

## 2.1 MATERIALES Y MÉTODOS

El metaanálisis se realizó de acuerdo con el método establecido en la guía de referencia, que se utiliza para publicar el esquema de revisiones sistemáticas y metaanálisis (Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-analysis, PRISMA; *en inglés*) (Moher *et al.*, 2015)

La pregunta de investigación que se quiso responder fue: ¿Qué alternativas de farmacopea y nutrición son efectivas para el control de la nosemosis en las abejas melíferas?

Para responder la pregunta se planteó que los tratamientos reportados en literatura existente son eficaces para la disminución de los niveles de infección de la nosemosis en las abejas adultas de *A. mellifera*. Para ello, se utilizó un metaanálisis para determinar la efectividad de los tratamientos reportados contra la nosemosis en *A. mellifera*.

### 2.1.1 Estrategia de búsqueda y criterios de selección

Para encontrar la información se examinaron las bases de datos PubMed, Google Scholar, Web of Science, Scopus, SciELO y Science Direct para recopilar los artículos científicos relevantes que evalúan el efecto de los tratamientos o productos naturales empleados contra la nosemosis. Para ello, se incluyeron los artículos publicados entre 1990 a 2020. Las palabras clave utilizadas incluyeron: “intervención”, “tratamiento”, “programa”, “terapia”, “medicación”, “administración”, “abeja”, “nosema”, “nosemosis”, “microsporidios”, “Nosema”, “Nosema ceranae”, “Nosema apis”, “Honey bee”, “Apis mellifera”, “Control”, “Effect”, “Impact”, “Influence” y “Toxicity” que se combinaron utilizando operadores booleanos AND y OR. La inclusión preliminar se basó en el análisis de títulos y resúmenes.

Luego se definieron los criterios de inclusión quedando los siguientes: solo estudios de alta calidad, tamaño de muestra, características de la técnica.

Entre los criterios de exclusión se establecieron los siguientes:

- 1) Métodos de control en otras especies de Nosema o de insectos.
- 2) Resúmenes de congreso.
- 3) Carteles.
- 4) Comunicaciones cortas.

- 5) Libros o capítulos de libros.
- 6) Tratamientos tóxicos (fumagilina) y niveles de infección.

Las variables de respuestas seleccionadas fueron las determinadas medidas de manejo contra la nosemosis, evaluación de la efectividad contra el parásito y explicar la dispersión de cada tratamiento. En este documento, los términos “artículos científicos”, “investigación” y “estudio” se utilizan indistintamente y como sinónimos para referirse a la propia publicación; mientras que los términos “experimento” y “bioensayo” se reserva para los diferentes tratamientos (farmacopea, nutrición o comparación entre diferentes dosis) ya sea a nivel laboratorio o de campo que estén previstos en la publicación.

### **2.1.2 Selección de estudios**

Se consideraron estudios válidos a aquellos artículos científicos publicados en revistas arbitradas entre los años 1990 a 2020 que estudiaron los efectos de los tratamientos contra la nosemosis como: toxicidad, supervivencia y efectividad reportados con la media y alguna medida de dispersión de los parámetros analizados. La identificación de los estudios, así como la recopilación de la información de interés relativa a las variables respuesta (media y medidas de dispersión) y al diseño experimental (duración, especie de abeja, cantidad de individuos, dosis, etc.) se realizó en el programa RevMan (Review Manager 5.3). Así, los datos obtenidos de cada publicación corresponden al ensayo completo y sólo se tuvieron en cuenta las mediciones a punto final y no las reportadas a intervalos. Los artículos que evaluaron más de un tratamiento, combinación o diferentes dosis fueron analizados por separado (cada tratamiento comparado con el control) y se fueron clasificando de acuerdo con el tipo de tratamiento usado en el estudio, por ejemplo: estudios moleculares, fitoterapéuticos, nutrición y apiterapia.

Los autores de artículos que cumplieron con los criterios de inclusión, pero carecían de medidas de dispersión como desviación estándar y error estándar de la media fueron descartados.

### 2.1.3 Riesgo de sesgo entre estudios individuales

Una vez completada la búsqueda, se compararon los resultados. Posteriormente, se utilizó la herramienta de colaboración Cochrane para evaluar el riesgo de sesgo en estudios individuales (J. Higgins & Green, 2011). Los tipos de riesgos examinados fueron:

- 1) Sesgo de diseño experimental. Correspondiente a experimentos que no informaron claramente la aleatoriedad.
- 2) Sesgo de publicación múltiple. Correspondiente al número de experimentos por artículo y cada artículo incluido.
- 3) Sesgo por informe selectivo. Corresponde a artículos que reportan información incompleta sobre el diseño experimental y/o variables de respuesta.
- 4) Sesgo de publicación. Corresponden a reportes que usan productos naturales, medicamentos o compuestos para tratar la nosemosis con buenos resultados.

La incidencia de cada tipo de sesgo se calificó como alta, ambigua o baja (J. Higgins & Green, 2011).

### 2.1.4 Análisis estadístico

Se utilizó el programa RevMan (Review Manager 5.3) para realizar los análisis estadísticos y cuantificar el efecto del tratamiento en media estandarizada (DME) (del inglés Standardized Mean Differences, SMD). Además, se utilizó un modelo de efectos aleatorios para calcular un intervalo de confianza del 95% (IC 95%).

Las pruebas de DerSimonian y Laird (estadísticos Q) se utilizaron para evaluar la heterogeneidad entre los estudios. El grado de heterogeneidad se cuantifica mediante el índice de inconsistencia (estadística  $I^2$ ) (Higgins y Thompson, 2002). También se realizó un análisis de sensibilidad para evaluar la solidez de los resultados del metaanálisis (Lean *et al.*, 2009)

El beneficio de un grupo tratamiento frente a otro se analizó mediante la media, desviación estándar y números de individuos de los grupos experimentales y de los grupos control de los resultados de cada estudio, que fueron calculados y combinados mediante metaanálisis para producir un valor global.

Para evaluar la efectividad de los tratamientos sobre el nivel de infección de las abejas se correlacionó el efecto entre los grupos tratados con tratamientos (grupo experimental) con los grupos sin tratamiento (grupo control). Por lo tanto, el valor positivo en la relación de respuesta indica que el tratamiento tiene efecto significativo sobre el control de la mortalidad de las abejas y el control de nivel de infección de la nosemosis. Para calcular la influencia de cada variable se obtuvo el valor promedio, la desviación estándar y el tamaño de la muestra del grupo control y del grupo experimental. Los valores de error estándar se transformaron en desviación estándar de acuerdo con la ecuación:

$$SD = SE\sqrt{n}$$

donde  $SD$  corresponde a la desviación estándar,  $SE$  es el error estándar y  $n$  es el tamaño de la muestra.

Para los análisis de datos, la variable analizada fue la inhibición de la nosemosis. El tamaño del efecto se calculó mediante la ecuación de Hedges:

$$d = \left[ \frac{XO - XY}{s} \right] J$$

Donde  $XO$  es la respuesta media al grupo de control,  $XY$  es la respuesta media al grupo experimental,  $s$  es la SD combinada y  $J$  es el factor de corrección del sesgo. Los intervalos de confianza se generaron a un nivel de confianza del 95% para todos los tamaños de efectos y la importancia fue evaluada por  $X^2$ .

## 2.2 RESULTADOS

### 2.2.1 Análisis de los estudios a incluir

Con la búsqueda de artículos colectados se intenta responder a la pregunta de investigación:

¿Qué alternativas de farmacopea y nutrición son efectivas para el control de la nosemosis en *Apis mellifera*?

Misma que nos llevó a la recopilación de datos para este trabajo de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión preestablecidos. Se obtuvo un total de 24,800 resultados de diversos tipos de tratamientos contra la nosemosis. Se fueron eliminando los artículos duplicados de dicha búsqueda. Posteriormente, se realizó un filtrado con base al título y resumen y se seleccionaron

109 artículos de los cuales se eligieron 58 estudios para su evaluación a texto completo para su elegibilidad en la realización del MA (Tabla 3) y se clasificaron de acuerdo con el tipo de tratamiento usado en el estudio, por ejemplo: estudios moleculares, fitoterapéuticos, nutrición y apiterapia. De los cuales, 9 son estudios moleculares, 20 son fitoterapéuticos, 10 se basaron en suplementos, 4 implementaron productos de abejas (apiterapia), 1 con uso de producto acaricida, 1 de entomoterapia, 4 usaron metabolitos bacterianos, 4 tienen alguna combinación de tratamientos, 1 de radiación gamma y 3 usan tratamientos acidificados.

Los artículos científicos incluidos evaluaron el efecto de los tratamientos sobre la supervivencia en subespecies de *A. mellifera* como: *A. mellifera mellifera*, *A. mellifera ligústica*, *A. mellifera cárnica*, las cuales fueron las más predominantes, sin embargo, se encontraron artículos en otras especies del género *Apis* como: *A. cerana* y *A. florea* y en abejas del género *Bombus spp.*

La nosemosis más frecuente en los estudios recopilados (entre 1990 y 2020) es la especie *Nosema ceranae* con 51 estudios, la especie de *N. apis* con 5 estudios recopilados y 4 estudios no mencionaron la especie de *Nosema* estudiada. Para la diferenciación de las especies de esporas de *Nosema spp.* los estudios realizaron colectas y aislamientos de intestinos medios de las abejas siguiendo el procedimiento descrito por Gisder *et al.* (2011). Una vez aisladas las esporas del intestino medio de las abejas, se procede a la identificación de especies mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo a los reportes de Genersch *et al.* (2010), Gisder *et al.* (2010) y Kim *et al.* (2016).

**Tabla 3.** Estudios seleccionados para el metaanálisis

Autor	País	Tratamiento	Componente <sup>1</sup>
Abou-Shaara, 2018	Egipto	Fitoterapia	Miel + jugo de limón Extracto de manzanilla (flores) + jarabe de azúcar Sutrivet + jarabe de azúcar
Agripina <i>et al.</i> , 2017	Rumania	Fitoterapia	<i>Artemisia absinthium</i> <i>Juglans regia</i> (Fruto) <i>Juglans regia</i> (Hoja) <i>Melissa officinalis</i> <i>Ocimum basilicum</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Rosa caninum</i> <i>Rosmarinum officinale</i> <i>Thymus serpyllum</i> Propóleo (NE)

Arismendi <i>et al.</i> , 2018	Chile	Fitoterapia y apiterapia	<i>Aristotelia chilensis</i> <i>Ugni molinae</i> <i>Gevuina avellana</i> Propóleos (NE)
Arredondo <i>et al.</i> , 2017	Uruguay	Probiótico	<i>Lactobacillus kunkeii</i>
Baffoni <i>et al.</i> , 2016	Italia	Bifidobacteria y Lactobacilo	<i>Bifidobacterium asteroides</i> <i>Bifidobacterium coryneforme</i> <i>Bifidobacterium indicum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i>
Balamurugan <i>et al.</i> , 2020	Corea del sur	Fitoterapia	<i>Artemisia dubia</i> <i>Aster scaber</i> <i>A. dubia</i> + <i>A. scaber</i>
Borges <i>et al.</i> , 2020	Canadá	Nutraceuticos y quimiotipos	Aceite de orégano Timol Carvatrol Trans-cinnmaldehído tetrahidrocurcumina Sulforafano Naringenina Embelina Sulfuro de alilo Hidroxitirosol Quitosano Poli I:C
Buczek <i>et al.</i> , 2020	Polonia	Porfirinas	pp [Lys-Asp] 2 pp [Lys-tfA] 2 pp [Asp (ona) 2] 2 pp [Lys-Lys] 2
Bravo <i>et al.</i> , 2017	Chile	Fitoterapia	<i>Cryptocarya alba</i> Eucaliptol ( <i>Cryptocarya alba</i> ) $\alpha$ -terpineol ( <i>Cryptocarya alba</i> ) $\beta$ -felandreno ( <i>Cryptocarya alba</i> )
Charistos <i>et al.</i> , 2015	Grecia	Suplemento alimenticio comercial	HiveAlive™
Chen <i>et al.</i> , 2019	China	Fitoterapia	<i>Andrographis paniculata</i> <i>Cyrtomium fortune</i> <i>Polygonum cuspidatum</i> <i>Melia toosendan</i> <i>Cinnamomum cassia</i> <i>Eucalyptus citriodora</i> <i>Galangal</i>
Cilia <i>et al.</i> , 2020	Italia	Suplemento dietético	ApiHerb® Api-Bioxal®
Costa <i>et al.</i> , 2010	Italia	Compuestos naturales	Timol Resveratrol
Damiani <i>et al.</i> , 2014	Argentina	Fitoterapia	<i>Laurus nobilis</i>
El Khoury <i>et al.</i> , 2018	Canadá	Probióticos	<i>Parasaccharibacter apium</i> <i>Bacillus</i> sp. Bactocell®

			Levucell SB®
Fleming <i>et al.</i> , 2015	EE.UU.	Apiterapia	NE
Forsgren & Fries, 2005	Suecia	Comida acidificada	Ácido acético Ácido benzoico
Gajger <i>et al.</i> , 2009 a	Croacia	Producto fitoterapéutico	Nozevit®
Gajger <i>et al.</i> , 2009 b	Croacia	Producto fitoterapéutico	Nozevit®
Gajger <i>et al.</i> , 2011	Croacia	Producto fitoterapéutico	Nozevit®
Gajger <i>et al.</i> , 2013	Croacia	Producto fitoterapéutico	BeeCleanse
Gajger <i>et al.</i> , 2015	Croacia	Suplemento mineral natural	Eko ZeoPet (Clinoptilolita de zeolita)
Gajger <i>et al.</i> , 2018	Croacia	Pentadecapéptido gástrico estable	BPC 157
Gajger <i>et al.</i> , 2020	Croacia	Probiótico	EM®
Garrido <i>et al.</i> , 2016	Argentina	Acaricida	Coumafos y Tau-fluvalinato
Huang <i>et al.</i> , 2016	EE.UU.	Silenciamiento de genes	siRNADicer
Huang <i>et al.</i> , 2018	China	Silenciamiento de genes	siRNADicer
Huang <i>et al.</i> , 2020	China	Silenciamiento de genes postranscripcional	ARNi
Kim <i>et al.</i> , 2016	Corea del sur	Fitoterapia	<i>Aster scaber</i> <i>Artemisia dubia</i>
Kim <i>et al.</i> , 2020	Corea del sur	Silenciamiento de genes postranscripcional	ARNi
Kunat <i>et al.</i> , 2020	Polonia	Entomoterapia	<i>Lasius fuliginosus</i>
Lee <i>et al.</i> , 2018	Corea del sur	Fitoterapia	<i>Artemisia dubia</i> <i>Aster scaber</i> <i>A. dubia</i> + <i>A. scaber</i>
Li <i>et al.</i> , 2016	EE.UU.	siRNA	dsRNA-nkd
Maggi <i>et al.</i> , 2013	Argentina	Metabolitos bacterianos	Ácido fenil-láctico Ácido acético ( <i>Lactobacillus johnsonii</i> CRL1647)
Maistrello <i>et al.</i> , 2008	Italia	Compuestos naturales	Timol Aceite esencial de veticer Lisozima Resveratrol
Mederle <i>et al.</i> , 2017	Rumania	Suplemento dietético	NE
Michalczyk & Sokól, 2018	Polonia	Producto fitoterapéutico	ApiHerb® Nozevit®

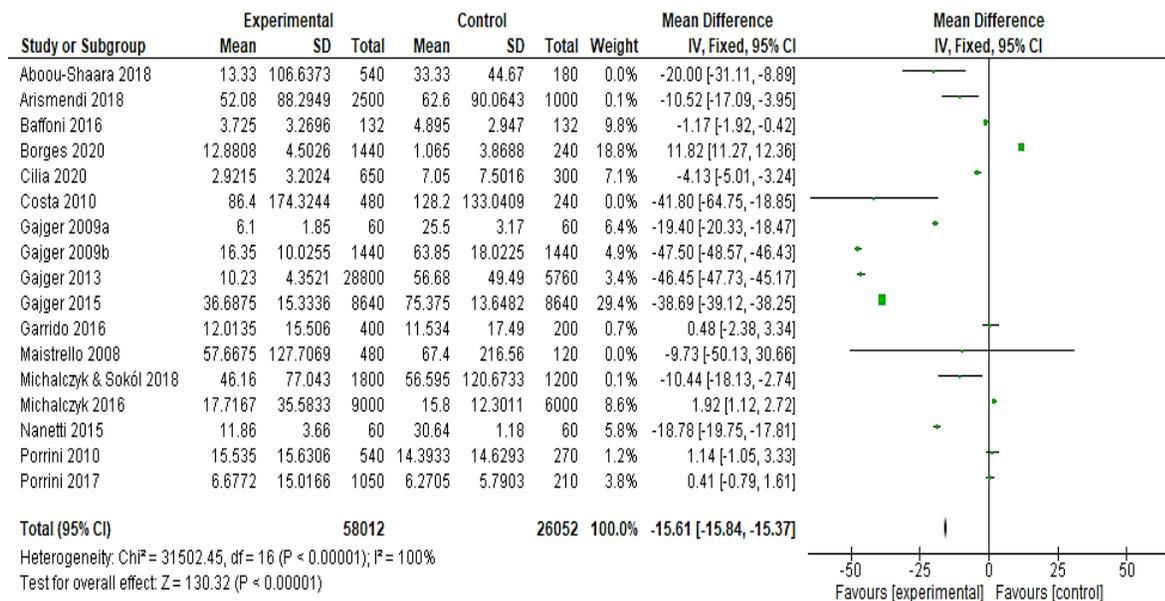
Michalczyk <i>et al.</i> , 2016	Polonia	Producto fitoterapéutico	ApiHerb® Nozevit® Apix
Mura <i>et al.</i> , 2020	Italia	Apiterapia	Propóleo ( <i>Chamaerops humilis</i> )
Nanetti <i>et al.</i> , 2015	España	Ácido orgánico	Ácido oxálico
Peghaire <i>et al.</i> , 2020	Francia	Probióticos	<i>Pediococcus acidilactici</i>
Pohorecka, 2004	Polonia	Fitoterapia	Artemisia absinthium
Porrini <i>et al.</i> , 2010	Argentina	Metabolitos bacterianos	<u>Bacterioriocinas</u> ( <i>Enterococcus avium</i> y <i>E. faecium</i> ) <u>Surfactinas</u> ( <i>Bacillus subtilis</i> )
Porrini <i>et al.</i> , 2011a	Argentina	Fitoterapia	<i>Artemisia absinthium</i> <i>Allium sativum</i> <i>Laurus nobilis</i> <i>Ilex paraguariensis</i>
Porrini <i>et al.</i> 2017	Argentina	Fitoterapia	<i>Laurus nobilis</i> <i>Origanum vulgare</i> <i>Rosmarinus officinalis</i> <i>Cinnamomun zeylanicum</i> <i>Eucalytus aff.globulus</i>
Ptaszynska <i>et al.</i> 2016	Polonia	Probiótico y prebiótico	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> Inulina
Ptaszynska <i>et al.</i> 2018	Polonia	Porfirinas	[PP(Asp)2] TMePyP
Rodríguez-García <i>et al.</i> , 2018	EE.UU.	Interferencia de ARN (ARNi)	dsRNA
Roussel <i>et al.</i> 2015	Francia	Polisacáridos sulfatados	<i>Porphyridium purpureum</i> <i>Porphyridium marinum</i> <i>Rhodella violácea</i> <i>Rhodella maculata</i> <i>Arthrospira platensis</i>
Simone-Finstrom <i>et al.</i> , 2018	EE.UU.	Radiación	Irradiación gamma
Schwarz & Evans, 2013	EE.UU.	Gen inmunitario	Dscam nimrod C1 nimC1
Snow, 2020	EE.UU.	Aminoácidos	ARNt ( <i>Drosophila melanogaster</i> ) ARNt ( <i>Caenorhabditis elegans</i> )
Suwannapong <i>et al.</i> , 2018	Tailandia	Apiterapia	Propóleo ( <i>Trigona apicalis</i> )
Thrasyvoulou <i>et al.</i> , 2007	Grecia	Suplemento	VitaFeed Gold
Tsagkarakis <i>et al.</i> , 2015	Grecia	Acidificante natural de agua	Provigoro®
Watkins de Jong <i>et al.</i> , 2019	EE.UU.	Apiterapia y suplemento proteico	Polen BeePro® Polen + BeePro®
Yemor <i>et al.</i> 2016	Tailandia	Apiterapia	Propóleo ( <i>Trigona apicalis</i> )
Yücel & Do-aruolu, 2005	Israel	Compuestos naturales	Timol

1: Dosis variables en los diferentes estudios y dentro de ellos

NE: No Especifica  
Dscam: Molécula de adhesión celular del síndrome de Down

## 2.2.2 Análisis estadísticos

De todos los estudios de tratamientos para el control alternativo de la nosemosis solo 17 se utilizaron para la realización del metaanálisis de los cuales solo 12 mostraron un efecto positivo para el control de la nosemosis (Fig. 3.1). La razón de que algunos estudios se excluyeran para el metaanálisis fue por que presentaban resultados muy generales, los datos no eran específicos sobre el procedimiento, no mencionaban la intervención usada, la especie de abeja no era *Apis mellifera*, no se pudo acceder al material suplementario o no presentaban estadígrafos de dispersión para incluirlos.



**Figura 3.1.** Diagrama Forest-plot de los estudios sobre tratamientos alternativos para la nosemosis en artículos generados entre 1990 y 2020.

A continuación se describirán brevemente aquellos estudios que tuvieron resultados favorables para el método experimental.

Abou-shaara (2018) el propósito de este estudio es probar la eficacia de tres métodos de tratamiento: miel diluida mezclada con jugo de limón (M1), extracto de manzanilla mezclada con

jarabe (M2) y sutrivet® mezclado con jarabe (M3) en condiciones de el campo y laboratorio para nosema. Como resultado, en condiciones de campo, M2 redujo las infecciones en un 36,66%, mientras que M3 redujo en un 23,33% y, finalmente, M1 redujo en un 13,33%. En laboratorio, la mayor eficacia corresponde a M2, seguida de M1 y finalmente M3. Estos resultados indican el papel potencial de la manzanilla como material natural para controlar la nosemosis.

Arismendi (2018) por su parte evalúa extractos metanólicos de plantas nativas en diferentes concentraciones (2, 4, 8 y 16%) de las especies *Ugni molinae*, *Aristotelia chilensis* y *Gevuina avellana* y propóleos chilenos (regiones de Biobio (BB) y Los Ríos (LR)) contra *N. ceranae*. Los resultados obtenidos de los extractos de *A. chilensis* (8%), *U. molinae* (2 y 8%) y propóleos BB (8%) muestran que disminuyen la carga de *N. ceranae* y mejoraron la sobrevivencia de las abejas. Por otra parte, cuando las abejas fueron tratadas primero con los extractos y luego infectadas, todos los extractos disminuyeron la carga del parasito, pero solo los extractos de *U. molinae* (2 y 8%) y propóleo LR (8%) mantuvieron una alta sobrevivencia de abejas infectadas con *N. ceranae*. Estas especies evaluadas tienen registro de actividad antimicrobiana contra patógenos en humanos (Romanucci et al., 2016; Rubilar et al., 2010; Shene et al., 2009, 2012) por ejemplo, la especie *Ugni molinae* contiene heteropolisacáridos entre ellos las sustancias pécticas (Chakraborty et al., 2019) y la fibra dietética, la cual está compuesta principalmente de lignina, celulosa, pectina y hemicelulosa. Además, contiene ácidos grasos poliinsaturados (89,0%), ácidos grasos monoinsaturados (7,7%) y ácidos grasos saturados (3,3%) además de ser una importante fuente de vitaminas y minerales.

El fruto de *Aristotelia chilensis* sirve para curar diarreas crónicas y disentería, sus hojas frescas en infusión se utilizan para las enfermedades de la garganta, tumores intestinales y fiebre. Las hojas secas y en polvo son usadas para curar heridas y cicatrices (Leal Mora, 2006).

*Gevuina avellana* tiene una amplia gama de usos, entre los que destacan el aprovechamiento de la madera y varios usos no madereros, entre ellos medicinal, ornamental, semilla comestible, aceite y melífera (Valdebenito et al., 2017) su corteza es usada para estimular la coagulación, sanar heridas internas y desparasitar esto por su alto contenido de taninos y el pH de la corteza (Muñoz, 1981; Citarella, 1995)

Baffoni et al., (2016) evaluó los simbiosis microbianos del sistema digestivo de las abejas (bifidobacterias y los lactobacilos) que protegen a sus huéspedes mediante metabolitos antimicrobianos, inmunomodulación y competencia. En este estudio compararon cuatro

tratamientos: abejas alimentadas con jarabe de azúcar (CTR); abejas alimentadas con jarabe de azúcar con bifidobacterias y lactobacilos (PRO); abejas infectadas con esporas de *N. ceranae* y alimentadas con jarabe de azúcar (NOS); abejas infectadas con *N. ceranae* y alimentadas con jarabe de azúcar con bifidobacterias y lactobacilos (NP). La infección por *N. ceranae* se llevó a cabo individualmente en abejas anestesiadas. Como resultado se averiguó que en el grupo NP como en el PRO disminuyeron el nivel de *N. ceranae*, lo que demuestra un efecto positivo de los microorganismos suplementados en el control de la infección de *N. ceranae* en las abejas.

Cilia (2020) y Gajger (2009a; 2009b; 2013) evaluaron productos probióticos, Cilia *et al.* (2020) evaluaron los productos ApiHerbfi® y Api-Bioxalfi® contra *N. ceranae*. Para ello, se seleccionaron colonias infectadas con *N. ceranae*, las cuales se dividieron en tres grupos: colonias tratadas con ApiHerbfi® (AH), colonias tratadas con Api-Bioxalfi® (AB) y un control sin tratar. Ambos tratamientos redujeron la abundancia de *N. ceranae*, pero AH también disminuyó la prevalencia de *N. ceranae* de abejas infectadas mientras que Gajger *et al.* comprueban el rendimiento del preparado de hierbas Nozevit® (2009a; 2009b) y BeeCleanse® (2013) como medida preventiva contra *N. apis* y *N. ceranea*.

Costa (2010) y Maistrello (2008) evaluaron quimiotipos diferentes (timol y resveratrol), Costa *et al.* (2010) administro los quimiotipos en dos formulaciones diferentes (caramelo y jarabe) para observar el efecto en *N. ceranae* y en la longevidad de las abejas melíferas. El jarabe de timol fue el que brindó mejores resultados en la disminución del nivel de infección ( $60 \pm 9$  millones de esporas/abeja) en comparación con las abejas de control ( $138 \pm 7$  millones de esporas/abeja) también se observó que las abejas alimentadas con jarabe de timol o resveratrol vivieron más tiempo (23 y 25 días, respectivamente) en comparación con el control (20 días). Estos dos quimiotipos (timol y resveratrol) son buenos prospectos en concentraciones combinadas como lo ha demostrado Maistrello *et al.* (2008) quienes los evaluaron en caramelos para el control de la nosemosis manifestando tasas de infección menores y vivían significativamente más tiempo. Existen reportes de que el timol es usado por sus efectos contra el ácaro *Varroa destructor* y otras de las ventajas que presenta, es que no es toxico para las abejas y se ha indagado en su uso como control químico alternativo para varios hongos fitopatógenos (Dambolena *et al.*, 2008; Svircev *et al.*, 2007) y bacterias orales en humanos (Bennis *et al.*, 2004). En tanto que el resveratrol tiene actividades biológicas como antiinflamatorio y anticancerígenos (Frémont, 2000).

Nanetti *et al.*, (2015) evaluó el efecto de la solución de ácido oxálico (AO: 0.25 M). El ácido oxálico es un componente natural de los organismos vivos y los alimentos (incluida la miel), y sus efectos en las abejas cuando se les administra junto con el jarabe se probó en laboratorio y campo. Cuando se aplicó AO, el número de esporas en los experimentos de laboratorio se redujo significativamente (tratadas:  $11,86 \pm 0,94$  e.s.  $\times 10^6$ ; sin tratar:  $30,64 \pm 0,31$  e.s.  $\times 10^6$ ). Cuando se aplicó AO en el campo, la tasa de infección de abejas jóvenes ( $53,8\% \pm 6,5$  e.s.) y adultos ( $44,4\% \pm 6,0$  e.s.) disminuyó. Al mismo tiempo, se detectó un aumento de la prevalencia en todos los controles de abejas jóvenes y adultas ( $45,7\% \pm 22,8$  e.s. y  $10,2\% \pm 5,9$  e.s., respectivamente). Ante estos resultados el jarabe de ácido oxálico parece otra estrategia prometedora contra el manejo de la nosemosis.

Sin embargo, aunque las abejas pueden tolerar dosis terapéuticas de AO, Gregorc y Škerl (2007) realizaron un análisis inmunohistoquímico y los resultados mostraron que las abejas alimentadas con AO tenían muerte celular necrótica en los ventrículos además Schneider *et al.* (2012) mostraron que la vida útil de las abejas se acortó pero en otros estudios (de países europeos) no se observaron efectos negativos obvios en la población adulta de la colonia (Nanetti *et al.*, 2003). Esto plantea la cuestión de si el AO pueda ser un buen sustituto para el control de la nosemosis.

Michalczyk & Sokól (2018) examinaron colonias de abejas coinfectadas con *Nosema apis* y *Nosema ceranae* tras la administrarles tres productos (Nozevit, ApiHerb y ApiX) en condiciones de campo. El estudio mostró que existen diferencias considerables en el número de esporas de *Nosema* spp. en las muestras de abejas analizadas. Comparado con Nozevit y Apiherb, ApiX es el producto más eficaz para controlar la invasión de la *N. apis*. Se llevó a cabo la misma prueba para probar su efecto sobre *N. ceranae*, en el cual los tres productos tienen efectos favorables.

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN, CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

#### 3.1 DISCUSIÓN

La administración de fitoterapia y polen mejora la supervivencia y disminuye el nivel de nosemosis en las abejas *A. mellifera*, de acuerdo con los resultados de este metaanálisis. La composición del polen puede variar debido a la diversidad de las fuentes florales que una abeja visita para la colecta de polen que afecta también el contenido de aminoácidos esenciales en el polen como la histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina. Sus carbohidratos son principalmente fructosa, glucosa y los lípidos son ácidos grasos insaturados (Frias *et al.*, 2016; Roulston & Cane, 2000). Los otros componentes del polen de abeja son igualmente importantes y muestran actividad terapéutica. Lo primero a considerar es el contenido de vitaminas y minerales que contiene el polen, incluidas las vitaminas B, vitamina C, vitamina E, magnesio, calcio, hierro, zinc y manganeso (Campos *et al.*, 2008; Herbert & Shimanuki, 1978). También se considera una buena fuente de ácidos grasos omega 3, 6 y 9 (poliinsaturados) (Sagona *et al.*, 2017). Se ha demostrado que el consumo de estos ácidos grasos es beneficioso en la prevención y el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, artrosis, artritis y cáncer (Tvrzicka *et al.*, 2011)

La fitoterapia también tiene sus ventajas ya que su empleo como tratamiento natural es el más conocido en el mundo por sus beneficios a la salud humana debido a su amplia gama de actividades biológicas que pueden presentar además de que su uso está en ascenso debido a validación sobre su seguridad y eficacia (Busse, 2000; Dechamp, 1999) lo que hace que estos tratamientos sean capaces de controlar los múltiples patógenos.

Por lo que esta revisión sistemática de la literatura corrobora la amplia aceptación del empleo de farmacopea y polen en el tratamiento alternativo de la nosemosis a nivel mundial.

Entre las tres especies de *Nosema* que afectan a las abejas *A. mellifera*, el de mayor campo de investigación es *N. ceranae*, lo cual se puede suponer que se debe a su adaptabilidad y rápida propagación en el mundo. Sin embargo, aún no es claro su mecanismo de virulencia, aunque hay dos hipótesis interesantes sobre la virulencia de esta especie de parásito. La primera hipótesis sugiere que estos parásitos secretan una enzima llamada hexoquinasa, que acelera el metabolismo de las células infectadas, mientras que la segunda propone que la infección inhibe

la apoptosis de las células infectadas y favorece la reproducción de los parásitos. Este último está respaldado por la investigación de Huang *et al.* en 2016, en el que utiliza ARNm como silenciador génico.

Otro punto destacable de los estudios es el tiempo del bioensayo donde algunos tratamientos tienen una efectividad en cuestión de días pero hay estudios por ejemplo en el de Yücel & Dogaroglu (2005) se demuestra que el timol reduce considerablemente en 2 años el nivel de la nosemosis causada por *N. apis*. El tiempo estimado en la mayoría de los tratamientos es crucial ya que se requiere un tratamiento que sea efectivo en poco tiempo. Sin embargo, hay que tener en consideración a aquellos tratamientos que no muestran un efecto benéfico en poco tiempo y hay que evaluarlos en un lapso de tiempo mayor.

La mayoría de los estudios están enfocados en tratamientos de carácter natural como la farmacopea, el uso de compuestos naturales, la apiterapia y la nutrición. La forma de administración tanto del tratamiento como la infección de las esporas es por medio de goteo y las dosis tanto del tratamiento y de infección fueron variadas pero siempre acompañadas con jarabe de azúcar.

Este trabajo realizado es único en especie ya que no se han encontrado trabajos realizados que estimen los tratamientos existentes o experimentales que ayuden como alternativas para el tratamiento de la nosemosis.

### **3.2 CONCLUSIONES**

*Nosema ceranae* y *N. apis* muestran patrones epidemiológicos diferentes, debido a que el primero de ellos tiene infecciones más altas en climas cálidos apareciendo en las colonias de abejas a lo largo del año, tanto en la colonia como en el apiario. En tanto que *N. apis* su prevalencia es mayor en climas fríos (Chen & Huang, 2010; Fries, 2010).

En la revisión sistemática de la literatura, existe evidencia de sesgo de publicación, por lo que estos resultados deben interpretarse con cautela.

De igual forma, se recomienda realizar investigaciones para evaluar combinaciones compatibles, así como estudiar los efectos de otros factores, como temperatura y humedad (precipitaciones), disponibilidad de néctar-miel y polen en las colonias, tipo de suelo, el uso y tiempo de aplicación

del tratamiento y posibles efectos sobre el control de la nosemosis y otras áreas de interés para el incrementar la producción de miel.

### **3.3 PERSPECTIVAS**

Este metaanálisis da el primer acercamiento en proponer los tratamientos efectivos contra la nosemosis, lo cual ayudaría a orientar a los apicultores sobre el uso de tratamientos alternativos contra la nosemosis que no son tóxicos para las abejas, no dejan residuos en la miel y afectan al ser humano.

Cabe destacar que aunque hay estudios que no se evaluaron por falta de datos, la opción para enriquecer dicho trabajo sería complementarla solicitando las bases de datos originales a los autores correspondientes y ampliar el abanico de los criterios como serian incluir otras especies de abejas y el periodo de los estudios.

El difundir la guía propuesta en este trabajo por medio de publicaciones científicas, congresos u otros medios para promover la implementación de tratamientos alternativos para el control de la nosemosis a una escala mayor favoreciendo a la industria apícola.

Extender el uso de los metaanálisis a las ciencias biológicas y en otras áreas de investigación para contribuir a la síntesis racional de la evidencia existente y la toma de decisiones.

## GLOSARIO

<b>Apiterapia</b>	Terapia alternativa basada en elementos provenientes de las colmenas de las abejas para prevenir y curar diversas enfermedades.
<b>Efectividad</b>	Es el equilibrio entre eficacia y eficiencia.
<b>Eficacia</b>	Capacidad de lograr el efecto que se desea o se espera.
<b>Eficiencia</b>	Capacidad de disponer de alguien o algo para conseguir el cumplimiento adecuado de una función.
<b>Farmacopea</b>	Serie de libros recopilatorios de recetas de productos con propiedades medicinales reales o supuestos, en los que se incluyen elementos de su composición y modo de preparación.
<b>Fitoterapia</b>	Tratamiento de las enfermedades mediante plantas o sustancias vegetales.
<b>Infectividad</b>	Capacidad de un agente patógeno para invadir un organismo y provocar una infección.
<b>Nutracéutico</b>	Alimento o parte de un alimento que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluyendo la prevención y/o el tratamiento de enfermedades.
<b>Silenciamiento génico</b>	Proceso de regulación en la expresión, eliminación y control de material genético.

## BIBLIOGRAFÍA

Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Farmer, M. A., Andersen, R. A., Anderson, O. R., Barta, J. R., Bowser, S. S., Brugerolle, G., Fensome, R. A., Fredericq, S., James, T. Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C. E., Lewis, L. A., Lodge, J., Lynn, D. H., Mann, D. G., ... Taylor, M. F. J. R. (2005). The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 52(5), 399–451. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x>

Adl, S. M., Simpson, A. G. B., Lane, C. E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S. S., Brown, M. W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Gall, L. Le, Lynn, D. H., McManus, H., Mitchell, E. A. D., Mozley-Stanridge, S. E., Parfrey, L. W., ... Spiegel, F. W. (2012). The revised classification of eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(5), 429–514. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00644.x>

Alvarado, J. J., Nemkal, A., Sauder, M., Russell, M., Akiyoshi, D. E., Shi, W., Almo, S. C., & Weiss, L. M. (2009). Structure of a microsporidian methionine aminopeptidase type 2 complexed with fumagillin and TNP-470. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 168(2), 158–167.

Basualdo, M., Barragán, S., & Antúnez, K. (2014). Bee bread increases honeybee haemolymph protein and promote better survival despite of causing higher *Nosema ceranae* abundance in honeybees. *Environmental Microbiology Reports*, 6(4), 396–400. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1758-2229.12169>

Begg, C. B., & Mazumdar, M. (1994). Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics*, 50(4), 1088–1101. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=7786990&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=7786990&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)

Béjar, V., Villanueva, F., León, S. R., Guevara-Granados, J. M., Uribe, A., Vergaray, G., Cuadra, A., & Sabogal, I. (2019). Identificación molecular de *Aspergillus fumigatus* aislados de pacientes con aspergilosis invasiva. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud*

- Pública*, 36(1), 81. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3403>
- Beltrán, Ó. A. (2005). Revisiones sistemáticas de la literatura. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 20(1), 60–69.
- Bennis, S., Chami, F., Chami, N., Bouchikhi, T., & Remmal, A. (2004). Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Letters in Applied Microbiology*, 38(6), 454–458.
- Bigliardi, E., & Sacchi, L. (2001). Cell biology and invasion of the microsporidia. *Microbes and Infection*, 3(5), 373–379.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457901013934>
- Boehm, R. I. (2012). *The information landscape of a wicked problem: An evaluation of Web-Based Information on Colony Collapse Disorder for a spectrum of Citizen Information Seekers* [University of Tennessee]. [https://trace.tennessee.edu/utk\\_gradthes/3241](https://trace.tennessee.edu/utk_gradthes/3241)
- Botías, C., Martín-Hernández, R., Días, J., García-Palencia, P., Matabuena, M., Juarranz, A., Barrios, L., Meana, A., Nanetti, A., & Higes, M. (2012). The effect of induced queen replacement on *Nosema* spp. infection in honey bee (*Apis mellifera iberiensis*) colonies. *Environmental Microbiology*, 14(4), 845–859. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2011.02647.x>
- Burri, L., Williams, B., Bursac, D., Lithgow, T., & Keeling, P. (2006). Microsporidian mitosomes retain elements of the general mitochondrial targeting system. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(43), 15916–15920.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.0604109103>
- Busse, W. (2000). The Significance of Quality for Efficacy and Safety of Herbal Medicinal Products. *Drug Information Journal*, 34(1), 15–23.  
<https://doi.org/10.1177/009286150003400102>
- Campos, M. G. R., Bogdanov, S., de Almeida-Muradian, L. B., Szczesna, T., Mancebo, Y., Frigerio, C., & Ferreira, F. (2008). Pollen composition and standardisation of analytical methods. *Journal of Apicultural Research*, 47(2), 154–161.  
<https://doi.org/10.1080/00218839.2008.11101443>

- Chakraborty, I., Sen, I. K., Mondal, S., Rout, D., Bhanja, S. K., Maity, G. N., & Maity, P. (2019). Bioactive polysaccharides from natural sources: A review on the antitumor and immunomodulating activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22, 101425. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101425>
- Chemurot, M., Smet, L. De, Brunain, M., ... R. D. R.-E. journal of, & 2017, U. (2017). *Nosema neumanni* n. sp.(Microsporidia, Nosematidae), a new microsporidian parasite of honeybees, *Apis mellifera* in Uganda. *European Journal of Protistology*, 61, 13–19. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0932473917301001>
- Chen, Y., & Huang, Z. (2010). *Nosema ceranae*, a newly identified pathogen of *Apis mellifera* in the USA and Asia. *Apidologie*, 41, 364–374.
- Chen, Yanping, Evans, J. D., Murphy, C., Gutell, R., Zuker, M., Gundensen-Rindal, D., & Pettis, J. S. (2009). Morphological, molecular, and phylogenetic characterization of *Nosema ceranae*, a microsporidian parasite isolated from the European honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(2), 142–147. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2008.00374.x>
- Clark, J. (2015). *How to avoid predatory journals - a five point plan*. The Bmj Opinion. <https://blogs.bmj.com/bmj/2015/01/19/jocalyn-clark-how-to-avoid-predatory-journals-a-five-point-plan/>
- Cooper, H., Hedges, L. V., & Valentine, J. C. (2019). *The handbook of research synthesis and meta-analysis* (Tercera). Russell Sage Foundation.
- Cornman, R. S., Chen, Y., Schatz, M. C., Street, C., Zhao, Y., Desany, B., Egholm, M., Hutchison, S., Pettis, J. S., Lipkin, W. I., & Evans, J. D. (2009). Genomic analyses of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent pathogen of honey bees. *PLoS Pathogens*, 5(6). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000466>
- Dambolena, J. S., López, A. G., Cánepa, M. C., Theumer, M. G., Zygadlo, J. A., & Rubinstein, H. R. (2008). Inhibitory effect of cyclic terpenes (limonene, menthol, menthone and thymol) on *Fusarium verticillioides* MRC 826 growth and fumonisin B1 biosynthesis. *Toxicon*, 51(1), 37–44. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2007.07.005>
- Dechamp, J.-F. (1999). Herbal Medicinal Products and Patients' Needs in Europe. *Drug*

- Information Journal*, 33(1), 309–313. <https://doi.org/10.1177/009286159903300136>
- Didier, E. S., Stovall, M. E., Green, L. C., Brindley, P. J., Sestak, K., & Didier, P. J. (2004). Epidemiology of microsporidiosis: sources and modes of transmission. *Veterinary Parasitology*, 126(1), 145–166. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.09.006>
- Duval, S., & Tweedie, R. (2000). Trim and fill: A simple funnel-plot-based method of testing and adjusting for publication bias in meta-analysis. *Biometrics*, 56(2), 455–463. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=10877304&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=10877304&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)
- Egger, M., Davey Smith, G., Schneider, M., & Minder, C. (1997). Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical test. *British Medical Journal*, 315(7109), 629–634. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=9310563&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=9310563&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)
- Ensenbach, S. (2020). *Development of Colony Collapse Disorder in Honeybees in Schleswig-Holstein and its Relation to the Beekeeping Methods*. [https://macau.uni-kiel.de/receive/macau\\_mods\\_00000908](https://macau.uni-kiel.de/receive/macau_mods_00000908)
- Evans, J. D., & Schwarz, R. S. (2011). Bees brought to their knees: microbes affecting honey bee health. *Trends in Microbiology*, 19(12), 614–620. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.003>
- Fenoy, S., Rueda, C., Higes, M., Martín-Hernández, R., & Del Aguila, C. (2009). High-level resistance of *Nosema ceranae*, a parasite of the honeybee, to temperature and desiccation. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(21), 6886–6889. <https://doi.org/10.1128/AEM.01025-09>
- Frémont, L. (2000). Biological effects of resveratrol. *Life Sciences*, 66(8), 663–673. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(99\)00410-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0024-3205(99)00410-5)
- Frias, B. E. D., Barbosa, C. D., & Lourenço, A. P. (2016). Pollen nutrition in honey bees (*Apis*

- mellifera): impact on adult health. *Apidologie*, 47(1), 15–25. <https://doi.org/10.1007/s13592-015-0373-y>
- Fries, I. (1993). Nosema Apis — A parasite in the honey bee colony. *Bee World*, 74(1), 5–19.
- Fries, I. (1997). Protozoa. In R. Morse & K. Flottum (Eds.), *Honey Bee Pests, Predators and Diseases* (pp. 59–76). Ohio: A.I. Root Company.
- Fries, I. (2010). Nosema ceranae in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Apicultural Research*, 103, 573–579.
- Fries, I, Chauzat, M.-P., Chen, Y.-P., Doublet, V., Genersch, E., Gisder, S., Higes, M., McMahon, D. P., Martín-Hernández, R., Natsopoulou, M., Paxton, R. J., Tanner, G., Webster, T. C., & Williams, G. R. (2013). Standard methods for Nosema research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1). <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.14>
- Fries, Ingemar. (1988). Infectivity and multiplication of *Nosema Apis* Z. in the ventriculus of honey bee. *Apidologie*, 19(3), 319–328. <https://doi.org/10.1051/apido:19880310>
- Fries, Ingemar, Chauzat, M.-P., Chen, Y.-P., Doublet, V., Genersch, E., Gisder, S., Higes, M., McMahon, D. P., Martín-Hernández, R., Natsopoulou, M., Paxton, R. J., Tanner, G., Webster, T. C., & Williams, G. R. (2013). Standard methods for Nosema research. *Journal of Apicultural Research*, 52(1), 1–28. <https://doi.org/10.3896/IBRA.1.52.1.14>
- Fries, Ingemar, Feng, F., da Silva, A., Slemenda, S. B., & Pieniazek, N. J. (1996). Nosema ceranae n. sp. (Microspora, Nosematidae), morphological and molecular characterization of a microsporidian parasite of the Asian honey bee *Apis cerana* (Hymenoptera, Apidae). *European Journal of Protistology*, 32(3), 356–365. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0932-4739\(96\)80059-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0932-4739(96)80059-9)
- Genersch, E., Evans, J. D., & Fries, I. (2010). Honey bee disease overview. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103, S2–S4. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.07.015>
- Gisder, S., Hedtke, K., Möckel, N., Frielitz, M.-C., Linde, A., & Genersch, E. (2010). Five-Year Cohort Study of Nosema spp. in Germany: Does Climate Shape Virulence and Assertiveness of Nosema ceranae? †. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 76(9), 3032–3038. <https://doi.org/10.1128/AEM.03097-09>

- Gisder, S., Möckel, N., Linde, A., & Genersch, E. (2011). A cell culture model for *Nosema ceranae* and *Nosema apis* allows new insights into the life cycle of these important honey bee-pathogenic microsporidia. *Environmental Microbiology*, *13*(2), 404–413. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2010.02346.x>
- Glass, G. V. (1976). Primary, Secondary, and Meta-Analysis of Research. *Educational Researcher*, *5*(10), 3. <https://doi.org/10.2307/1174772>
- Goulson, D., Nicholls, E., Botías, C., & Rotheray, E. L. (2015). Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, *347*(6229). <https://doi.org/10.1126/science.1255957>
- Gregorc, A., & Smodiš Škerl, M. I. (2007). Toxicological and immunohistochemical testing of honeybees after oxalic acid and rotenone treatments. *Apidologie*, *38*(3), 296–305. <https://doi.org/10.1051/apido:2007014>
- Hartwig, A., & Przełęcka, A. (1971). Nucleic acids in intestine of *Apis mellifica* infected with *Nosema apis* and treated with Fumagillin DCH: Cytochemical and autoradiographic studies. *Journal of Invertebrate Pathology*, *18*(3), 331–336. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011\(71\)90034-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-2011(71)90034-6)
- Herbert, E. W., & Shimanuki, H. (1978). Chemical composition and nutritive value of bee-collected and bee-stored pollen. *Apidologie*, *9*(1), 33–40. <https://doi.org/10.1051/apido:19780103>
- Higes, M, Martin-Hernandez, R., Garrido-Bailon, E., Gonzalez -Porto, A. V, Garcia-Palencia, P., Meana, A., Del Nozal, M., Mayo, R., & Bernal, J. L. (2009). Honey bee colony collapse due to *Nosema ceranae* in professional apiaries. *Environmental Microbiology Reports*, *10*, 2659–2669.
- Higes, M, Martín-Hernández, R., & Meana, A. (2010). *Nosema ceranae* in Europe: An emergent type C nosemosis. *Apidologie*, *41*(3), 375–392.
- Higes, M, Nozal, M. J., Alvaro, A., Barrios, L., Meana, A., Martín-Hernández, R., Bernal, J. L., & Bernal, J. (2011). The stability and effectiveness of fumagillin in controlling *Nosema ceranae* (Microsporidia) infection in honey bees (*Apis mellifera*) under laboratory and field conditions. *Apidologie*, *42*(3), 364–377. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0003-2>

- Higes, Mariano, Martín-Hernández, R., Botías, C., Bailón, E. G., González-Porto, A. V., Barrios, L., Del Nozal, M. J., Bernal, J. L., Jiménez, J. J., Palencia, P. G., & Meana, A. (2008). How natural infection by *Nosema ceranae* causes honeybee colony collapse. *Environmental Microbiology*, 10(10), 2659–2669. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01687.x>
- Higes, Mariano, Martín, R., & Meana, A. (2006). *Nosema ceranae*, a new microsporidian parasite in honeybees in Europe. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(2), 93–95. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2006.02.005>
- Higgins, J., & Green, S. (2011). *Cochrane Handbook for systematic reviews of interventions version 5.1.0* (J. P. Higgins, J. Thomas, J. Chandler, M. Cumpston, T. Li, M. Page, & V. Welch (eds.)). [www.training.cochrane.org/handbook](http://www.training.cochrane.org/handbook).
- Higgins, J. P., & Thompson, S. G. (2002). Quantifying heterogeneity in a meta-analysis. *Statistics in Medicine*, 11, 1539–1558. <https://doi.org/10.1002/sim.1186>
- Huang, W.-F., Jiang, J.-H., Chen, Y.-W., & Wang, C.-H. (2007). A *Nosema ceranae* isolate from the honeybee *Apis mellifera*. *Apidologie*, 38, 30–37.
- Ioannidis, J. P. A. (2016). The mass production of redundant, misleading and conflicted systematic reviews and meta-analyses. *The Milbank Quarterly*, 94(3), 485–514. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=27620683&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=27620683&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)
- IPBES. (2016). *Assessment Report on Pollinators, Pollination and Food Production* (S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, & H. T. Ngo (eds.)). Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3402857>
- Kim, J. H., Park, J. K., & Lee, J. K. (2016). Evaluation of Antimicrosporidian Activity of Plant Extracts on *Nosema ceranae*. *Journal of Apicultural Science*, 60(2), 167–178. <https://doi.org/10.1515/jas-2016-0027>
- Klee, J., Besana, A. M., Genersch, E., Gisder, S., Nanetti, A., Tam, D. Q., Chinh, T. X., Puerta, F., Ruz, J. M., Kryger, P., Message, D., Hatjina, F., Korpela, S., Fries, I., & Paxton, R. J. (2007). Widespread dispersal of the microsporidian *Nosema ceranae*, an emergent

- pathogen of the western honey bee, *Apis mellifera*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 96(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.02.014>
- Leal Mora, A. K. (2006). *Concentración de extracto enzimático obtenido de hojas de maqui (Aristotelia chilensis Mol.) para su utilización en quesería*. <http://bosques.ciren.cl:8080/xmlui/handle/123456789/156>
- Lean, I. J., Rabiee, A. R., Duffield, T. F., & Dohoo, I. R. (2009). Invited review: Use of meta-analysis in animal health and reproduction: methods and applications. *Journal of Dairy Science*, 92(8), 3545–3565. [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=19620636&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=19620636&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)
- Lee, S. C., Corradi, N., Doan, S., Dietrich, F. S., Keeling, P. J., & Heitman, J. (2010). Evolution of the sex-related locus and genomic features shared in microsporidia and fungi. *PLoS ONE*, 5(5), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010539>
- Lipsey, M., & Wilson, D. (2000). *Practical meta-analysis*. SAGE Publications.
- Liu, H. J., & Liu, T. P. (1973). Scanning electron microscope observations on the spore of *Nosema apis* Zander. *Tissue & Cell*, 5(4), 581–584.
- Maistrello, L., Lodesani, M., Costa, C., Leonardi, F., Marani, G., Caldon, M., Mutinelli, F., & Granato, A. (2008). Screening of natural compounds for the control of nosema disease in honeybees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, 39(4), 436–445. <https://doi.org/10.1051/apido:2008022>
- Malone, L. A., Gatehouse, H. S., & Tregidga, E. L. (2001). Effects of Time, Temperature, and Honey on *Nosema apis* (Microsporidia: Nosematidae), a Parasite of the Honeybee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 77(4), 258–268. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jipa.2001.5028>
- Martín-Hernández, R., Meana, A., Prieto, L., Martínez Salvador, A., Garrido-Bailón, E., & Higes, M. (2007). Outcome of colonization of *Apis mellifera* by *Nosema ceranae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(20), 6331–6338. <https://doi.org/10.1128/AEM.00270-07>

- McAuley, L., Pham, B., Tugwell, P., & Moher, D. (2000). Does the inclusion of grey literature influence estimates of intervention effectiveness reported in meta-analyses? *The Lancet*, 356, 1228–1231.  
[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed\\_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=11072941&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed\\_ResultsPanel.Pubmed\\_RVDocSum](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&DbFrom=pubmed&Cmd=Link&LinkName=pubmed_pubmed&LinkReadableName=RelatedArticles&IdsFromResult=11072941&ordinalpos=3&itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum)
- McCallum, R., Olmstead, S., Shaw, J., & Glasgow, K. (2020). Evaluating Efficacy of Fumagilin-B® Against Nosemosis and Tracking Seasonal Trends of Nosema spp. in Nova Scotia Honey Bee Colonies. *Journal of Apicultural Science*, 64(2), 277–286.  
<https://doi.org/10.2478/jas-2020-0025>
- Meana Mañes, A. (2016). El síndrome del despoblamiento de las colmenas. *Anales de La Real Academia de Ciencias Veterinarias*, 24(24), 225–266.
- Mehlhorn, H. (2007). *Encyclopedia of parasitology* (3rd ed., Vol. 2, Issue 9). Springer.  
springer.com
- Millership, J. J., Chappell, C., Okhuysen, P. C., & Snowden, K. F. (2002). Characterization of aminopeptidase activity from three species of microsporidia: *Encephalitozoon cuniculi*, *Encephalitozoon hellem*, and *Vittaforma corneae*. *Journal of Parasitology*, 88, 843–848.
- Mladjan, V., Todorovic, D., & Lolin, M. (2000). Preventive action of fumagillin on the degree of infection with *Nosema apis* in the digestive tract of bees. *Acta Veterinaria*, 50(4), 241–251.  
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-0347016058&partnerID=40&md5=37830de5c342ec4a8d3d9dce91eec357>
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Pretticrew, M., Shekelle, P., Stewart, L., & Group, P.-P. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, 4(1), 1–9.
- Morales, P. (1993). Líneas actuales de investigación en métodos cuantitativos: El meta-análisis o la síntesis integradora. *Revista de Educación*, 300, 191–221.
- Moreno, B., Cuellar, J., Domancic, S., & Villanueva, J. (2018). Revisiones sistematicas: definición y nociones basicas. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y*

- Rehabilitación Oral*, 11(3), 184–186.
- Morse, R. A., & Calderone, N. W. (2000). The value of honey bees as pollinators of US crops in 2000. *Bee Culture*, 128(Marzo 2000), 1–15.  
<http://www.beeculture.com/content/pollinationreprint07.pdf%5Cnpapers2://publication/uuid/480F22F5-2367-4853-AD20-88441298BE0B>
- Nanetti, A., Bartolomei, P., Bellato, S., De Salvio, M., Gattavecchia, E., & Ghini, S. (2003). Pharmacodynamics of oxalic acid in the honey bee colony. *Apimondia International Congress*.
- OIE. (2019). Nosemosis de las abejas melíferas. In *Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres 2018* (pp. 1–7). <https://www.oie.int/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/>
- Paxton, R. J., Klee, J., Korpela, S., & Fries, I. (2007). *Nosema ceranae* has infected *Apis mellifera* in Europe since at least 1998 and may be more virulent than *Nosema apis*. *Apidologie*, 38, 558–565. <https://doi.org/10.1051/apido:2007037>
- Pisanski, K., Kulczycki, E., & Sorokowski, P. (2017). Predatory journals recruit fake editor. *Nature*, 543, 481–483. javascript:
- Potts, Simon G, Biesmeijer, J. C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., & Kunin, W. E. (2010). Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(6), 345–353. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.01.007>
- Ptaszyńska, A., Grzegorz, B., Mułenko, W., & Olszewski, K. (2012). Monitoring of nosemosis in the Lublin region and preliminary morphometric studies of *Nosema* spp. spores. *Medycyna Weterynaryjna*, 68(10), 4.
- Romanucci, V., D'Alonzo, D., Guaragna, A., Di Marino, C., Davinelli, S., Scapagnini, G., & Zarrelli, A. (2016). Bioactive compounds of *Aristotelia chilensis* Stuntz and their pharmacological effects. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 17, 513–523.
- Roulston, T. H., & Cane, J. H. (2000). Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222(1), 187–209. <https://doi.org/10.1007/BF00984102>
- Rubilar, M., Gutiérrez, C., Villarroel, M., & Shene, C. (2010). Influencia de las condiciones de

- separación sobre la actividad antimicrobiana de fracciones polifenólicas de extractos de hoja de murta Influence of separation conditions on antimicrobial activity of polyphenolic fractions from murta leaves extract. *CyTA - Journal of Food*, 8(2), 139–149.  
<https://doi.org/10.1080/19476330903274161>
- Sagona, S., Pozzo, L., Peiretti, P. G., Biondi, C., Giusti, M., Gabriele, M., Pucci, L., & Felicioli, A. (2017). Palynological origin, chemical composition, lipid peroxidation and fatty acid profile of organic Tuscanian bee-pollen. *Journal of Apicultural Research*, 56(2), 136–143.  
<https://doi.org/10.1080/00218839.2017.1287995>
- Sarlo, E. G., Medici, S. K., Porrini, M. P., Melisa Garrido, P., Floris, I., & Eguaras, M. J. (2011). Comparison between different Fumagillin dosage and evaluation method in the apiary control of Nosemosis type C. *Redia*, 94, 39–44.  
<https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84863899050&partnerID=40&md5=9c10c413e725b446b29a8a5b2050ba44>
- Schneider, S., Eisenhardt, D., & Rademacher, E. (2012). Sublethal effects of oxalic acid on *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae): changes in behaviour and longevity. *Apidologie*, 43(2), 218–225. <https://doi.org/10.1007/s13592-011-0102-0>
- Shene, C., Canquil, N., Jorquera, M., Pinelo, M., Rubilar, M., Acevedo, F., Vergara, C., von Baer, D., & Mardones, C. (2012). In vitro Activity on Human Gut Bacteria of Murta Leaf Extracts (*Ugni molinae turcz.*), a Native Plant from Southern Chile. *Journal of Food Science*, 77(6), M323–M329. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02692.x>
- Shene, C., Reyes, A. K., Villarroel, M., Sineiro, J., Pinelo, M., & Rubilar, M. (2009). Plant location and extraction procedure strongly alter the antimicrobial activity of murta extracts. *European Food Research and Technology*, 228(3), 467–475.  
<https://doi.org/10.1007/s00217-008-0954-3>
- Svircev, A. M., Smith, R. J., Zhou, T., Hernandez, M., Liu, W., & Chu, C. L. (2007). Effects of thymol fumigation on survival and ultrastructure of *Monilinia fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 228–233.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.021>
- Torrente García, L. (2008). *Ecologistas en acción*. Síndrome Del Despoblamiento de Las

Colmenas y El Empleo de Plaguicidas.

<https://www.ecologistasenaccion.org/13240/sindrome-del-despoblamiento-de-las-colmenas-y-el-empleo-de-plaguicidas/>

Tvrzicka, E., Kremmyda, L.-S., Stankova, B., & Zak, A. (2011). Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease—a review. Part 1: classification, dietary sources and biological functions. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia*, 155(2), 117–130.

Valdebenito, G., Molina, J., Benedetti, S., Hormazaba, M., & Pavez, C. (2017). *Modelos de negocios sustentables de recolección, procesamiento y comercialización de Productos Forestales No Madereros (PFNM) en Chile*.  
<https://bibliotecadigital.infor.cl/bitstream/handle/20.500.12220/21016/31549.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

vanEngelsdorp, D., Evans, J. D., Saegerman, C., Mullin, C., Haubruge, E., Nguyen, B. K., Frazier, M., Frazier, J., Cox-Foster, D., Chen, Y., Underwood, R., Tarpy, D. R., & Pettis, J. S. (2009). Colony collapse disorder: A descriptive study. *PLoS ONE*, 4(8).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006481>

Vavilova, V. Y., Konopatskaia, I., Luzyanin, S. L., Woyciechowski, M., & Blinov, A. G. (2017). Parasites of the genus *Nosema*, *Crithidia* and *Lotmaria* in the honeybee and bumblebee populations: A case study in India. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii*, 21(8), 943–951.  
<https://doi.org/10.18699/VJ17.317>

Webster, T., Thacker, E., Pomper, K., Lowe, J., & Hunt, G. (2008). *Nosema apis* infection in honey bee (*Apis mellifera*) queens. *Journal of Apicultural Research*, 47(1), 53–57.  
<https://doi.org/10.3896/ibra.1.47.1.08>

Yücel, B., & Dogaroglu, M. (2005). The impact of *Nosema apis* Z. infestation of honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies after using different treatment methods and their effects on the population levels of workers and honey production on consecutive years. *Pak J Biol Sci*, 8(8), 1142–1145.