



Toma de muestras: claves para la fiabilidad de los resultados

Iratxe Pérez Cobo
Jefe de servicio de bacteriología 2
LCV-Algete
iperezco@mapa.es

2

La calidad de los resultados analíticos depende de:

- La preparación previa de la visita
- Nuestras observaciones
 - suficiente tiempo... el que no busca no encuentra
- Las buenas prácticas de **higiene** durante la visita
- **Dos personas**
- **Paciencia**... suavidad en el manejo...un sin prisa pero sin pausa...
 - A las abejas no les va los nervios, la prisa, los golpes, las manipulaciones bruscas, los cambios de tiempo



Visitas de inspección en el Programa de vigilancia

1. Otoño (A21)/ Primavera (SP22)

2. Organización previa.

- Selección de apiarios (apicultores)
- Selección de colonias en el apiario

3. Antes de la visita

1. Checklist con el material de inspección y equipo de protección

4. Aspectos prácticos de la visita

- Selección al azar
- Investigación general externa del apiario
- Investigación externa de las colonias seleccionadas
- Investigación interna de las colonias seleccionadas

5. Toma de muestras

4

1ª VISITA: A21 (otoño)

- ▶ **OBJETIVO:** valoración de las condiciones iniciales de sanidad: estimación prevalencia clínica de enfermedades objeto de estudio
- ▶ Un **MUESTREO SISTEMÁTICO**
 - ▶ Abejas adultas del **interior** de las colmenas seleccionadas del colmenar
 - ▶ Tasas parasitación **Varroa spp** (cría)
 - ▶ Tasas parasitación **Nosema spp** (cuadros más externos)

2ª VISITA: SP22 (primavera)

- ▶ **OBJETIVOS:** valoración de la mortalidad invernal de la colonias. Valoración de la eficacia del tratamiento otoñal frente a la Varroosis. estimación prevalencia clínica de enfermedades objeto de estudio
- ▶ Un **MUESTREO SISTEMÁTICO**
 - ▶ Abejas adultas del **interior** de las colmenas seleccionadas del colmenar (próximas a la cría)
 - ▶ Tasas parasitación **Varroa spp**

Un **MUESTREO ADICIONAL** si se observara algún ácaro similar a las **enfermedades exóticas** o cualquier **síntoma de enfermeda. ANOTAR** en el formulario de inspección todas las observaciones, las muestras recogidas y las solicitudes de análisis para cada muestra

EMBALAR y ENVIAR las muestras refrigeradas al laboratorio competente junto con TODO EL FORMULARIO DE INSPECCIÓN.



2ª VISITA (SP22):primavera

- ▶ En las colonias seleccionadas durante la primera visita
- ▶ Visitar las colonias y anotar la **mortalidad invernal** (ver definición de caso de mortalidad) : número de colonias muertas,
- ▶ Anotar en el **FORMULARIO DE INSPECCIÓN**:
 - ▶ **NÚMERO DE COLONIAS**:
 - ▶ vendidas
 - ▶ dadas
 - ▶ movidas entre las dos visitas
 - ▶ el número de colonias fusionadas (especificando el motivo)
- ▶ todas las observaciones, las muestras recogidas y las solicitudes de análisis para cada muestra



2. Organización previa

- **Selección al azar de los apicultores.** Dificultades para la participación.
 - Vinculación a las ayudas al PNA
 - Transmisión y utilidad efectiva de los resultados.
- **Protocolo para la selección al azar (apiarios/colonias)**

7

Selección al azar simple aleatoria de las colonias a investigar en el colmenar

Se calculará el número de colonias “n” que se deben muestrear en función del número total de colonias que haya en el colmenar

Censo colmenas	Muestra 95/20
≤ 8	todas
9-10	8
11-20	10
21-30	11
31-60	12
>61	13

Nº de colmenas muestreadas por colmenar objeto de muestreo

Visitas de inspección en el Programa de vigilancia

1. Otoño (A21)/ Primavera (SP22)

2. Organización previa.

- Selección de apiarios (apicultores)
- Selección de colonias en el apiario

3. Antes de la visita

1. Checklist con el material de inspección y equipo de protección

4. Aspectos prácticos de la visita

- Selección al azar
- Investigación general externa del apiario
- Investigación externa de las colonias seleccionadas
- Investigación interna de las colonias seleccionadas

5. Toma de muestras

3. Antes de la visita..

- **CONCERTAR CITA** previa y **EXPLICAR** al apicultor los objetivos y las formas de vigilancia
- Solicitar el envío previo de una copia del **Libro de Explotación Apícola**.
- Asegurarse de que todo el equipo está completo. **Checklist**
 - **Preparar el material** para ser rápido y eficiente en el colmenar (las condiciones no son siempre óptimas)
 - Ej: Contenedores para muestras sistemáticas.



Material de inspección (1)

- ▶ Sobres, cajas de cartón y/o frascos para las **muestras de abejas**.
- ▶ Cajas de cartón y papel para las **muestras de panales de cría**.
- ▶ **Etiquetado previo** para las **muestras sistemáticas/sintomáticas**
 - ▶ Evita equivocaciones
 - ▶ Gana tiempo
- ▶ **Cuchillo o escalpelo** para cortar los **panales de cría**.
- ▶ Tubos Eppendorf y espátulas de plástico de un solo uso para toma de **muestras de cría**
- ▶ **Grapadora** para cerrar los sobres.
- ▶ **Tubos Eppendorf** con alcohol ultra puro (99%); para parásitos sospechosos



Material de inspección (2)

- Dispositivo para **identificación de las muestras** (rotulador resistente al agua)
- Dispositivo para **identificación de colmenas** (rotulador resistente al agua o crotales)
- **Guantes** de un solo uso XL
- **Desinfectante** para el material después de su uso entre colmena y colmena. **Evitar el uso de lejía** como desinfectante dada su capacidad de destrucción vírica podría afectar a la detección de virus.



Visitas de inspección en el Programa de vigilancia

1. Otoño (A21)/ Primavera (SP22)

2. Organización previa.

- ▶ Selección de apiarios (apicultores)
- ▶ Selección de colonias en el apiario

3. Antes de la visita

1. Checklist con el material de inspección y equipo de protección

4. Aspectos prácticos de la visita

- ▶ Selección al azar
- ▶ Investigación general externa del apiario
- ▶ Investigación externa de las colonias seleccionadas
- ▶ Investigación interna de las colonias seleccionadas

5. Toma de muestras

13

4. Aspectos prácticos de la visita

- **Presentar el proyecto al apicultor** y recoger los datos generales del colmenar.
- **Selección al azar** de **y** colonias, identificar (marcar) las seleccionadas (solo en la visita 1ª)

- **Investigación externa general del apiario.**
- **Investigación externa e interna** de las **colonias** seleccionadas **+** toma de muestras.
- **Fin de la visita.**



Durante la visita:

- 1 persona rellena el formulario, prepara y numera los contenedores de las muestras/sobres.
- La otra persona maneja las muestras



Un café...da para mucho...

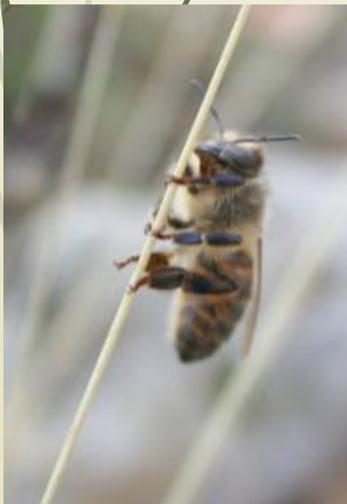
18

Investigación general externa del apiario

Objetivo: Identificar las colmenas con posibles desórdenes o signos clínicos en la piquera o cerca de la colmena

Antes de abrir las colmenas, observar:

- Estado general del colmenar (hábitat, orden y limpieza, etc)
- La actividad de las abejas (vuelo, sonido, agresividad, etc)
- La piqueras (vuelo, signos clínicos)



Investigación externa de las colonias

Antes de ahumar las abejas → investigaciones externas

Piquera + Techo + Alrededores de la colmena

- ¿Hay abejas muertas?
- ¿Muestran desordenes de conducta?
- ¿Tienen alguna anomalía morfológica?
- ¿Se observan diarreas?
- ¿abejas que no pueden volar ? ver si reptan, aspecto físico
- observación de comportamiento



Nota: la eliminación de zánganos es un fenómeno normal en verano

Si hay signos clínicos: muestrear 30 abejas.

Si solo abejas muertas sin signos clínicos: muestrear 60 abejas muertas.

20

Piquera ocupada

- Barba
- Rechazo
- Agresión
- Congestionada



Micosis



Barba

21

Piquera ocupada

- Expulsión
- Agresión



22

Piquera después de la visita



Mortalidad de abejas adultas

- Fuera de las colmenas
- Es requerida valoración



24

¡Cuidado con la visibilidad de acuerdo al soporte!



20

Síntomas / trastornos	INVESTIGACIÓN SOBRE LAS COLONIAS CON SÍNTOMAS SELECCIONADAS AL AZAR													
	NÚMERO DE COLMENA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
IDENTIFICACIÓN DE LA COLONIA (EN CAMPO)	XX	XX												
Vigor de la colonia: Puntuar del 1 al 5 (1 muy débil a 5 muy fuerte) *														
OBSERVACION(ES) EXTERNAS														
Abejas muertas en frente de la colmena (piquera)	0	1												
Abejas arrastrándose, abejas aferradas a la hierba	0	1												
Restos de diarrea	0	0												
Abejas temblorosas	0	1												
Abejas negras que son rechazadas de la colmena	0	1												
Piquera ocupada	0	1												
Síntomas nerviosos, desorientación, con poco movimiento y nula agresividad	0	1												
OBSERVACION(ES) INTERNAS														
Aspecto de la cría salteada o en mosaico														
Larvas viscosa														
Olor específico de Loque Americana														
Cría desprendida														
Larvas de color amarillento a marrón														
Abejas con alas deformadas y/o atrofiadas														
Varroas foréticas														
Abejas muertas dentro de las celdillas														
Canibalismo sobre las larva o pupas														
Escarabajos foréticos, larvas o huevos inusuales														
Galerías/túneles excavados en los cuadros														
Cría y miel destruida														
Sospecha de ácaros atípicos														
Abejas muertas en el fondo de la colmena														
Síntomas nerviosos, desorientación, con poco movimiento y nula agresividad														
Nombre														
COLONIA MUERTA *	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
SOSPECHAS*														
Varroosis clínica (no es necesario confirmar en laboratorio).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Loque Americana.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Loque Europea.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nosemosis.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parálisis Crónica.....	X	<input type="checkbox"/>												
Pequeño escarabajo de la colmena.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tropilaelaps spp.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intoxicación por fitosanitarios.....	X	<input type="checkbox"/>												
Otros(especificar).....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

26

Investigación interna de las colonias seleccionadas

Observar las abejas, la cría y el fondo de la colmena:

- Observar **todos** los cuadros: sacarlos para identificar cualquier presencia de síntoma en la **cría** + **abejas**.
- Rellenar el **formulario**
- Preferible **dos personas**

Si signos clínicos tomar muestra
Abejas y/o cría y/o parásitos



Mortalidad abejas adultas

- ➔ Dentro de la colmena



Síntomas / trastornos	INVESTIGACIÓN SOBRE LAS COLONIAS CON SÍNTOMAS SELECCIONADAS AL AZAR												
NÚMERO DE COLMENA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
IDENTIFICACIÓN DE LA COLONIA (EN CAMPO)	XX	XX											
Vigor de la colonia: Puntuar del 1 al 5 (1 muy débil a 5 muy fuerte) *	2	0											
OBSERVACION(ES) EXTERNAS													
Abejas muertas en frente de la colmena (piquera)	0	0											
Abejas arrastrándose, abejas aferradas a la hierba	0	0											
Restos de diarrea	0	0											
Abejas temblorosas	0	0											
Abejas negras que son rechazadas de la colmena	0	0											
Piquera ocupada	0	0											
Síntomas nerviosos, desorientación, con poco movimiento y nula agresividad	0	0											
OBSERVACION(ES) INTERNAS													
Aspecto de la cna saiteada o en mosaico	1	1											
Larvas viscosa	1	1											
Olor específico de Loque Americana	1	1											
Cría desprendida	0	0											
Larvas de color amarillento a marrón	1	0											
Abejas con alas deformadas y/o atrofiadas	0	0											
Varroas foréticas. y/o Presencia de varroa en larvas operculadas	1	0											
Abejas muertas dentro de las celdillas	1	1											
Canibalismo sobre las larva o pupas	0	0											
Escarabajos foréticos, larvas o huevos inusuales	0	0											
Galerías/túneles excavados en los cuadros	0	1											
Cría y miel destruida	0	0											
Sospecha de ácaros atípicos	0	0											
Abejas muertas en el fondo de la colmena	0	0											
Síntomas nerviosos, desorientación, con poco movimiento y nula agresividad	0	0											
Hambre	1	0											
COLONIA MUERTA *	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>										
SOSPECHAS*													
Varroosis clínica (no es necesario confirmar en laboratorio).	X	X	<input type="checkbox"/>										
Loque Americana	X	X	<input type="checkbox"/>										
Loque Europea.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Nosemosis.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Parálisis Crónica.....	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pequeño escarabajo de la colmena.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<i>Tropilaelaps</i> spp.....	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Intoxicación por fitosanitarios.....	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Otros (especificar No reservas de miel y polen)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Visitas de inspección en el Programa de vigilancia

1. Otoño (A21)/ Primavera (SP22)

2. Organización previa.

- Selección de apiarios (apicultores)
- Selección de colonias en el apiario

3. Antes de la visita

1. **Checklist** con el material de inspección y equipo de protección

4. Aspectos prácticos de la visita

- Selección al azar
- Investigación general externa del apiario
- Investigación externa de las colonias seleccionadas
- Investigación interna de las colonias seleccionadas

5. Toma de muestras

5. TOMA DE MUESTRAS

- ❑ Muestreo **SISTEMÁTICO** de abejas (SYS)
- ❑ Muestreo de abejas **CON SÍNTOMAS**: enfermedades, **sospechas de intoxicación**
- ❑ Muestreo de panal de cría **CON SÍNTOMAS**: enfermedades
- ❑ Muestreo de panal de miel y polen (**sospechas de intoxicación**)

Muestreo **sistemático** de abejas



Toma de muestras **sistemáticas**

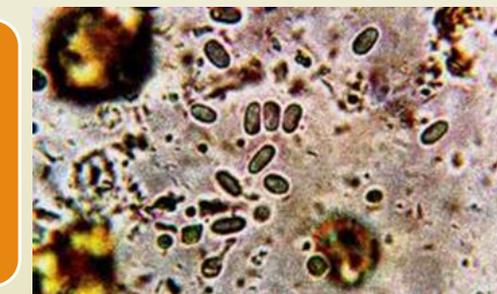
- **Al final de la inspección de cada colmena**
- Para realizar el recuento de las **tasas de parasitación** por:
 - ***Varroa destructor***
 - ***Nosema spp***
- **¿Cómo tomar la muestra?**
 - En un **frasco de plástico de 180 mL** lleno hasta la rosca
 - En un **sobre** de envolver (grapado)

NOTA: Verificar la **ausencia de la reina** entre dos personas **y** el apicultor antes de muestrear

Toma muestras abejas sistemáticas



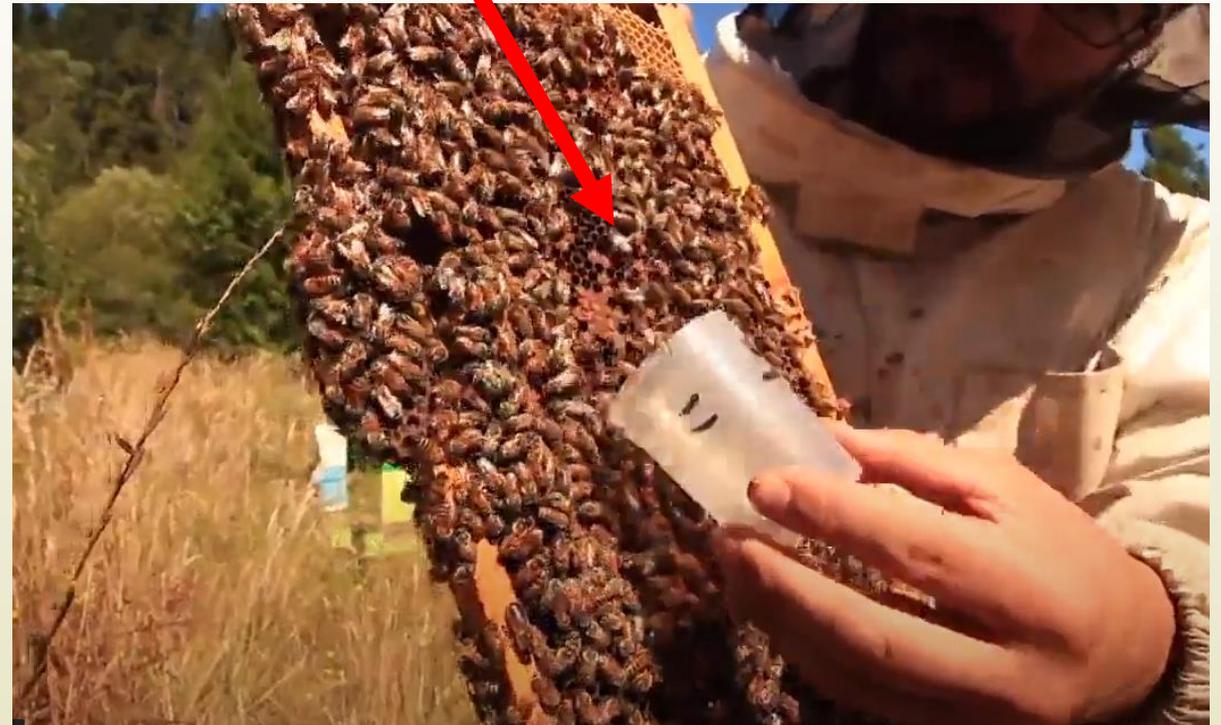
Nota: Las muestras de la misma colonia de abejas: 300 + 60 abejas llevarán la misma identificación



34

En la práctica..

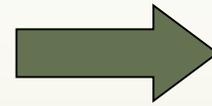
Se recomiendan **300 abejas**, mejor de panales de cría que no estén sellados (las varroas estarán presentes para invadir la celdilla antes de la operculación)



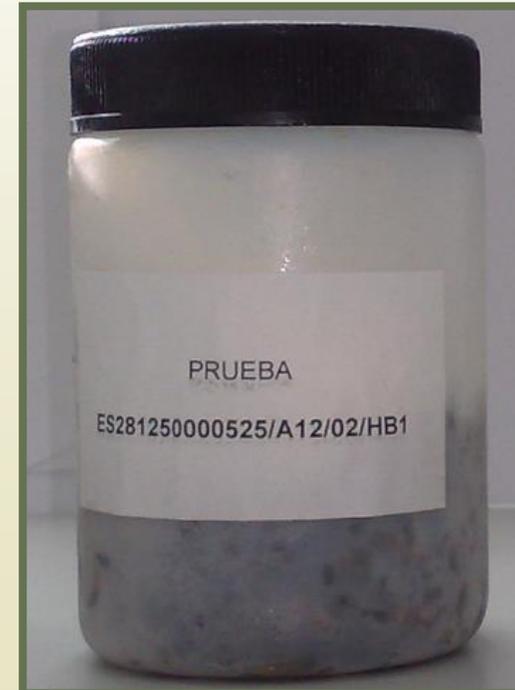
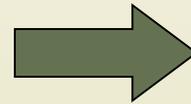
En la práctica....

Muestra de 300 abejas en una colonia:

Cepillar las abejas del cuadro



al frasco de muestra



Lee, 2010

En la práctica..

- Sacudir el cuadro sobre un sobre que haga de embudo introducido en el frasco de toma de muestra
- llenar hasta la marca de 180 mL.



Muestras recogidas (1)

Muestra **Sistemática** de abejas

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA NÚMERO DE COLMENA (asignado al azar del 1 al 13, en concordancia con la identificación recogida en las tablas de las páginas 7 y 8, que se mantendrá durante todo el estudio para evitar pérdida de trazabilidad)	Identificación interna de laboratorio	Descripción de los síntomas (si existen)
ES _____ XXXX _____ SP21/_ 01 ____/SYS1		
ES _____ XXXX _____ SP21/_ 02 ____/SYS1		
ES _____ XXXX _____ SP21/_ 03 ____/SYS1		
ES _____ XXXX _____ SP21/_ 04 ____/SYS1		
ES _____ _____ SP21/____/SYS1		

Muestreo abejas adultas CON SÍNTOMAS



Muestras de abejas sintomáticas (o muertas) (1)

- Abejas **sintomáticas vivas al menos 30**
- Abejas **muertas**
 - Preferiblemente 60 (recién muertas)
 - (si no hay suficientes vivas < 10) recoger al menos 30

- **Recoger en ENVASES DIFERENTES**

Si muertas:

- **evitar** las abejas **podridas**
- **evitar** las abejas **secas**
- **<1 semana**



Muestras de abejas sintomáticas (o muertas) (2)

➤ Embalaje:

- Pequeños contenedores de plástico (40 ml)

➤ ¿Como muestrear las abejas?

- Recoger con **pinzas** o con la **mano**
- Recoger las abejas una a una: mínimo 30
- Lleva tiempo pero es fiable.

Evitar aplastar las abejas



Identificación de las muestras

Nº apicultor / A21 (otoño 2021) / Nº colonia / matriz + nº

Ejemplo: ES-REGA/A21/05/HB1

Abreviaturas de la matriz:

- **HB** = Abejas (Honeybees)
- **BR** = Cría (Brood)
- **PAR** = Parásito
- **SYS1 /SYS2** = Sistemática
- *Observación: si varios apiarios pertenecen al mismo apicultor, cada apiario se identificará añadiendo un 1/2/etc delante del número de la colmena*
 - Ej: 26001926/A21/107/HB1
 - 26001926/A21/207/HB1



Muestras recogidas Abejas **CON** Síntomas

al menos 30 por muestra

Si se muestrean abejas muertas, porque la cantidad de abejas con síntomas no es suficiente, se muestrearán por separado y se diferenciarán de las abejas vivas con síntomas

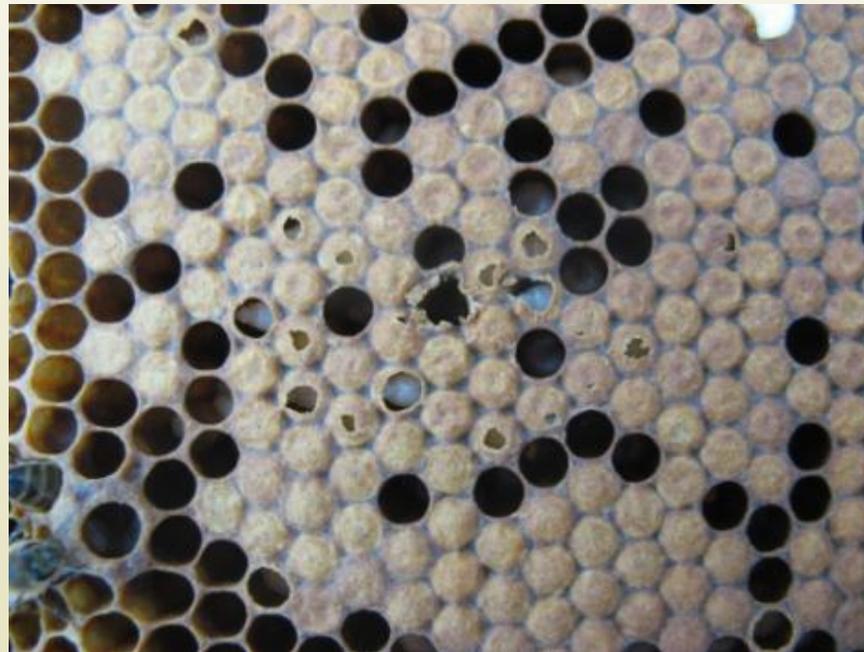
IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA NÚMERO DE COLMENA (asignado al azar del 1 al 13, en concordancia con la identificación recogida en las tablas de las páginas 7 y 8, que se mantendrá durante todo el estudio para evitar pérdida de trazabilidad)	Identificación interna de laboratorio	Naturaleza de la muestra			Enfermedad sospechosa				
		Abejas vivas externas	Abejas vivas internas	Abejas muertas	VARROSI	NOSEMOSES*	PARALISIS CRÓNICA*	INTOXICACIÓN FITOSANITARIOS	OTROS ESPECIFICAR
ES <u>xxx</u> A21/01/HB1		X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES <u>xxx</u> A21/02/HB1		<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES <u>xxx</u> A21/03/HB1		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	X	X	
ES <u>xxx</u> A21/03/HB2		X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	X	X	
ES _____ A21/___/HB_		<input type="checkbox"/>							
ES _____ A21/___/HB_		<input type="checkbox"/>							
ES _____ A21/___/HB_		<input type="checkbox"/>							

MUESTREO DE LA CRÍA

Enfermedades de la cría (1)

Tipos de muestra:

- **Panal Cría:** pieza de panal de cría de 10 x 10 cm con al menos 15 larvas y/o pupas con un aspecto anormal que justifique el análisis.



Enfermedades de la cría (2)

- ▶ **Elementos de cría sospechosos:**
 - ▶ larvas y/o pupa sintomáticas
 - ▶ escamas de loque.....
 - ▶ Viabilidad de la colmena comprometida

Nota:

Para cada enfermedad sospechada:

- ▶ Tomar distintas **muestras** (AFB, EFB...)
- ▶ **Anotar** en el **formato** de la visita.



Enfermedades de cría (3)

Embalaje:

- **Panal de Cría**, envolver en papel e introducir en:
 - Cajas de cartón
 - Sobres de envolver

No usar bolsas de plástico, evitar el aplastamiento

- **Elementos de cría sintomáticos:**
 - Tubos Eppendorf 1,5 ml
 - Recoger con espátulas de un solo uso
 - Frascos de plástico de 40 ml para colocar los tubos Eppendorf
- **Identificar las muestras**



VARROOSIS



Figura 1: cría salteada o en mosaico

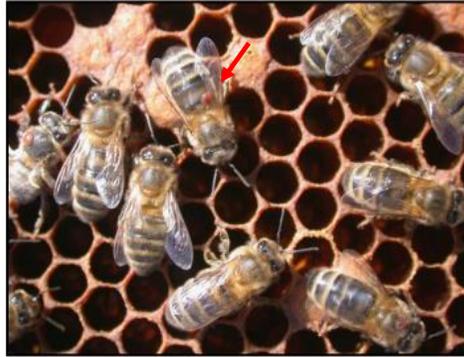


Figura 2: varroa forética



Figura 3: abejas muertas con la lengua proyectada



Figura 4: abejas con alas deformadas

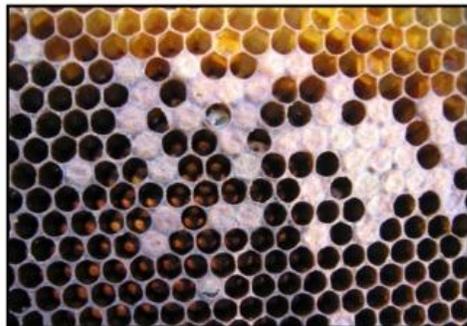
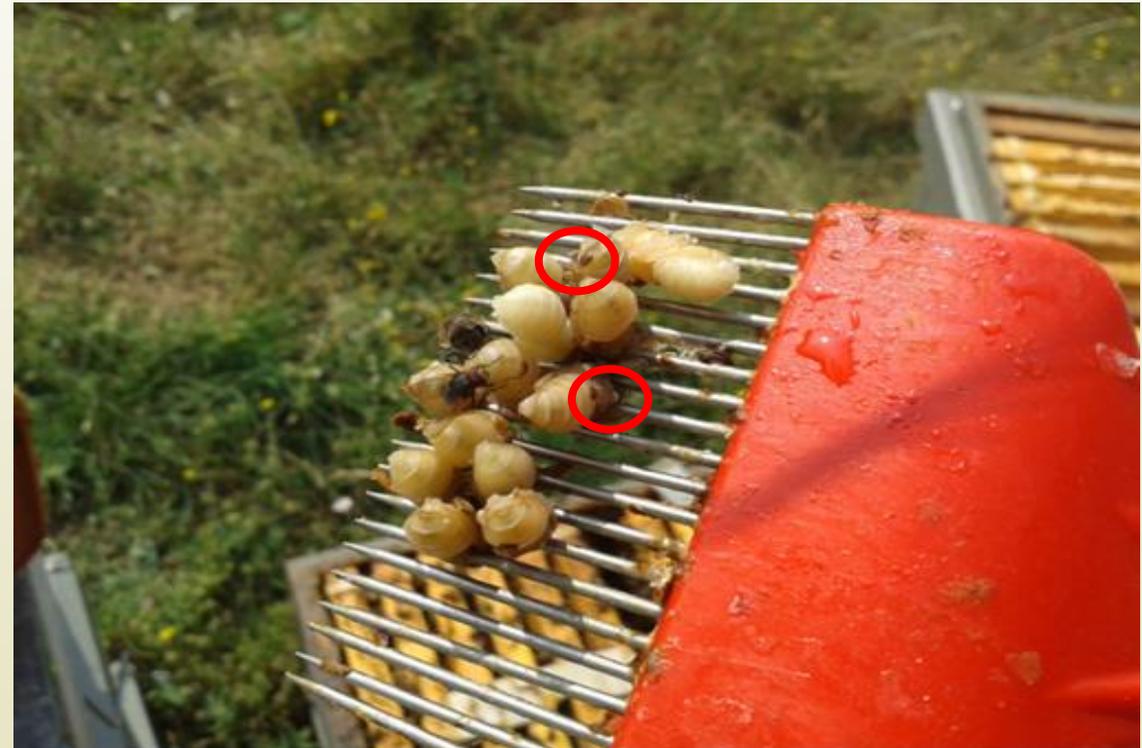


Figura 5: canibalismo de la larva o pupa



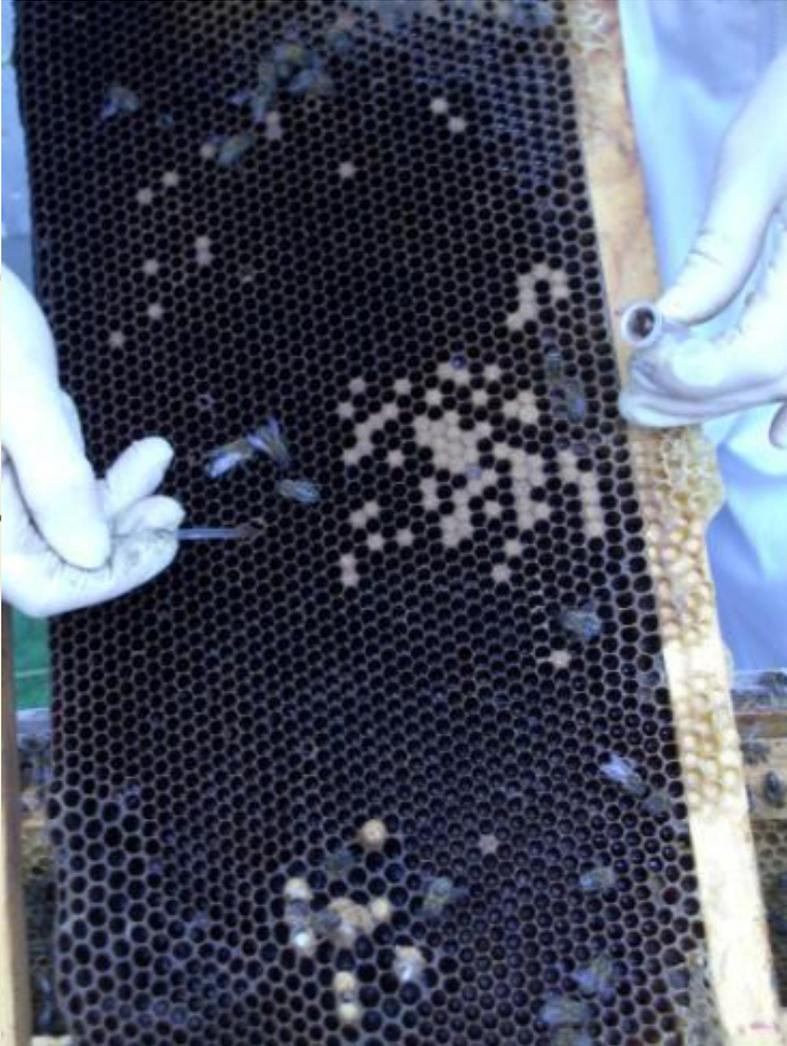
Figura 6: presencia de opérculos con pequeños agujeros

Muestreo del panal de cría

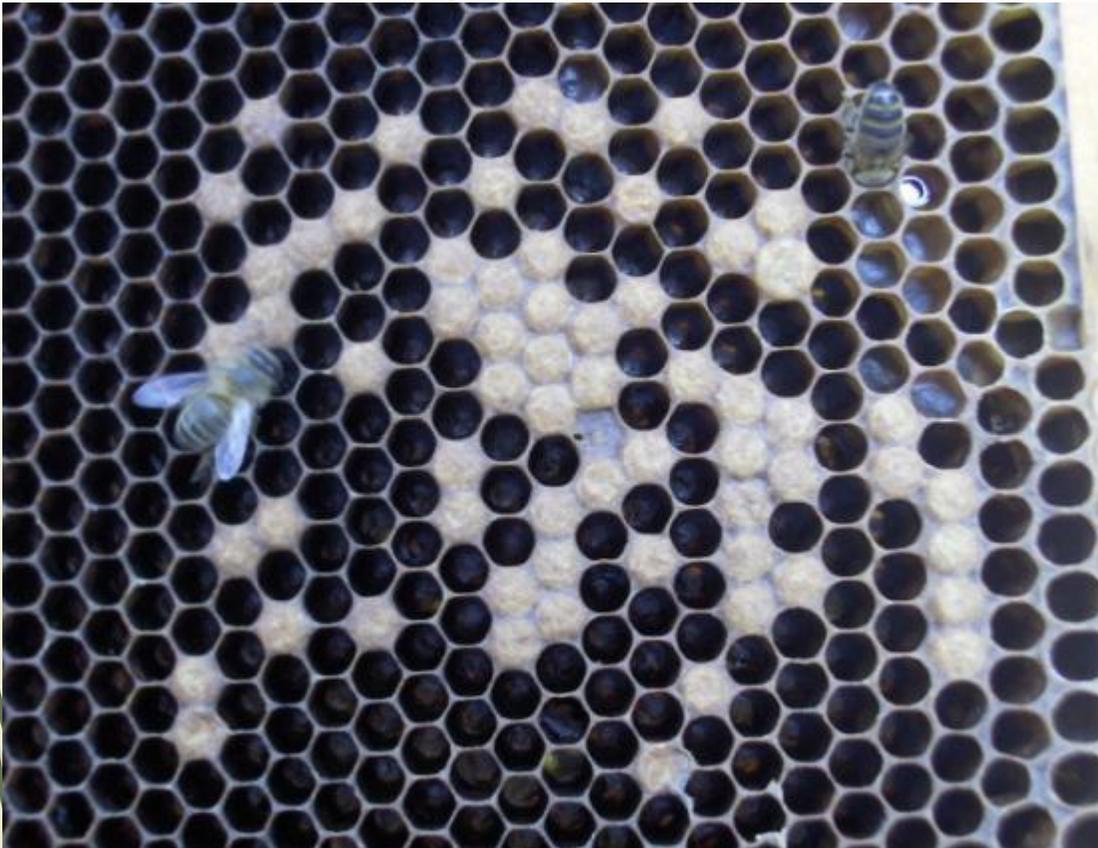




Muestreo de loque (1)



Muestreo de loque (2)



PANAL DE CRÍA

Muestreo de loque (3)



LARVA AFECTADA

Muestreo de loque (4)



LARVA AFECTADA

Muestras recogidas

Cría con Síntomas

Identificación de campo	Identificación interna de laboratorio	Naturaleza de la muestra		Enfermedades sospechadas			
		Porción de cría (cuadro)	Larvas, ninfas, escamas ...	VARROOSIS	LOQUE AMERICANA	LOQUE EUROPEA	Especificar otras
xxxx/A21/04/BR1		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
xxxx/A21/04/BR2		<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
xxxx/A21/04/BR3		<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Panales con miel y polen (análisis sospecha de intoxicación de fitosanitarios)

Toda muestra sospechosa debe ir avalada por una sospecha (anotar también en hoja de síntomas y sospechas)

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA NÚMERO DE COLMENA (asignado al azar del 1 al 13, en concordancia con la identificación recogida en las tablas de las páginas 7 y 8, que se mantendrá durante todo el estudio para evitar pérdida de trazabilidad)	Identificación interna de laboratorio	Naturaleza de la muestra			Información complementaria (si fuera necesaria)
		Panal de miel y polen	Panal de miel	Panal de polen	
ES _____ XXXX _____ A21/_01_/POL 1__		X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES _____ XXXX _____ A21/_02_/POL 2	Panal de miel y/o polen	X	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES _____ A21/___/POL		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES _____ A21/___/POL		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
ES _____ A21/___/POL		<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

Parásitos sospechosos(1)

➤ Muestras de:

- Escarabajos, larvas, huevos,...
- Ácaros distintos de *Varroa destructor*



Parásitos sospechosos (2)



Larvas



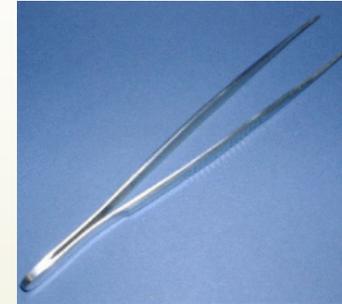
Escarabajos



Ácaros distintos de Varroa

Parásitos sospechosos (3)

- ▶ Como tomar las muestras de parásitos:
 - ▶ Con **pinzas**
- ▶ Embalaje:
 - ▶ Tubos Eppendorf con **alcohol 99°**



Formato de visita – Parásitos

Parásitos sospechosos

Por favor, recoger muestras en el caso de cualquier observación sospechosa de parásitos (escarabajos de las colmenas o ácaros diferentes a varroa)

Identificación de campo	Identificación interna de laboratorio	Naturaleza de la muestra			Información complementaria (si fuera necesaria)
		Larva de escarabajo	Escarabajo	Acaro	
XXXX/A12/03/PARO1		X			
XXXX/A12/03/PARO2			X		
XXXX/A12/05/PARO1				X	

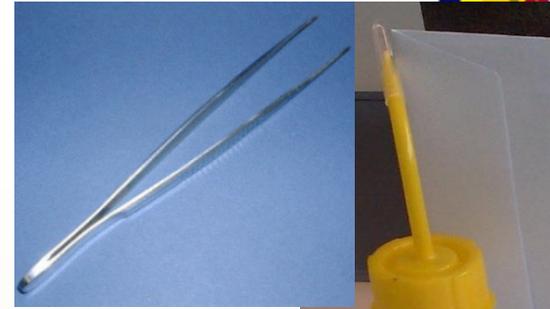
Higiene (1)

- Llevar un traje (equipo) de apicultor limpio para cada visita
- Cambiar los guantes desechables después de la inspección de cada colmena **con síntomas**.
- Utilizar material de un solo uso para recoger las muestras.



Higiene (2)

- Usar preferiblemente material de **un solo uso**
 - Ej. Espátula de plástico par investigación de la cría
- **Desinfectar** el material
 - Ej. Pinzas, cuchillo, etc.
- **Desinfectar** el material de la colmena con **calor** después de inspecciones de colonias enfermas (**Ahumador**)



Seguridad

- ▶ **Las visitas se llevan a cabo en periodos complicados**
 - ▶ Condiciones meteorológicas no óptimas para abrir las colmenas:
 - ▶ Inspección rápida pero precisa y meticulosa
 - ▶ Postponer
- ▶ **Ser cuidadoso con la reina**
 - ▶ Los cuadros deben ser manipulados por el apicultor
 - ▶ Antes de cualquier muestra el apicultor debe verificar la ausencia de la reina.





CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Conservación de las muestras

► Sistema de frío:

- En el campo:
 - Enfriadores
 - Bolsas de hielo
- Antes de enviar al laboratorio: **congelar a -20°C**

Si las muestras se congelan. Se debe poner especial atención en no romper la cadena de frío hasta que se recepcionen en el laboratorio

► Sistema de conservación con etanol

- 60 abejas (ABPV y DWV)
- Abejas sintomáticas

► Evitar cualquier riesgo de

- Aplastamiento
- Maceración/putrefacción



ENVÍO DE MUESTRAS AL LABORATORIO

- **LABORATORIOS OFICIALES CCAA**
- **LCV-Algete**
- **LAA-Aravaca:** contactar previamente con el laboratorio y con la SG de Sanidad Animal) para la facilitar la recepción de las muestras en el laboratorio

Para el caso de sistema de frío

► En el coche

- poner las muestras en neveras con enfriadores para mantenerlo lo más fresco posible

► Cadena de frío

- No se debe romper
- Si las muestras están congeladas, éstas deben permanecer congeladas hasta su análisis

► Transporte

- **Rápido:** no enviar las muestras justo antes de un fin de semana, de un festivo, huelga, etc.
- **Congeladas:** un transporte refrigerado no es suficiente.
- Los **conservadores de frío** no son suficientes una vez que las muestras han sido congeladas.

En todos los casos incluir una copia del formato de visita con las muestra. (las hojas relacionadas con la **toma de muestras**)

Sospecha de una enfermedad notificable o parásito exótico

- **Comunicar a:**
 - la **autoridad competente**
 - El **Laboratorio Nacional de Referencia**
- **Si hay parásitos sospechosos:**
 - Enviar urgentemente las muestras al LNR



Larva sospechosa



Escarabajo sospechoso



Ácaro sospechoso
Diferente de Varroa

Conclusión

- La **importancia de la calidad de la muestra** es crucial para la calidad de los resultados analíticos
- Aunque alguna **flexibilidad** es necesaria para adaptar las limitaciones del campo

Muchísimas gracias por vuestra atención y dedicación!

