

# Manual Veterinário de Colheita e Envio de Amostras



2010



**Organização  
Pan-Americana  
de Saúde**

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA  
DE SALUD ANIMAL  
ORGANISATION PANAMÉRICAINNE  
DE SANTÉ ANIMALE

# ABELHAS

*Apis mellifera*

**Autores**

Érica Wainstein Teixeira  
Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios  
IAPTA, SAA-SIT

Dejar Mesozo  
Universidade Federal de Viçosa UFV

# Material para colheita de amostras para diagnóstico de doenças que afetam Abelhas *Apis mellifera*

## IMPORTANTE

\*Sempre utilize o método descrito na  
página 46 para garantir a segurança dos  
operadores e a saúde das abelhas.  
Evite a utilização de produtos químicos  
e pesticidas nas áreas de coleta  
de amostras em colmeias.

KIT EPI – Equipamento  
de proteção individual



Fumigador



Fornido



Faca



Caneta do tipo marcador permanente



Saco plástico



Caixa isolante  
com gelo resfriado



Lápis e caneta  
esferográfica



Pinça



Jornal



Luvas de látex



Pincel limpo



Tubos tipo "Eppendorf"



Etiquetas



Envelope



Papel



Espuma



Pote plástico  
universal



Pote plástico  
universal perfurado



Pote plástico  
de 500 ml

## Garantindo a segurança

Antes de dirigir-se ao apiário, o profissional deverá vestir-se adequadamente com o equipamento de proteção individual (EPI), acender o fumigador e pegar o formão.

### TRABALHAR EM DUPLA

O trabalho de colheita deverá ser executado sempre em dupla, um indivíduo controlando as abelhas com fumigador e outro colhendo as amostras.



O fumigador é indispensável, pois a fumega, no quartelão morto, permite controlar a movimentação das abelhas.

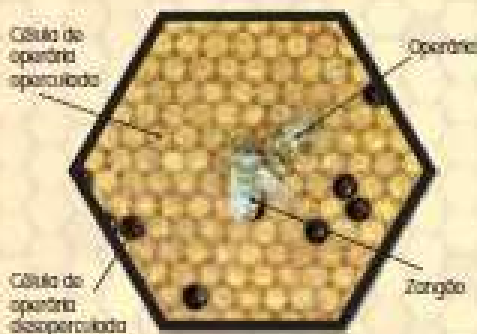


## Reconhecendo as partes de uma colmeia



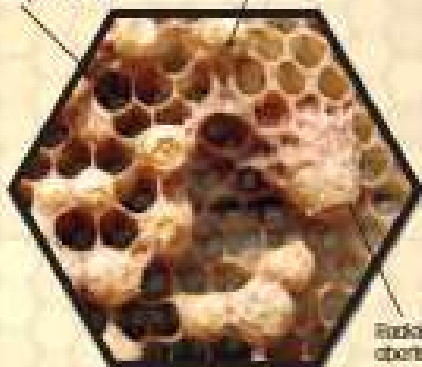
Colmeia Langstroth ou postilha, despojada, em cavalete de madeira

## Identificando os indivíduos da colônia, células de operárias, células de zangão e realeira



Célula de zangão desoperculada

Célula de zangão operculada



Folheto aberto

Folheto fechado





## Abrindo e inspecionando uma colmeia

### 7º Passo

Abrindo a colmeia e controlando o comportamento defensivo das abelhas.



- ✓ Fazer fumaça no divado;
- ✓ Levantar a tampa;
- ✓ Fazer fumaça paralela à superfície dos quadros;
- ✓ Fechar a colmeia por 1 minuto;

**Mantém o fumigador cerca de 35 cm da colmeia**

- ✓ Abre a tampa novamente e faz fumaça paralela à superfície dos quadros;





**Certificar-se de que a rainha não está na tampa**



✓ Apoiar a tampa no chão com a parte interna para cima, colocando sobre ela um melgueirato ou qualquer outro aparato utilizado pelo aplicador. Ex.: Alimentador de topo, coletor de pólen, coletor de própolis, tela excludora etc.]

**2º Passo** - Inspeccionando a área de cria;

**NOTA:**

Localização  
mais provável  
da área de cria.

Ninho



- ✓ Com o auxílio do formão, descolar os quadros do ninho (devido à propolisagem);
- ✓ retirar um quadro da área de cria.

• Realizar a inspeção dos quadros da área de cria.  
**Certificar-se de que a rainha não está presente nesse quadro e, caso esteja, transferi-la cuidadosamente para outro quadro ou permitir que ela o faça espontaneamente.**



Para facilitar a visualização das crias, se necessário, chocar o quadro suavemente para dentro da colmeia ou utilizar um pequeno ramo de planta para afastar as abelhas adultas que estão cobrindo o área de cria.

# Fases do desenvolvimento das abelhas

Durante seu ciclo de vida, as abelhas passam por quatro diferentes fases: ovo, larva, pupa e inseto adulto

## DIFERENTES FASES DO DESENVOLVIMENTO DAS ABELHAS – CRIAS NORMAIS

### Ovo

No primeiro dia, encontra-se na posição vertical, no segundo dia inclinado e, no terceiro dia, passa a ficar na posição horizontal



### Larva

#### Fase larval

#### Pré-pupa



Diferentes sub-estágios do desenvolvimento larval, incluindo pré-pupa

Diferentes estágios da fase larval. Crias desoperculadas e operculadas

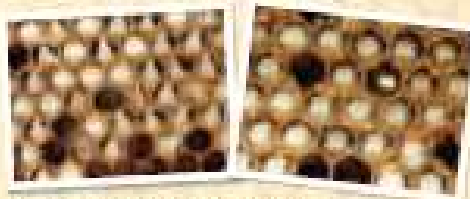


## Pupa

### Fase de pupa



Diferentes estágios da fase de pupa (pupa de olho branco, pupa de olho rosa, pupa de olho rosa-escuro e pupa de olho marrom) com pigmentação fotócica do leve à total.

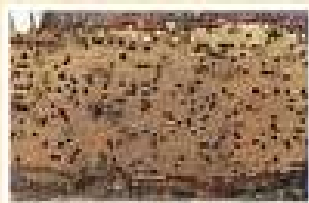


Pré-pupa e pupa em diferentes estágios, desoperculadas, para permitir a visualização.

Crias saudáveis normalmente são vigorosas e apresentam-se na fase larval no fundo dos ovócelos, em forma de "C" desoperculadas. Após 5 a 6 dias, essas larvas são operculadas com careca, mudando constantemente a sua posição até ficarem retas nos ovócelos, com o dorso do corpo na parede lateral do ovócelo (pré-pupa). Nessa fase, ela cessa seus movimentos e prepara-se para modificações, transformando-se em pupa. Desde aqui, passando por todos os estágios de larva, até o estágio inicial de pupa, a cria apresenta-se com coloração branco-pálida em todo o corpo. Ao longo da fase de pupa, ocorrem mudanças graduais na pigmentação dos olhos e dos segmentos do corpo.

## Diferentes anomalias na fase de cria

Para reconhecer os sintomas das doenças é importante estar familiarizado com as características das diferentes fases do desenvolvimento das crias e com a aparência de um frasco com crias saudáveis.



Quadro com frasco de criação normal.



Quadro com frasco de criação torçosa



## Exemplos de possíveis alterações na aparência das crias



Cria mumificada

Cria com alteração de cor e/ou ressecada



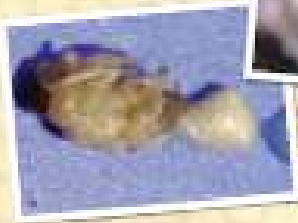
Cria colada na parede do alvéolo com alteração de cor e mancha



Cria no fundo do alvéolo com alteração de cor e mancha



Cria com alterações de consistência laqueada



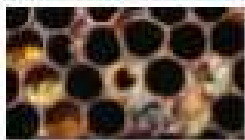


Principais doenças, intoxicações  
e parasitoses que afetam  
**CRIAS DE ABELHAS - *Apis mellifera***

**Cria Pútrida Americana  
ou Loque Americana**

Agente causador  
*Bactéria Paenibacillus larvae*

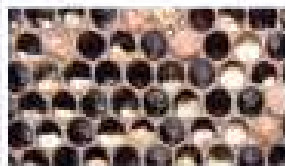
Fase de desenvolvimento da cria afetada:  
Pré-pupa e pupa.



**Cria Pútrida Europeia ou Loque Europeia**

Agente causador  
*Bactéria Melissococcus plutarius*

Fase de desenvolvimento da cria afetada:  
Geralmente larva desoperculada em fase de  
alimentação; algumas vezes cria operculada



## Cria Giz

**Agente causador**

Fungo *Ascoasphaera aptis*

**Fase de desenvolvimento da cria afetada**

Crias já eborizadas, pré-pupa e pupa (focam mumificadas)



## Cria Ensecada

**Agente causador**

Vírus SBV (Sac Broad Virus)

**Fase de desenvolvimento da cria afetada**

Pré-pupa não consegue passar para pupa!



## Cria Ensacada Brasileira

### Agente causador

Rólula da planta barbatimão (*Stryphnodendron spp.*)

### Fase de desenvolvimento da cria afetada:

Pré-pupa (não consegue passar para pupa)



## Cria com asa deformada

### Agente causador

Vírus DWV (Deformed Wing Virus), ou, eventualmente, Varroa (por ação física)

### Fase de desenvolvimento da cria afetada:

Pupa, próxima à emergência ou nascimento (quando o sintoma é evidente)



## Crias Anômalas

**Agente causador**

Causa indeterminada

**Fase de desenvolvimento da cria afetada**

Pupio



## Varroatose

**Agente causador**

Acaro ectoparasita Varroa destructor  
(na fase de reprodução)

**Fase de desenvolvimento da cria afetada**

Cria já aperçulada



## Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam CRÍAS DE ABELHAS - *Apis mellifera*

Antes de iniciar a coleta da amostra, faça uma observação minuciosa dos favos na área de cria. Nos quadros que apresentarem falhas (conforme apresentada na página 188), procure detectar a presença de crías com alterações na cor (mudança de branco-pálido para marrom claro a escuro), manchas, contorcidas nas paredes dos alvéolos ou mumificadas.

### Colheita de crías para análise

Para diagnóstico da doença, colher 4 amostras diferentes:

#### Amostra 1

##### 1. Onde colher

No ninho

##### 2. O que colher

Favos falhados e com crías anormais, sem mel

##### 3. Como colher

Com a faca, entre os crames do quadro, cortar pedaços de favo em uma região com crías suspeitas

#### NOTA

Realizar as coletas de amostras utilizando luva descartável de látex sobre as de borracha e descartá-la, entre uma e outra coleta, em solo de lixo, lavando-a em seguida.





#### 4. Quantidade

Pedaços de larva contendo o máximo possível de crías anormais – 3 a 5 pedaços de larva de aproximadamente 3x3 cm a 3x10 cm, preferencialmente entre os arames do quadro. Pode também ser o larvo inteiro



#### 5. Recipiente

Envolver as amostras de larva em papel jornal ou outro tipo de papel não encerado.  
**Atenção:** Nunca envolver em plástico ou papel alumínio, nem colocar em frasco fechado

#### 6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

#### 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

#### 8. Exatidão

Isolamento/Identificação

Análise microscópica e/ou molecular, se o material estiver preservado

## Amostra 2

### 1. Onde coletar

No ninho

### 2. O que coletar

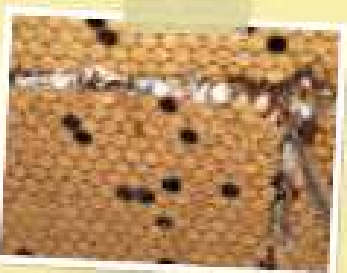
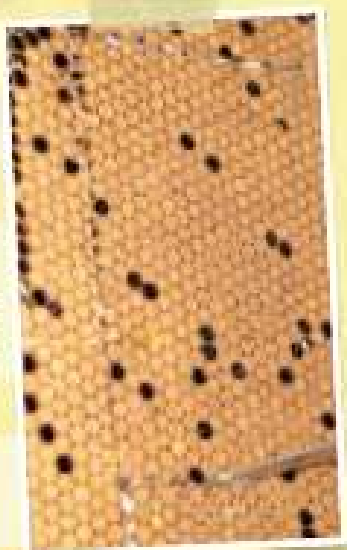
Favas contendo crías operculadas (preferencialmente, sem mel e com pupas mais velhas, de olho escuro)

### 3. Como coletar

Com uma faca, cortar um pedaço de favo com crías

### 4. Quantidade

Pedaco de favo de aproximadamente 3x10 cm (contendo pelo menos 100 crías operculadas)



## 5. Recipiente

Envolver os pedaços de larva em papel jornal ou outro tipo de papel não encerado.

**Atenção:** nunca envolver em plástico ou papel alumínio, nem colocar em frasco fechado



## 6. Temperatura da maleta para transporte

Ambiente

## 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

## 8. Entressa

Avaliação da taxa de infestação de crías por *Vermis destructor* (var. *oaxacoi*)



## Amostra 3

### 1. Onde coletar

No ninho

### 2. O que coletar

Crias anormais

### 3. Como coletar

Com uma pinça, coletar individualmente, crias anormais

### 4. Quantidade

Elevar colheita individual de aproximadamente 20 crias ou todas, se forem menos de 20

### 5. Recipiente

Dividir as amostras em 2 partes iguais e colocar em:

- a) Tubos tipo "Eppendorf" de 1,5 ou 2,0 ml. - colocar uma cria suspensa por tubo





- b) Papel ofício comum  
- esmagar a amostra  
ou dobrar o papel  
e colocar o papel dentro  
de um envelope



## 6. Temperatura da amostra para transporte

a) Congelada (-20°C). Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

b) Ambiente

## 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

## 8. Exames

Análise microscópica, microbiológica e/ou molecular

## Amostra 4

### 1. Onde colher

No ninho

### 2. O que colher

Pedago de favo contendo mel aporculado (na parte superior do favo de cria - caso não encontre, colher mel desaporculado)



### 3. Como colher

Com uma faca, cortar a parte superior do favo contendo mel (entre o anel e a madeira do quadro)

### 4. Quantidade

Quatro pedagos de aproximadamente 3x7 cm (a amostra pode conter pólen)





Pólen armazenado

Mel operculado

Detalhe do favo contendo mel operculado e pólen armazenado no alvéolo (também chamado de "pão de abelha")

### 5. Recipiente

Colocar as amostras em frascos plásticos de 500 g a 1 kg. Fechar bem, colocando em seguida cada frasco em saco plástico

### 6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

### 7. Tempo crítico para chegada no laboratório

Até 48 horas

### 8. Exatidão

Análise para espores de *F. larvale* e presença de pólen de barbatimão

## Principais doenças, intoxicações e parasitoses que afetam **ABELHAS ADULTAS - *Apis mellifera***

### **Nosemose**

#### **Agente causador**

Microsporídeos, *Nosema apis* e/ou *Nosema ceranae*

#### **Sintomas clínicos**

Diarreia, quando causada por *N. apis*;  
Sintoma inespecífico, quando causada por *N. ceranae*

### **Acanose**

#### **Agente causador**

*Acanis endoparasitas*, *Acarapis woodi*,  
dentro outras espécies

#### **Sintomas clínicos**

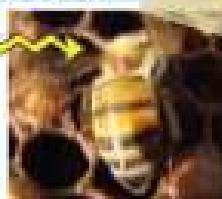
Inespecífico

### **Varroatose**

#### **Agente causador**

Ácaro ectoparasita, *Varroa destructor*

Constatação visual  
da presença do ácaro  
sobre as abelhas



## **Viroses:**

### **Agente causador:**

Cerca de 18 diferentes vírus podem infectar abelhas, dentre as quais podem ser citados Black Queen Cell Virus (BQCV) - Filamentous Virus (FV) - Deformed Wing Virus (DWV) - Chronic Bee Paralysis Virus (CBPV) - Acute Bee Paralysis Virus (ABPV) - Israeli Acute Paralysis Virus (IAPV) e Cloud Wing Virus (COWV).

### **Sintomas clínicos:**

Inespecíficas, muito embora, alguns sintomas tenham sido associados a viroses, tais como: abelhas com asas deformadas dentro e na frente da colmeia, abelhas sem pelos e com aspecto brilhoso, abelhas com asas opacas e abelhas com tremores.



## **Intoxicações por agrotóxicos**

### **Agente causador:**

Constituintes químicos de inseticidas e de outros defensivos agrícolas.

### **Sintomas clínicos:**

Grande quantidade de abelhas mortas fora e/ou dentro da colmeia.



## Amostras para diagnóstico das principais doenças que afetam **ABELHAS ADULTAS** - *Apis mellifera*

Em abelhas adultas, geralmente, não ocorrem sintomas característicos de cada doença. O que se observa comumente é a presença de algumas abelhas adultas moribundas na entrada da colmeia (alvodo) ou no chão, resojando em momentos. Quando ocorre mortalidade por algum tipo de insalubridade, observa-se maior quantidade de abelhas mortas no chão na frente da colmeia e, algumas vezes, no fundo da colmeia. Eventualmente, certas viroses e parasitas podem produzir sintomas específicos (tais como ados, ausência de pólen, entre outros).

### Colheita de abelhas adultas para análise

Para diagnóstico das doenças e infestações de abelhas adultas, colher **5 amostras diferentes**:

#### Amostra 1

##### 1. Onde colher

Na frente da colmeia (no solo) e na entrada da colmeia (alvodo)



### NOTA

Separável, um dia antes da colheita, colocar um par de 3 metros na frente de cada colmeia, para facilitar a visualização das abelhas que estão moribundas.



Frasco de plástico tipo universal perfurado na tampa e nas laterais

### 6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

### 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

### 8. Exatidão

Deteção de esporos de *Nosema* spp., ácaros endoparasitas e protozoários

### 2. O que colher

Abelhas adultas ainda vivas e moribundas (trastejando e sem conseguir voar)

### 3. Como colher

Com o auxílio de uma pinça, colher as abelhas moribundas

### 4. Quantidade

Cerca de 30 abelhas ou mais por colmeia

### 5. Recipiente

Frasco de plástico tipo universal perfurado na tampa e nas laterais

### 6. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

### 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 48 horas

### 8. Exatidão

Deteção de esporos de *Nosema* spp., ácaros endoparasitas e protozoários



## Amostra 2

### 1. Onde colher

No entrada da colmeia (alvado)

### 2. O que colher

Abelhas adultas campeiras que estão chegando

### 3. Como colher

Fechar a entrada da colmeia (alvado) com uma tira de espuma comum e colher as abelhas que estão chegando dentro de um frasco plástico tipo universal, contendo álcool 70%.



#### NOTA

Para a coleta de abelhas no alvado, pode-se utilizá-las, utilizando-se um pedaço de madeira ou, alternativamente, uma fita comum (plástico) tingida com um pouco de tinta com um diâmetro de 4 a 5 cm de largura.





#### 4. Quantidade

Cerca de 30 abelhas ou mais, por colmeia

#### 5. Meio

Alcool 70%. No frasco, deixar 5mm de álcool acima das amostras de abelhas

#### 6. Recipiente

Frasco plástico tipo universal contendo álcool 70%  
Atenção: fechar bem o frasco, colocando cada frasco em um saco plástico. Em seguida, colocar em caixa de papelão com divisórias entre os frascos.

#### 7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

#### 8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 72 horas

#### 9. Exames

Deteção de esporos de *Nosima* spp., ácaros endoparasitas e protozoários

## Amostragem 3

### 1. Onde coletar

Dentro da colmeia

### 2. O que coletar

Abelhas adultas que estão cobrindo a área de cria

### 3. Como coletar

Suspenda um fôlego de cria. Com o auxílio de um frasco de plástico tipo universal, posicionado obliquamente e amassado de baixo para cima, colher as abelhas dentro do frasco.





#### 4. Quantidade

Cerca de 10 abelhas por colmeia

#### 5. Recipiente

Frascos plásticos tipo universal

#### 6. Temperatura da amostra para transporte

Congelada (-20°C)  
Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

#### 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

#### 8. Exame

Análise molecular

## Amostra 4

### 1. Onde colher

Dentro da colmeia

### 2. O que colher

Abelhas adultas que estão cobrindo a área de cria

### 3. Como colher

Suspendar um frasco de cria. Com o auxílio de um frasco de plástico de 500 mL contendo 250 mL de álcool 70%, posicionado obliquamente e amarrado de baixo para cima, colher as abelhas dentro do frasco



#### 4. Quantidade

Cerca de 200 a 300 abelhas por colmeia

#### 5. Meio

Alcool 70%. No frasco, deixar 5mm de álcool acima das amostras de abelhas.



#### 6. Recipiente

Frasco plástico de 500 mL  
(contendo álcool 70%)

**Atenção:** fechar bem o frasco, colocando cada frasco em um saco plástico. Em seguida, colocar em caixa de papelão com divisórias entre os frascos



#### 7. Temperatura da amostra para transporte

Ambiente

#### 8. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 72 horas

#### 9. Escopo

Determinação da taxa de infestação de ácaros endoparasitas

## Amostra 5

### 1. Onde colher

Na frente e/ou  
no fundo de  
cada colmeia

### 2. O que colher

Abelhas adultas  
moribundas e/ou  
mortas

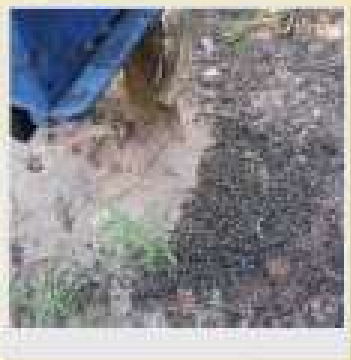
**Importante:** Colher  
abelhas mortas  
somente se a  
mortalidade tiver  
ocorrido um dia  
antes da colheita

### 3. Como colher

Com o auxílio de  
uma pinça ou  
com a própria  
mão utilizando  
luvas descartáveis,  
colher as abelhas  
moribundas e/ou  
recentemente mortas



© 2011





Fonte: Adaptado de

#### 4. Quantidade

Cerca de 300 a 500 abelhas nas proximidades de cada colmeia

#### 5. Recipiente

Frasco plástico com capacidade de 1 kg

#### 6. Temperatura da amostra para transporte

Congelada (-20°C). Congelar imediatamente as amostras, mantendo o material em freezer até o envio para o laboratório

#### 7. Tempo crítico para chegada ao laboratório

Até 24 horas

#### 8. Exames

Deteção de inseticidas e outros defensivos agrícolas



Ministério da Agricultura, Pecuária e  
Abastecimento - MAPA  
Departamento de Saúde Animal  
Espaço dos Ministérios - Bloco D, Anexo A,  
Sala 301

70045-900 - Brasília, DF - Brasil  
Tel.: 00 55 61 3218-2701 • Fax: 00 55 61 3226-3446  
<http://www.agricultura.gov.br>  
0800 - 7041995

Organização Pan-Americana  
da Saúde - OPA/S/OAS  
Saúde Pública Veterinária  
Centro Pan-Americano da Febre Aftosa -  
PANAFOSA  
Av. Presidente Kennedy, 7778 - CEP: 25040-004  
Duque de Caxias, Rio de Janeiro - Brasil  
Tel.: 00 55 21 3661-9000 • Fax: 55 21 3661-9001  
<http://www.panafosa.org.br>

Secretaria de  
Saúde Agropecuária

Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento



Organização  
Pan-Americana  
da Saúde

Secretaria de Saúde  
Agropecuária  
Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento