

## INFESTACIÓN POR *AETHINA TUMIDA* (ESCARABAJO DE LAS COLMENAS)

---

### RESUMEN

**Descripción e importancia de la enfermedad:** El pequeño escarabajo de las colmenas, *Aethina tumida* (Murray 1867) (orden Coleoptera: familia Nitidulidae), es un parásito depredador de las abejas melíferas. Los adultos y las larvas del pequeño escarabajo de las colmenas se alimentan de las crías de las abejas melíferas y de la miel y el polen. Al alimentarse en reservas de alimento, la miel restante fermenta y el panal se destruye. Los escarabajos pueden causar el hundimiento estructural del nido y hacer que las abejas melíferas adultas se dispersen procedentes de colonias gravemente infestadas. El alcance de los daños causados por estos escarabajos de las condiciones climáticas, de la fuerza de la colonia y de otras condiciones. Los pequeños escarabajos de la colmena tienden a ser más problemáticos en zonas con temperaturas cálidas y humedades altas. El pequeño escarabajo de la colmena constituye un serio problema para las salas de extracción de miel donde los panales, la miel y los opérculos de cera guardados se convierten en posibles lugares de alimentación y de cría. El paso del escarabajo de huevo a adulto requiere entre 3 y 12 semanas, dependiendo de la humedad, la temperatura y la disponibilidad de alimento. Los escarabajos voladores adultos infestan de forma activa las colonias de abejas melíferas de cualquier concentración y tamaño.

**Identificación del agente:** La infestación por el pequeño escarabajo de las colmenas puede reconocerse de forma indirecta, por los daños infligidos a la colonia entera relacionados con el escarabajo, o de forma directa en los huevos, las larvas y los adultos. Se puede realizar un diagnóstico precoz tras abrir la colonia y encontrar escarabajos adultos bajo la tapa de la colonia, en la tabla que sirve de fondo a la colmena o escondidos en los panales (sobre todo en panales periféricos). El diagnóstico definitivo de laboratorio se logra a partir de un examen morfológico bajo estereomicroscopio. La prueba de confirmación es una reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

**Pruebas serológicas:** No existen pruebas serológicas aplicables.

**Requisitos para las vacunas:** No se dispone de vacunas.

### A. INTRODUCCIÓN

El pequeño escarabajo de las colmenas (a partir de ahora denominado “escarabajo”), *Aethina tumida*, del orden Coleoptera: familia Nitidulidae (Murray 1867), es oriundo del África subsahariana (Hepburn & Radloff, 1998) pero se ha hallado en los Estados Unidos de América (1996). Desde entonces, se ha propagado a Canadá y a varios países de Sudamérica y de Centroamérica. Se ha hallado *Aethina tumida* en Australia, Egipto, Italia, Corea y las Filipinas (Interfaz WAHIS de la OIE, fecha de acceso: 20/06/2017; Lee *et al.*, 2017).

#### 1. Ciclo biológico

Los adultos infestantes del escarabajo se aparean en la colonia y los escarabajos hembra ponen varios huevos agrupados de forma típica en las pequeñas grietas, o dentro de las crías operculadas (Cuthbertson *et al.*, 2013; Ellis, 2005; Lundie, 1940). Dentro de una colonia, en determinadas situaciones, pueden aparecer más de 1.000 escarabajos adultos (Elzen *et al.*, 1999). Los escarabajos adultos pueden sobrevivir hasta 12 meses (los registros indican hasta 16 meses en los laboratorios; Somerville, 2003), pero las hembras mueren rápidamente tras la oviposición diaria (Neumann *et al.*, 2016) y las hembras pueden poner unos 1.000 huevos a lo largo de su vida (Lundie, 1940), aunque Hood (2004) sugirió que el límite máximo podría ser de 2.000 huevos. El éxito de la

eclosión de los huevos es proporcional al grado de humedad relativa, y eclosionan menos huevos con humedades relativas inferiores al 50%. Las larvas emergen de los huevos tras 1–6 días (la mayoría en un plazo máximo de 3 días) y se alimentan de polen, miel y crías de abeja (Lundie, 1940; Schmolke, 1974). Los escarabajos adultos pueden ser alimentados por las abejas obreras por trofalaxia, sobre todo mientras están confinados en “prisiones” vigiladas por las abejas (Ellis, 2005). El crecimiento de las larvas suele durar unas 2 semanas (8–29 días dependiendo de la disponibilidad de alimento y de la temperatura; de Guzman & Frake, 2007; Ellis *et al.*, 2002b Lundie, 1940; Schmolke, 1974). A continuación, las larvas alcanzan la fase deambulatoria y abandonan la colonia para convertirse en pupa en el suelo de las proximidades de la colonia (Lundie, 1940). La conversión en pupa dura unas 2 a 12 semanas, dependiendo de la temperatura y la humedad del suelo (Ellis *et al.*, 2004). Al entrar en la fase adulta, abandonan el suelo y pueden volar a en busca de nuevas colonias hospedadoras, completándose de esta forma su ciclo biológico. En condiciones de laboratorio, el escarabajo puede sobrevivir y reproducirse en fruta muy madura o podrida Buchholz *et al.*, 2008).

## 2. Repercusiones de la plaga

El escarabajo casi nunca supone un problema grave en el África subsahariana. Se desconocen aún las razones de que el impacto que ocasiona sea distinto en colonias de su ámbito nativo originario y en las de los nuevos ámbitos en los que actúa (Ellis & Hepburn, 2006). Entre ellas, cabe mencionar las diferencias cuantitativas entre el comportamiento de las subespecies de la abeja melífera africana y el de las subespecies de la abeja melífera europea, así como las diferencias entre las diferentes técnicas de apicultura utilizadas, las diferencias climáticas y/o la evitación de enemigos naturales, entre otras posibles hipótesis (Hood, 2004; Neumann & Elzen, 2004).

Mientras que el daño producido a las colonias de abejas por escarabajos adultos es relativamente escaso, estos mismos adultos pueden causar la dispersión de las colonias (es decir, que las abejas adultas abandonen completamente el nido, Ellis *et al.*, 2003). Si estas no lo impiden, la conducta alimentaria de las larvas, que a menudo va asociada a la fermentación de la miel almacenada, causa un grave daño a los panales y, a menudo, desemboca en el colapso total de la estructura del nido (Lundie, 1940). Las pérdidas económicas también se pueden asociar a la infestación por escarabajos en la sala de extracción de miel. Las condiciones ambientales generalmente asociadas a las salas de extracción, como temperaturas y humedades altas, proporcionan unas condiciones óptimas para el desarrollo de los escarabajos. La reproducción oculta y de bajo nivel también puede realizarse en los despojos o debajo de los cuadros de la colmena sin que se observen signos del daño causado a la colonia (Spiewok & Neumann, 2006).

## B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

**Tabla 1.** Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de Infestación por *Aethina tumida* y su propósito

Método	Propósito					
	Demostrar ausencia de infestación en la población	Demostrar ausencia de infección en panales individuales o en el nido de las abejas antes de los desplazamientos	Contribuir a las políticas de erradicación	Confirmar casos clínicos	Determinar la prevalencia de la infestación – vigilancia	Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación
<b>Identificación del agente</b>						
Morfología	+++	+++	+++	+++ (adultos) + (larvas)	+++	n/a
PCR en tiempo real	++	++	++	++	+	n/a

Clave: +++ = método recomendado, validado para este propósito; ++ = método idóneo pero que puede precisar una posterior validación; + = puede utilizarse en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad y otros factores limitan mucho su aplicación; – = no adecuado para este propósito; n/a = no aplicable.  
PCR = reacción en cadena de la polimerasa

## 1. Detección a nivel de campo

### 1.1. Escarabajos adultos

El primer signo de la infestación por el escarabajo es la presencia de escarabajos adultos (Figura 8). Los escarabajos adultos miden unos ~5 mm de largo por ~3 mm de ancho, y las hembras son ligeramente más largas que los machos (Ellis *et al.*, 2001). Los adultos son de un color entre marrón oscuro y negro (más claro después de la eclosión). Durante las inspecciones, los escarabajos adultos huyen de la luz, se esconden, y se pueden ver corriendo para ponerse a cubierto en las esquinas o, de forma similar, sobre los panales. Los adultos pueden confundirse con escarabajos nitidúlidos, que también pueden asociarse a las colonias (para más detalles, consúltese el apartado 2.2.3; Ellis *et al.*, 2008, Marini *et al.*, 2013 y Neumann & Ritter, 2004).

### 1.2. Huevos, larvas y pupas del escarabajo



**Fig. 1.** Huevos del escarabajo. Fotografía de Josephine Ratikan, Universidad de Florida.

Los huevos del escarabajo (Figura 2) son blancos y miden unos 1,4 × 0,26 mm (longitud por anchura), 2/3 del tamaño de un huevo de abeja melífera, y son depositados en grupos en la tabla que sirve de fondo a la colmena, en los panales y debajo de los opérculos de las celdillas de la progenie. Las larvas (Figura 3) son de color blanquecino, pueden medir hasta 1 cm (fase deambulatoria), y tienen tres pares de patas y espículas dorsales. Las larvas pueden encontrarse minando los panales de cera (Lundie, 1940) o en las deyecciones de la colonia (Spiewok & Neumann, 2006). Las infestaciones larvarias se asocian con un olor a podrido debido a la muerte de la progenie de abejas melíferas y/o a la fermentación de la miel almacenada. Al deambular, las larvas suelen dejar rastros de una sustancia viscosa (o “limo”) dentro y fuera de la colonia (Figura 4). Una vez en el suelo, las larvas excavan pequeñas cámaras de población (Figura 5) ubicadas a 1–20 cm de profundidad en el suelo (Pettis & Shimanuki, 2000), se convierten en pupas (Figura 6, blanquecinas a marrón oscuro en función de la edad, de unos 5 mm de largo y 3 mm de ancho) y después en adultos. La mayoría de larvas excavan túneles hacia el interior del suelo que se encuentran a menos de 180 cm de la colonia (Pettis & Shimanuki, 2000).



**Fig. 2.** Vista dorsal (izda.) y ventral (dcha.) de una larva de escarabajo. Fotografías de Josephine Ratikan, Universidad de Florida.



**Fig. 3.** Daños al panal atribuidos a los hábitos de alimentación/reptación de las larvas del escarabajo. Obsérvese el “limo” sobre el marco (es decir, el panal de cera tiene un aspecto “húmedo” y “brillante”). Ello se debe a la fermentación de la miel, que las larvas reptantes distribuyen alrededor del panal. Pueden verse larvas de escarabajo en celdillas en el centro del panal, donde originalmente estaba la progenie. Fondo fotográfico de la Universidad de Georgia.



**Fig. 4.** Larva del escarabajo que ha excavado un túnel hacia el interior del suelo y que ha creado una cámara en cuyo interior se convierte en pupa. Fondo fotográfico de la Universidad de Georgia



**Fig. 5.** Pupa del escarabajo (vista ventral). Fotografía de Lyle Buss, Universidad de Florida

Es difícil encontrar huevos del escarabajo en una colonia, sobre todo cuando los niveles de infestación son bajos. No obstante, puede buscarse en las grietas/fisuras de alrededor del nido o en los opérculos de las celdillas de la progenie, lo cual posiblemente indique que el escarabajo hembra ha pinchado el opérculo y ha puesto huevos en el interior de la celdilla. Pueden hallarse pupas del escarabajo tamizando suelo de alrededor de la colonia y buscando las cámaras de las pupas o las pupas en sí.

### 1.3. Inspección visual de las colonias

Al realizar un seguimiento de las colonias de abejas melíferas para comprobar si hay escarabajo de las colmenas, un examen de la colmena puede proporcionar una primera pista de la infestación. En los países que siguen libres de *A. tumida*, se recomienda realizar un seguimiento de los colmenares centinela en zonas de riesgo de introducción, con el fin de detectar una posible infestación a tiempo para erradicarla (Chauzat *et al.*, 2016). Además, si la intención es erradicar *A. tumida*, las colonias centinela deben colocarse en la ubicación de los colmenares infestados que se han desinfectado previamente. Dichas colonias centinelas actúan como cebo para atraer escarabajos que vuelan libremente y deben colocarse inmediatamente después de que se destruyan todas las colonias, ya que los escarabajos adultos que permanecen fuera de las colonias podrían sobrevivir a la erradicación y diseminarse a otros hospedadores cercanos.

Es importante adaptar el método de inspección visual para limitar la propagación esperada de *A. tumida*, ya que la manipulación de colonias puede inducir desorden y robo (las abejas roban miel de otras colonias), y escarabajos adultos de colmena ocasionalmente pueden abandonar las colonias durante la manipulación. Los métodos de inspección visual actualmente utilizados en áreas infestadas son más factibles en el campo y fáciles de realizar para cualquier persona entrenada para manipular una colmena (EFSA, 2015; Neumann *et al.*, 2016). La manipulación de colonias requiere una cierta formación y conocimiento de la biología y morfología del pequeño escarabajo de las colmenas, para así poder inspeccionar correctamente las colonias de campo y detectar y reconocer rápidamente el daño causado por los distintos estadios de *A. tumida*. Una inspección de colonias comienza justo en la entrada de la colmena y se basa en un examen rápido pero meticuloso de la tapa, la cubierta interior, los marcos y la tabla inferior. Las siguientes recomendaciones se han extraído del dictamen científico de la EFSA (EFSA, 2015).

#### 1.3.1. Método de inspección de la colonia (EFSA, 2015)

- i) Se retira la tapa y se comprueba la presencia de escarabajos adultos huyendo.
- ii) Se retira la cubierta interna y se revisan ambos lados. Se comprueba también si en la parte superior de los marcos hay adultos corriendo.
- iii) Se retiran los marcos de la colmena uno por uno. Cada lado del marco debe observarse rápidamente para comprobar si hay escarabajos adultos, larvas, huevos y daños. El primer cuadro puede dejarse fuera del alza de la colmena para facilitar el manejo de los otros marcos. Los marcos posteriores deben volver a colocarse en alza (la parte de la colmena donde las abejas almacenan miel) para evitar robo en el colmenar durante el examen.
- iv) Los escarabajos se pueden esconder dentro de las células de los panales. También es importante examinar la tapa, el tablero inferior, las caras laterales, las esquinas, los intersticios de la colmena y los componentes de la colmena.

Si el robo es improbable, se puede examinar el alza colocándolo en la tapa invertida de la colmena en un lugar soleado. Los adultos escaparán de la luz del sol y se retirarán a la tapa. Después de aproximadamente 10 minutos, la presencia de escarabajos adultos en la tapa se puede controlar levantando el alza (Zawislak, 2014). Si existe riesgo de robo, el alza debe inspeccionarse de la misma manera que el cuerpo de la colmena, es decir, peine con peine, reemplazando cada cuadro en la caja después de su examen. Durante el examen del cuerpo, el alza se puede colocar en una tapa invertida, de modo que no puedan escapar las abejas ni los escarabajos (Spiewok *et al.*, 2007).

Para mejorar la sensibilidad de la inspección visual, primero se puede quitar la colmena de su posición original, luego abrirla, y reemplazarla por una colmena vacía (Neumann & Hoffmann, 2008; Spiewok *et al.*, 2007). Luego se quita cada marco y se examinan los escarabajos por primera vez. Las abejas se sacuden en una caja vacía y el peine se inspecciona por segunda vez para comprobar si hay escarabajos, esta vez en ausencia de abejas, antes de ser colocado en la nueva colmena. Una vez que se han examinado todos los marcos, se inspeccionan la caja original y el tablero inferior. Sin embargo, este método requiere más tiempo y requiere un equipo adicional de apicultura y, por lo tanto, no es adecuado para el control rutinario de infestación por escarabajos en las colmenas en grandes colmenares. Sin embargo, se recomienda que la certificación de salud demuestre la ausencia de infestación por *Aethina tumida* en una colonia.

Existe un método, originalmente descrito en Canadá, en el que se utiliza un cubo blanco de 12 litros equipado con una malla de alambre (aproximadamente 6 mm de perforación) instalada a media profundidad del cubo. El fondo del cubo está cubierto con una capa delgada de aceite vegetal. Los marcos se sacuden dentro del cubo y las abejas quedan retenidas sin sufrir daños en la malla de alambre, mientras que los escarabajos caen en el aceite vegetal. Los datos de campo sugieren que este método es más sensible que la simple inspección visual cuando el nivel de infestación es bajo<sup>1</sup>.

Otro método para el examen de colonias se describe a continuación y puede usarse para buscar escarabajos adultos y larvas si las infestaciones por larvas son de moderadas a altas (Ellis *et al.*, 2002a, Ellis y Delaplane, 2006), pero no debe usarse si se planifica la erradicación, ya que podría aumentar el número de escarabajos que vuelan libremente.



**Fig. 6.** Inspección de una colonia en busca de adultos del escarabajo. El inspector de la derecha agitó las abejas sobre un trozo de madera contrachapada. A continuación, golpeó ambas caras del marco del panal sobre la madera (desprendiendo los escarabajos de las celdillas). El inspector de la izquierda está agitando las abejas adultas y empleando un aspirador de boquilla para recoger los escarabajos.  
Fotografía de Delaplane, Universidad de Georgia.

#### Notas:

- i) Es mejor que este procedimiento lo lleven a cabo dos personas, una para trabajar la colonia y la segunda para recoger los escarabajos si se desea una cuantificación. Si únicamente se desea una detección de los escarabajos, bastará con una persona.
- ii) Es inevitable que algunos escarabajos vuelen alejándose o escondiéndose. Se considera que escapan pocos escarabajos (<5%).
- iii) Es mejor utilizar este procedimiento para la cualificación de escarabajos adultos. No obstante, así también pueden encontrarse larvas de escarabajos.

1 <http://www.omafr.gov.on.ca/english/food/inspection/bees/2011-shb-report.htm>

- a) Se coloca una hoja de plástico opaco (~2 x 2 m, preferiblemente blanca o de un color claro) o contrachapado delante de la colonia en la que se desee comprobar si hay escarabajos.
- b) Se aplica humo ligeramente a la colonia.
- c) Se retira la tapa de la colonia y se golpea la tapa sobre el contrachapado. Esto debe realizarse para desprender todas las abejas y escarabajos adultos adheridos a la tapa.
- d) Una segunda persona (quien recoge los escarabajos) deberá pasar la mano o un palo pequeño por las abejas y recoger todos los escarabajos adultos observados, mediante un aspirador. Todas las abejas que queden sobre el contrachapado deberán inspeccionarse, puesto que grupos de abejas pueden ocultar fácilmente algunos escarabajos (Figura 7).
- e) Se retira el exterior del alza superior que contiene las abejas y se agitan las abejas para que caigan del marco al contrachapado.
- f) La persona que recoja los escarabajos deberá repetir el paso iv.
- g) Una vez las abejas hayan sido agitadas para desprenderlas del marco, debe darse la vuelta al marco y golpearlo contra el contrachapado para desprender los escarabajos adultos del panal. Este paso deberá repetirse dos a tres veces para ambas caras del marco.
- h) La persona que recoja los escarabajos deberá repetir el paso iv.
- i) La persona que trabaje en la colonia deberá repetir el paso vii para todos los marcos del alza superior y a continuación golpear el alza vacía sobre el contrachapado. Este paso deberá repetirse para todas las alzas, todos los marcos y la tabla que sirve de fondo a la colmena.

Los dos últimos métodos de inspección de las colonias que se han descrito son lentos y comportan un gran riesgo de inducción de desorden y de robo en el colmenar (EFSA, 2015).

#### 1.4. Examen de las colonias mediante trampas

El uso de trampas para la detección de pequeños escarabajos se describe en las Directrices para la vigilancia de la infestación del escarabajo de la colmena (*Aethina tumida*) (versión actualizada: abril de 2016) desarrolladas por el laboratorio de referencia de la Unión Europea para la salud de las abejas (Chauzat, 2016).

El principio de la mayoría de las trampas para escarabajos de las colmenas es ofrecer refugio contra la agresión de las abejas al proporcionar un lugar de paso que sea lo suficientemente grande para los escarabajos pero demasiado pequeño para que entren las abejas. En su intento de alejarse de las abejas que los persiguen, los adultos de *A. tumida* entrarán en la trampa, en la que se pueden usar medicamentos veterinarios o aceite como agentes necesarios para matarlos. A veces, este principio se combina con el uso de cebo, que puede aumentar la eficacia de la trampa. La posición de la trampa dentro de la colmena es importante y debe ajustarse al tipo de colmena y a las condiciones climáticas, ya que los escarabajos pueden esconderse en las tablas inferiores o en la periferia de la colonia si las condiciones climáticas son cálidas, pero tienden a permanecer dentro de la agrupación de abejas cuando las temperaturas son bajas. Por lo tanto, existen trampas para todas las posiciones dentro de la colmena y todas ellas deben controlarse regularmente durante las visitas de los apicultores.

Las trampas que se colocan entre las barras superiores del marco consisten en contenedores pequeños que están cubiertos por una rejilla. Este tipo de trampas suelen llenarse con aceite vegetal (la tierra de diatomeas se probó con éxito en laboratorio, Cribb *et al.*, 2013) y se demostró que eran efectivas en las condiciones de América del Norte (Bernier *et al.*, 2015). La trampa se coloca entre las barras superiores de dos marcos, cerca del nido de cría o de las agrupaciones de abejas en invierno. Al visitar la colonia, se examinan las trampas para comprobar si hay escarabajos. Si el contenedor es transparente, esta observación es fácil y directa. Utilizando este tipo de trampas se comprobó que las abejas podrían sellar las aberturas con propóleos, reduciendo así su eficacia (Bernier *et al.*, 2015). También se debe tener cuidado de evitar posibles derrames de aceite.

En las estaciones cálidas, las trampas colocadas en los tableros inferiores o en los tableros inferiores modificados podrían usarse para la detección de escarabajos de la colmena adultos. Los tableros inferiores modificados generalmente consisten en una bandeja llena de aceite que se coloca debajo de una rejilla o una malla. Si la bandeja cubre toda la parte inferior, la colmena debe estar nivelada, pero algunas de estas trampas cubren solo ciertas partes de la tabla inferior. Aunque estas trampas

funcionan bien, requieren una modificación de la colmena y, por lo tanto, son principalmente factibles para la apicultura estacionaria.

Se han inventado muchas trampas para usar en el tablero inferior. Un ejemplo sin agente que actúe como cebo y resulte letal es una tira de plástico corrugado de 4 mm (Figura 7). Se ha comprobado que es efectivo en pruebas de campo en Australia y EE. UU. El plástico corrugado se ajusta al comportamiento tigmotáctico de *A. tumida* ya que consiste en ranuras cuadradas, lo suficientemente grandes para que entre el escarabajo, pero demasiado pequeñas para que entren las abejas (aproximadamente 4 x 4 mm). La colmena no tiene por qué abrirse, ya que las trampas se colocan en su interior a través de la entrada. Es importante colocar adecuadamente la trampa en contacto con el suelo sólido de la colmena. Si no, los escarabajos pueden buscar refugio en el espacio ubicado entre la trampa y el suelo. Para un uso óptimo, las trampas deben dejarse en las colmenas durante un mínimo de 48 horas antes de la revisión. La trampa debe estar hecha preferiblemente de un material transparente para que los escarabajos puedan detectarse rápidamente (Schaefer *et al.*, 2008). Otras trampas del tablero inferior ponen al escarabajo en contacto con agentes letales que se introducen en las propias trampas. Los productos químicos pueden tener una alta eficacia, pero siempre existe el riesgo de que se formen cepas resistentes, que en la miel se acumulen residuos u otros productos de la colmena o que se propaguen productos químicos a las abejas produciendo efectos secundarios adversos. Una alternativa al uso de productos químicos es la tierra de diatomeas o las trampas que solo usan película adhesiva.

Una forma biomecánica de atrapar el escarabajo de las colmenas dentro de la colmena es la colocación de papel de cocina o material similar en la parte superior de los marcos. Las abejas trituran este material en fibras en las cuales los escarabajos se enredan. Este método de control es muy simple de usar y económico y tiene la ventaja de funcionar sin ninguna sustancia letal, pero las fibras también pueden terminar en la miel.



**Fig. 7.** Plancha de plástico utilizada para detectar adultos del escarabajo. La plancha de plástico contiene pequeños agujeros (izda.) en los cuales se esconden escarabajos adultos cuando se inserta sobre la tabla que sirve de fondo a la colmena, por la entrada a la colonia (dcha.). La plancha debe emplearse junto con una tabla de fondo convencional sin agujeros y no con una tabla de fondo agujereado. Fotografías de James Ellis (izda.) y Stephanie Kimball (dcha.), Universidad de Florida.

En áreas poco infestadas, se recomienda especialmente realizar siempre una combinación de inspecciones visuales y trampas para aumentar la sensibilidad de la detección. Dependiendo de las condiciones estacionales, se puede decidir usar observación visual o trampas, pero, siempre que sea posible, combinarlas es lo mejor. En colmenares donde las inspecciones se realizan con frecuencia (colmenares centinelas), se pueden usar trampas de vigilancia. Para las inspecciones individuales, las inspecciones visuales pueden ser mejores debido a la mayor sensibilidad de detección y para evitar una visita de regreso para verificar la trampa.

Para una descripción más detallada de las diferentes trampas, consulte EFSA, 2015 y Neumann *et al.*, 2016.

## 2. Identificación en el laboratorio

Para poder implementar medidas y evitar la propagación a territorios no infestados resulta fundamental lograr un diagnóstico rápido y fiable. Las muestras de campo sospechosas deben enviarse a laboratorios oficiales para que se confirme la identificación de *A. tumida*. La identificación morfológica es rápida y barata, puesto que no requiere equipo sofisticado. El resultado se puede confirmar mediante métodos moleculares (reacción en cadena de la polimerasa [PCR]) y es especialmente útil para la identificación de larvas o cuando las muestras están dañadas.

## 2.1. Precauciones especiales que debe aplicar la persona que manipule las muestras

Las muestras para la identificación se obtienen del interior de las colmenas de abejas melíferas o de sus inmediaciones (por ejemplo, en colonias, equipo de apicultura o jaulas para reinas).

Los ejemplares sospechosos deben matarse antes de ser enviadas al laboratorio, por ejemplo, con etanol al 70%. No debe emplearse etanol desnaturalizado si van a utilizarse métodos moleculares, debido a la posible inhibición de la PCR. Como alternativa, las muestras se pueden conservar durante una noche a  $-20^{\circ}\text{C}$  para matar los ejemplares.

A la llegada al laboratorio, los paquetes deben abrirse en condiciones de contención. Si a la llegada los ejemplares están vivos, para poder trabajar con los mismos deberán someterse a  $-80^{\circ}\text{C}$  durante aproximadamente una hora. Este procedimiento inmoviliza las muestras, que a continuación se pueden conservar en etanol al 70%.

## 2.2. Identificación morfológica de adultos y larvas

El método analítico tiene por finalidad identificar *A. tumida* examinando el aspecto externo de las muestras de adultos y/o larvas en el laboratorio. Consiste en un examen visual de las muestras durante el cual se registran unas características morfológicas concretas necesarias para diferenciar *A. tumida* de otros escarabajos nitidúlidos y de larvas de lepidópteros que suelen hallarse en las colonias de abejas melíferas, en las jaulas para reinas y en el equipo de apicultura.

### 2.2.1. Equipo y reactivos

Para la identificación morfológica de *A. tumida* se precisa material de entomología clásica, como un estereomicroscopio (o una lupa), pinzas de entomología, discos de evaporación (de vidrio, plástico o porcelana) o placas de Petri, tubos con tapón para la conservación de muestras y etanol al 70% (etanol no desnaturalizado).

### 2.2.2. Procedimiento analítico

Debe realizarse una observación general de las muestras situándolas en un disco y comprobando si hay una o varias especies (con una lupa o un estereomicroscopio, según sea necesario). Si solo hay una, las muestras se pueden seguir procesando. Si hay varias especies, deben tomarse ejemplares de cada una de ellas para identificarlas. Siempre que sea posible, para el análisis deben escogerse ejemplares no dañados con la ayuda de pinzas de entomología.

Debe llevarse a cabo un examen microscópico a distintos aumentos para visualizar los criterios de identificación básicos (véase el apartado 2.2.3, abajo). Debe anotarse el tamaño de los ejemplares. Las muestras se pueden comparar con ejemplares de referencia si se dispone de ellos. Tras el examen, los escarabajos deben conservarse en etanol al 70%.

### 2.2.3. Normas para la identificación de *Aethina tumida*

Debe distinguirse *A. tumida* de otros escarabajos que no formen plagas y que pueden hallarse en las colmenas de las abejas melíferas, como *Cychramus luteus*, que se encuentra en Europa y que se alimenta básicamente de polen (Neumann & Ritter, 2004), *Carpophilus lugubris*, que se encuentra en colmenas de Italia (Marini *et al.*, 2013), o *Glischrochilus fasciatus*, *Lobiopa insularis*, *Carpophilus dimidiatus* y *Epuraea corticina* que se encuentran en colmenas de Estados Unidos (Ellis *et al.*, 2008).

Las larvas de *A. tumida* también pueden confundirse con larvas de *Achroia grisella* o de *Galleria mellonella*. Estos lepidópteros en general se hallan en colonias y en el equipo de apicultura.

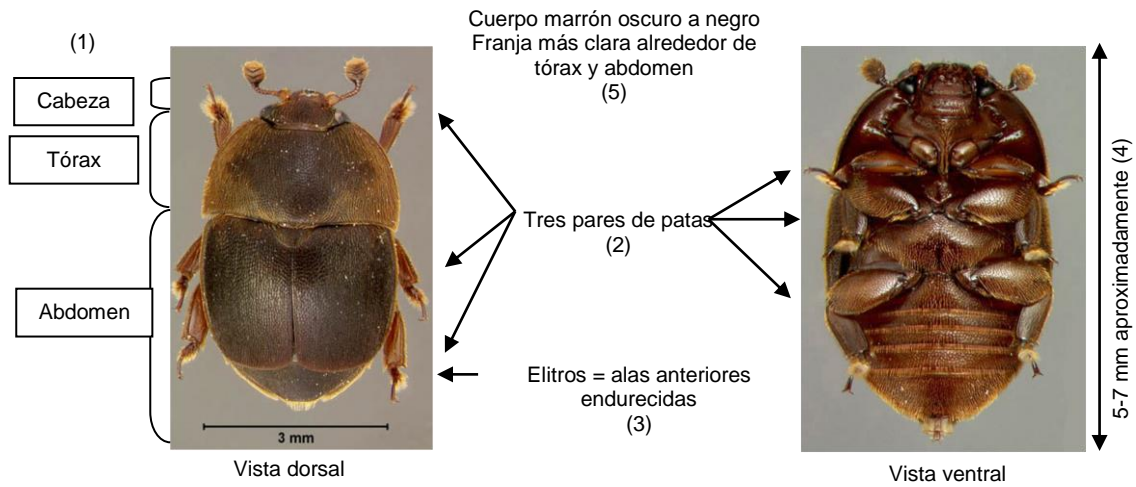
#### 2.2.3.1. Los adultos

La identificación de *A. tumida* se basa en los siguientes criterios morfológicos: (Figuras 8 y 9)

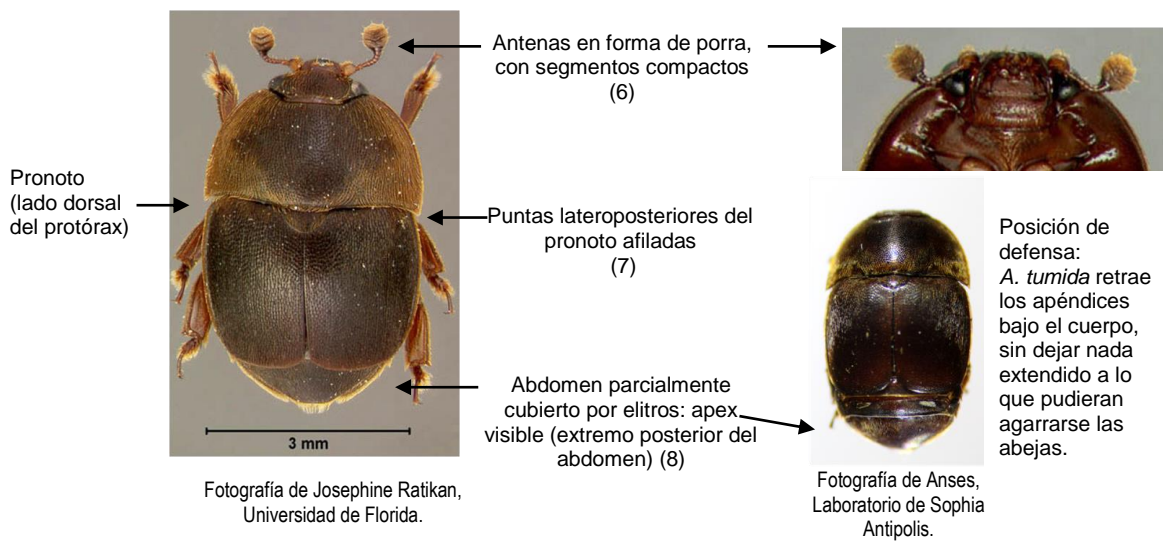
1. El cuerpo se divide en tres partes: cabeza, tórax y abdomen
2. Tres pares de patas
3. Presencia de elitros
4. Dimensiones: longitud: 5–7 mm; anchura: 3–4,5 mm (aproximadamente)
5. Color: marrón rojizo tras la eclosión, y se vuelven marrón oscuro a negro al hacerse adultos

Presencia de una franja más clara alrededor de tórax y abdomen (criterio opcional)  
 Nota: El color puede variar según las condiciones ambientales y el estado de conservación de las muestras

6. Antenas en forma de porra
7. Ángulos del pronoto postero-laterales afilados
8. Los elitros no cubren todo el abdomen



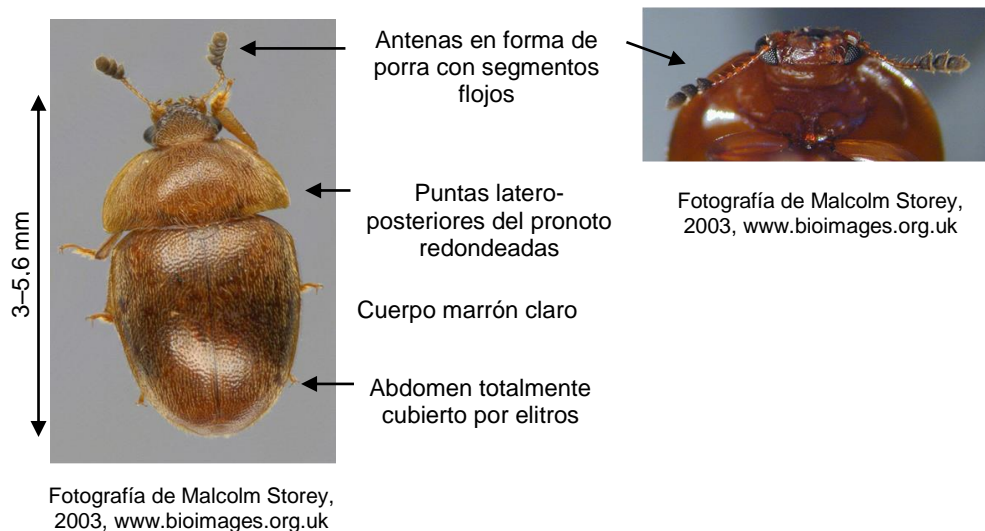
**Fig. 8.** El escarabajo *Aethina tumida*.  
 Fotografías de Lyle Buss (izda.) y Josephine Ratikan (dcha.),  
 Universidad de Florida



**Fig. 9.** Pequeño escarabajo de las colmenas, *Aethina tumida*. Murray.

Para el diagnóstico diferencial, a continuación se muestra *Cychramus luteus* con los siguientes rasgos (Figura 10; Neumann & Ritter, 2004):

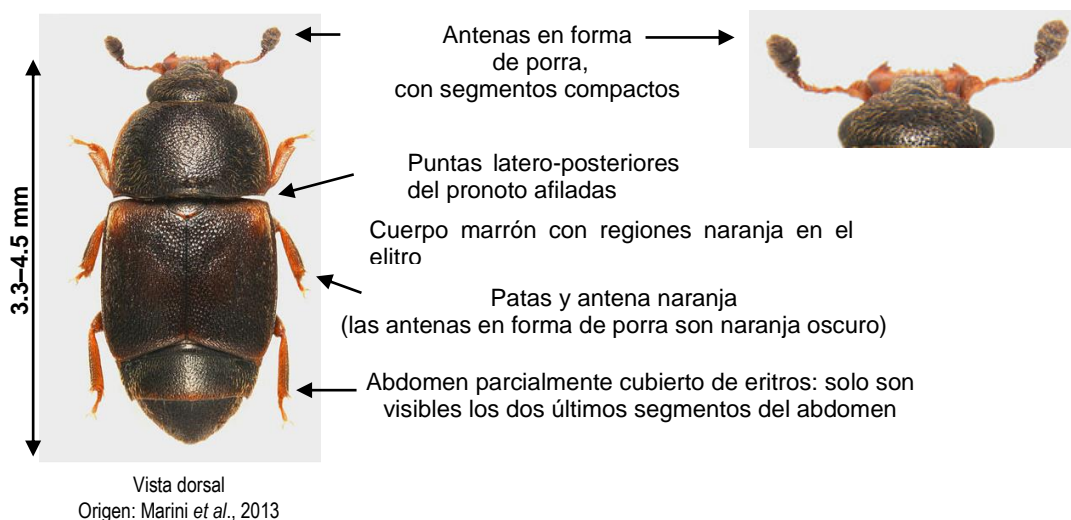
- Los elitros cubren por completo el ápice abdominal
- Las antenas en forma de porra son más flojas y tienen segmentos desprendidos;
- Las puntas latero-posteriores del pronoto no son afiladas;
- el cuerpo es de color marrón claro.



**Fig. 10.** *Cychramus luteus* (Neumann & Ritter, 2004).

*Carpophilus lugubris* tiene las siguientes características: (Figura 11; Marini *et al.*, 2013):

El cuerpo es marrón; los elitros tienen zonas de color naranja. Patas y antenas son de color naranja (las antenas en forma de porra son de color naranja oscuro)  
 Longitud corporal: 3.3–4.5 mm  
 No obstante, como ocurre con *A. tumida*, los elitros no cubren todo el abdomen  
 Las antenas en forma de porra tienen segmentos compactos  
 Las puntas latero-posteriores del pronoto son afiladas



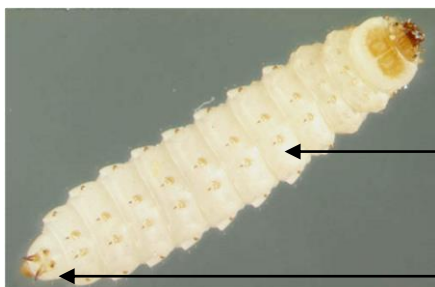
**Fig. 11.** *Carpophilus lugubris* (Marini *et al.*, 2013).

### 2.2.3.2. Las larvas

Las larvas de *A. tumida* tienen el cuerpo de color beige. La cápsula cefálica (cabeza de la larva) es de color marrón. El color puede variar según las condiciones ambientales y el estado de conservación de las muestras. La longitud del cuerpo en el ejemplar adulto es de alrededor de 1 cm (1,2 cm como máximo), en función de la alimentación. La anchura es de unos 1,6 mm.

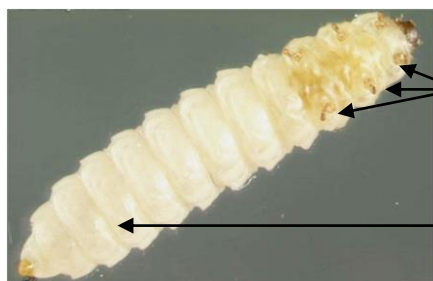
La identificación de las larvas se basa en los siguientes criterios morfológicos: (véase la Figura 12).

- i) Tres pares de patas, uno en cada segmento anterior (torácico)
- ii) Dos espinas dorsales en cada segmento (estas espinas son más gruesas en el último segmento)
- iii) No hay patas falsas (pseudópodos) en la cara ventral de los segmentos abdominales posteriores



Larva de *A. tumida*, vista dorsal.

- ← Cuerpo beige claro  
Cápsula cefálica marrón claro
- ← Dos espinas dorsales en cada segmento (2)
- ← Dos espinas dorsales gruesas en el último segmento (2)



Larva de *A. tumida*, vista ventral.

- ← Tres pares de patas, uno en cada segmento anterior (1)
- ← No hay pseudópodos en la cara ventral de los segmentos abdominales posteriores (3)

**Fig. 12.** Larva de *Aethina tumida*.

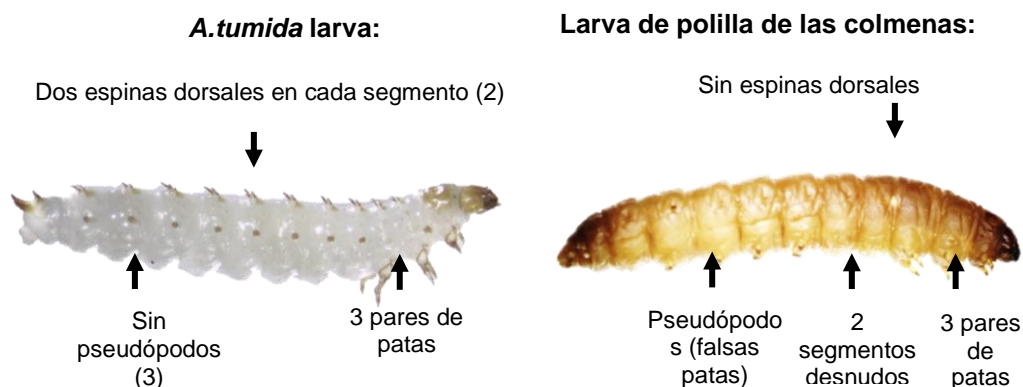
Fotografías de Josephine Ratikan, Universidad de Florida.

Para diferenciar entre larvas de *A. tumida* y larvas de lepidóptero (*A. grisella* y *G. mellonella*), a menudo presentes en las colmenas de abejas melíferas, se realizan las siguientes indicaciones:

Las larvas de lepidóptero tienen pseudópodos en la cara ventral de los segmentos abdominales.

Hay dos segmentos desnudos entre el último segmento con patas y el primer segmento con pseudópodos (Figura 13).

Las larvas de lepidópteros pueden crear una membrana sedosa, capullos y excretar heces oscuras (estas membranas y heces se pueden observar en los recipientes de las muestras que recibe el laboratorio).



**Fig. 13.** Diferenciación entre la larva de *A. tumida* y la de la polilla de las colmenas. Fotografías de Nicolas Cougoule. Anses, Laboratorio de Sophia Antipolis.

## 2.2.4. Interpretación de los resultados

### 2.2.4.1. Adultos

- i) Si se confirman los criterios 1 a 8 para *A. tumida*, el resultado es “positivo”. La identificación de *A. tumida* se confirma. Es aconsejable aplicar la prueba de confirmación PCR.
- ii) Si no se observan ciertas características morfológicas fundamentales de *A. tumida* (es decir, si al menos 1 de los 8 criterios no se cumple), el resultado es “negativo”. La identificación de *A. tumida* no se confirma.
- iii) Cuando no se pueden determinar criterios morfológicos definitivos (como ocurre en el caso de muestras dañadas), el resultado es “inconcluyente”. En estos casos, es fundamental una identificación molecular para la confirmación.

### 2.2.4.2. Larvas

- i) Si se cumplen los criterios 1 a 3, el resultado es “sospecha de *A. tumida*”. En este caso resulta indispensable la PCR para la confirmación final y para poder confiar en el diagnóstico.
- ii) Si al menos uno de los criterios 1 a 3 no se confirma, el resultado es “negativo”. La sospecha de *A. tumida* no se confirma.
- iii) Cuando no pueden determinarse criterios morfológicos definitivos (como en el caso de muestras dañadas), el resultado es “inconcluyente”. En este caso la identificación molecular es indispensable para la confirmación.

## 2.3. Identificación molecular

La identificación morfológica del escarabajo cada vez se confirma más con métodos moleculares, empleando en concreto la PCR en tiempo real, sobre todo para el examen de larvas cuya morfología está menos clara. El método de la PCR en tiempo real descrito abajo fue desarrollado por Ward *et al.* (2007) y se basa en la amplificación de una secuencia parcial del gen mitocondrial de *A. tumida* que codifica la citocromo oxidasa I (COI). Los cebadores SHB207F y SHB315R permiten amplificar un fragmento de 109 pares de bases específico de *A. tumida*. Este fragmento se visualiza en tiempo real debido a una sonda marcada en 5'. Para tener en cuenta los dos halotipos identificados mediante análisis bioinformático por Ward *et al.* (2007), el cebador SHB207F incluye una base degenerada en la posición 228 (A/G) (nº de referencia en Genbank AF227645). Este método se validó según lo establecido en el Capítulo 1.1.6 *Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico para enfermedades infecciosas*.

### 2.3.1. Preparación de la muestra, equipo y reactivos

Las muestras suelen ser adultos o larvas conservados en alcohol no desnaturalizado al >90% o desecadas. Las muestras conservadas en alcohol deben depositarse sobre papel absorbente dejando que el alcohol se evapore, o aclararse tres veces en un volumen grande de tampón fosfato (tubo de 50 ml, por ejemplo). A continuación, la muestra se transfiere a un microtubo de 1,5 ml, donde se tritura manualmente empleando una mano de mortero desechable. El

volumen depende del tamaño de la muestra (por ejemplo: un escarabajo adulto en 1 ml; una larva en 200 µl). Las muestras se pueden conservar a  $\leq -16^{\circ}\text{C}$ .

Para llevar a cabo la prueba se precisa un sistema de detección mediante PCR en tiempo real y el software para el análisis de los datos correspondientes. Existen varias marcas de PCR en tiempo real. El método que se describe abajo emplea un sistema de este tipo, pero los parámetros concretos del método deberán validarse en función del sistema que se utilice en cada laboratorio. Dada la alta sensibilidad del método, se precisan medidas adecuadas para evitar la contaminación por ADN. Todos los materiales y métodos empleados para la prueba deben cumplir con las normas establecidas en el Capítulo 2.1.2. *Biología en el diagnóstico de las enfermedades infecciosas*, incluidas las medidas para prevenir la contaminación de la muestra por ADN.

### 2.3.2. Preparación de los reactivos

La mezcla para la reacción de la PCR en tiempo real suele proporcionarse a una concentración 2x lista para usar. Para el uso y conservación de la misma deben seguirse las instrucciones del fabricante. Las soluciones base de trabajo para los cebadores y la sonda se preparan con tampón TE sin nucleasa a una concentración de 100 µM y 50 µM, respectivamente. Las soluciones base se conservan a  $-20^{\circ}\text{C}$  y la sonda debe protegerse de la luz. Pueden prepararse alícuotas de un solo uso para reducir el número de ciclos de congelación-descongelación y para aumentar el periodo de validez de cebadores y sondas.

### 2.3.3. Procedimiento analítico de la PCR en tiempo real

Nombre del cebador/sonda	Secuencia
SHB207F	5'-TCT-AAA-TAC-TAC-TTT-CTT-CGA-CCC-ATC-(A/G)-3'
SHB315R	5'-TCC-TGG-TAG-AAT-TAA-AAT-ATA-AAC-TTC-TGG-3'
Sonda SHB245T	5'-(6-FAM)-ATC-CAA-TCC-TAT-ACC-AAC-ACT-TAT-TTT-GAT-TCT-TCG-GAC-(TAMRA)-3'

En cada PCR deben incluirse controles de extracción positivo y negativo, así como reactivos control. Para minimizar el riesgo de contaminación por parte del control positivo, debe emplearse una dilución que dé lugar a un valor Ct de alrededor de 30. Un control adecuado podría consistir en escarabajos *A. tumida* aplastados y diluidos hasta 10 veces el límite de detección del método ( $LD_{\text{método}}$ ). Como alternativa, puede añadirse un plásmido que contenga la secuencia diana diluido hasta 10 veces el límite de detección de la PCR ( $LD_{\text{PCR}}$ ). Para el control de extracción negativo, se recomienda utilizar el tampón que se usó para aplastar los ejemplares. Es muy recomendable utilizar un control positivo interno (IPC) para comprobar la ausencia de inhibidores de la PCR en el extracto analizado.

Las condiciones del termociclador deben determinarse y validarse para el equipo y los reactivos que se usen en cada laboratorio.

Las mezclas de reactivos para PCR se añaden en una sala limpia (no deben manipularse agentes patógenos ni productos de la amplificación), y pueden ser las siguientes:

	Concentración final	Volumen por tubo (µl)
H <sub>2</sub> O sin nucleasa	/	4,1
Mezcla para PCR en tiempo real (2x)	1x	12,5
SHB207F (20 µM)	320 nM	0,4
SHB315R (20 µM)	320 nM	0,4
Sonda 245 (50 µM)	100 nM	0,05
IPC Mix 10x	1x	2,5
IPC DNA 50x	0,1x	0,05
Volumen total de la mezcla		20

Se añaden 5 µl del molde de ADN (muestra problema o plásmido de ADN) o control positivo o negativo a la mezcla de reactivos hasta lograr un volumen final de 25 µl. Se preparan muestras de ADN y se añaden a la mezcla de PCR en una zona independiente.

El programa del termociclador dependerá del equipo que se utilice y de la mezcla de reacción de la PCR en tiempo real, por ejemplo:

Paso	Ciclo	Temperatura (°C)	Tiempo (minutos)
Activación de la polimerasa	1	95	3:00
PCR	40	95	0:10
		60	0:30

#### 2.3.4. Interpretación de los resultados

El umbral para el análisis de las curvas de amplificación (determinadas por el ruido de fondo asociado al sistema de detección) suele fijarse según las instrucciones del fabricante para el programa utilizado. Puede fijarse con muestras que se haya confirmado que son negativas (por ejemplo, larvas de *Galleria melonella* o escarabajos adultos del género *Meligethes*).

Un resultado de identificación de *A. tumida* mediante PCR en tiempo real se considera válido solo si los controles de extracción y de PCR positivos dan un resultado positivo ( $Ct \leq 35$ ) y si los controles de extracción y de PCR negativos dan un resultado negativo ( $Ct = N/A$ ).

Se registra un resultado positivo para toda muestra que dé un valor de  $Ct < 35$ . Y un resultado negativo para toda muestra que dé un valor de  $Ct > 35$  o que no presente valor  $Ct$ . En las muestras que den resultados negativos debe comprobarse con IPC la ausencia de inhibidores de la PCR en el extracto analizado. Los inhibidores de la PCR pueden dar lugar a falsos negativos. La inhibición se puede resolver diluyendo la muestra, por ejemplo a 1/10.

### 3. Pruebas serológicas

Las pruebas serológicas no son ni adecuadas ni relevantes para las infestaciones de colonias de abejas.

## C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS

No se dispone de vacunas.

## BIBLIOGRAFÍA

BERNIER M., FOURNIER V., ECCLES L. & GIOVENAZZO P. (2015). Control of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) using in-hive traps. *Can. Entomol.*, **147**, 97–108.

BUCHHOLZ S., SCHÄFER M.O. SPIEWOK S., PETTIS J.S., DUNCAN M., RITTER W., SPOONER-HART R. & NEUMANN P. (2008). Alternative food sources of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *J. Apic. Res.*, **47**, 202–209.

CHAUZAT M.P., LAURENT M., BROWN M., KRYGER P., MUTINELLI F., ROELANDT S., ROELS S., VAN DER STEDE Y., SCHÄFER M., FRANCO S., DUQUESNE V., RIVIÈRE M.P., RIBIÈRE-CHABERT M. & HENDRIKX P. (2016). Guidelines for the surveillance of the small hive beetle (*Aethina tumida*) infestation. European Union Reference Laboratory for honeybee health (EURL), Anses Sophie-Antipolis, France, pp. 21.

CRIBB B. W., RICE S.J. & LEE MON D.M. (2013). Aiming for the management of the small hive beetle, *Aethina tumida*, using relative humidity and diatomaceous earth. *Apidologie*, **44**, 241–253.

CUTHBERTSON A.G.S., WAKEFIELD M.E., POWELL M.E., MARRIS G., ANDERSON H., BUDGE G.E., MATHERS J.J., BLACKBURN L.F. & BROWN M.A. (2013). The small hive beetle *Aethina tumida*: A review of its biology and control measures. *Curr. Zool.*, **59**, 644–653.

- DE GUZMAN L.I. & FRAKE A.M. (2007). Temperature affects *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) Development. *J. Apic. Res.*, **46**, 88–93.
- EFSA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY) (2015). EFSA Panel on Animal Health and Welfare. Scientific opinion on the survival, spread and establishment of the small hive beetle (*Aethina tumida*). *EFSA Journal*, **13**, 4328, 77 pp.
- ELLIS J.D. (2005). Reviewing the confinement of small hive beetles (*Aethina tumida*) by western honey bees (*Apis mellifera*). *Bee World*, **86**, 56–62.
- ELLIS J.D. & DELAPLANE K.S. (2006). The effects of habitat type, ApilifeVAR™, and screened bottom boards on small hive beetle (*Aethina tumida*) entry into honey bee (*Apis mellifera*) colonies. *Am. Bee J.*, **146**, 537–539.
- ELLIS J.D., DELAPLANE K.S., CLINE A. & MCHUGH J.V. (2008). The association of multiple sap beetle species (Coleoptera: Nitidulidae) with western honey bee (*Apis mellifera*) colonies in North America. *J. Apic. Res. Bee World*, **47**, 188–189.
- ELLIS J.D., DELAPLANE K.S., HEPBURN H.R. & ELZEN P.J. (2002a). Controlling small hive beetles (*Aethina tumida* Murray) in honey bee (*Apis mellifera*) colonies using a modified hive entrance. *Am. Bee J.*, **142**, 288–290.
- ELLIS J.D., DELAPLANE K.S. & HOOD W.M. (2001). Small hive beetle (*Aethina tumida*) weight, gross biometry, and sex proportion at three locations in the southeastern United States. *Am. Bee J.*, **142**, 520–522.
- ELLIS J.D. & HEPBURN H.R. (2006). An ecological digest of the small hive beetle (*Aethina tumida*), a symbiont in honey bee colonies (*Apis mellifera*). *Insectes Sociaux*, **53**, 8–19.
- ELLIS J.D., HEPBURN H.R., DELAPLANE K., NEUMANN P. & ELZEN P.J. (2003). The effects of adult small hive beetles, *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae), on nests and flight activity of Cape and European honey bees (*Apis mellifera*). *Apidologie*, **34**, 399–408.
- ELLIS J.D., HEPBURN H.R., LUCKMANN B. & ELZEN P.J. (2004). The effects of soil type, moisture, and density on pupation success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae). *Environ. Entomol.*, **33**, 794–798.
- ELLIS J.D., NEUMANN P., HEPBURN H.R. & ELZEN P.J. (2002b). Longevity and reproductive success of *Aethina tumida* (Coleoptera: Nitidulidae) fed different natural diets. *J. Econ. Entomol.*, **95**, 902–907.
- ELZEN P.J., BAXTER J.R., WESTERVELT D., RANDALL C., DELAPLANE K.S., CUTTS L. & WILSON W.T. (1999). Field control and biology studies of a new pest species, *Aethina tumida* Murray (Coleoptera, Nitidulidae) attacking European honey bees in the Western hemisphere. *Apidologie*, **30**, 361–366.
- HEPBURN H.R. & RADLOFF S.E. (1998). Honeybees of Africa. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- HOOD M.W. (2004). The small hive beetle, *Aethina tumida*: a review. *Bee World*, **85**, 51–59.
- LEE S., HONG K.-J., CHO Y.S., CHOI Y.S., YOO M.-S. & LEE S. (2017). Review of the subgenus *Aethina* Erichson s. str. (Coleoptera: Nitidulidae: Nitidulinae) in Korea, reporting recent invasion of small hive beetle, *Aethina tumida*. *J. Asia-Pacific Entomol.*, **20**, 553–558.
- LUNDIE A.E. (1940). The small hive beetle *Aethina tumida*, Science Bulletin 220, Dep. Agr. Forestry, Government Printer, Pretoria, South Africa.
- MARINI F., MUTINELLI F., MONTARSI F., CLINE A., GATTI E. & AUDISIO P. (2013). First report in Italy of the dusky sap beetle, *Carpophilus lugubris*, a new potential pest for Europe. *J. Pest Sci.*, **86**, 157–160.
- MURRAY A. (1867). List of Coleoptera received from Old Calabar. *Ann. Magazine Nat. Hist.*, London, **19**, 167–179.
- NEUMANN P. & ELZEN P.J. (2004). The biology of the small hive beetle (*Aethina tumida*, Coleoptera: Nitidulidae): Gaps in our knowledge of an invasive species. *Apidologie*, **35**, 229–247.
- NEUMANN P. & RITTER W. (2004). A scientific note on the association of *Cychramus luteus* (Coleoptera: Nitidulidae) with honeybee (*Apis mellifera*) colonies. *Apidologie*, **35**, 665–666.
- NEUMANN P. & HOFFMANN D. (2008). Small hive beetle diagnosis and control in naturally infested honey bee colonies using bottom board traps and CheckMite+ strips. *J. Pest Sci.*, **81**, 43–48.

NEUMANN, P., PETTIS, J.S. & SCHÄFER M. O. (2016). *Quo vadis Aethina tumida?* Biology and control of small hive beetles. *Apidologie*, **47**, 427–466.

PETTIS J. & SHIMANUKI H. (2000). Observations on the small hive beetle, *Aethina tumida*, Murray, in the United States. *Am. Bee J.*, **140**, 152–155.

SCHMOLKE M.D. (1974). A study of *Aethina tumida*: the small hive beetle, Project Report, University of Rhodesia, Zimbabwe, pp. 178.

SCHAEFER M., PETTIS J.S., RITTER W & NEUMANN P. (2008). A simple method for quantitative diagnosis of small hive beetles, *Aethina tumida*, in the field. *Apidologie*, **39**, 564–565.

SOMERVILLE D. (2003). Study of the small hive beetle in the USA. *In*: Rural Industries Research and Development Corporation (RIRDC) Publication No. 03/050, RIRDC Project No. DAN-213A. RIRDC, Barton, ACT, Australia.

SPIEWOK S. & NEUMANN P. (2006). Cryptic low-level reproduction of small hive beetles in honeybee colonies. *J. Apic. Res.*, **45**, 47–48.

SPIEWOK S., PETTIS J., DUNCAN M., SPOONER-HART R., WESTERVELT D. & NEUMANN P. (2007). Small hive beetle, *Aethina tumida*, populations. I: Infestation levels of honey bee colonies, apiaries and regions. *Apidologie*, **38**, 595–605.

WARD L., BROWN M., NEUMANN P., WILKINS S., PETTIS J. & BOONHAM N. (2007). A DNA method for screening hive debris for the presence of small hive beetle (*Aethina tumida*). *Apidologie*, **38**, 272–280.

ZAWISLAK J. (2014). Managing Small Hive Beetles. University of Arkansas, Cooperative Extension Service. Printing Services FSA7075.

## LECTURA ADICIONAL

Una publicación de la FAO, *Honey bee diseases and pests: a practical guide*, W. Ritter & P. Akranakul (eds). Agricultural and Food Engineering Technical Report No. 4. FAO, Rome, Italy, 42 pp. ISSN 1814-1137 TC/D/A0849/E, está disponible de forma gratuita en: <http://www.fao.org/3/a-a0849e.pdf>

\*

\* \*

**NB:** Existen Laboratorios de Referencia de la OIE para la infestación por *Aethina tumida* (pequeño escarabajo de las colmenas)

(consúltese la lista más actualizada en la tabla de la Parte 4 de este *Manual Terrestre* o la página web de la OIE: <http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/laboratorios-de-referencia/lista-des-laboratorios/>).

Para más información sobre las pruebas de diagnóstico y los reactivos para la infestación por *Aethina tumida*, por favor contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE

**NB:** ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 2008: ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2018.