

FIN 27840 KAKKURI*, REGIONALLABORATORIUM KUOPIO, FIN 70700 KUOPIO**

Lassi KAUKO*, Mirjami NISKANEN**

Vorkommen und Diagnostizierung der bösartigen Faulbrut im südwestlichen Gebiet von Finnland

Występowanie i diagnostyka zgnilca złośliwego w jednym z południowo-wschodnich regionów Finlandii

Die bösartige Faulbrut ist in Finnland eine staatlich bekämpfte Tierseuche. Weil nur wenige Tierärzte Bienenkrankheiten kennen, wir keine Bienenseuchensachverständige haben und die Bienenstände nicht registriert sind, ist die Wirkung der Bekämpfung mangelhaft. Auch das Vorkommen der Seuche ist etwas schlecht bekannt. Vor einigen Jahren wurde in zwei verschiedenen Gegenden das Vorkommen der bösartigen Faulbrut aufgeklärt. Alle bekannten Bienenstände wurden besucht. Während der Untersuchung konnte man klinisch in etwa 10% der Stände bösartige Faulbrut feststellen.

Die vorliegende Arbeit behandelt eine Untersuchung, die im Jahre 1993 im südwestlichen Gebiet Finnlands durchgeführt wurde. Die verdächtigen Bienenstände wurden mittels einer Honiguntersuchung aus vorjährigem Honig vorgewählt. Um Arbeit zu erleichtern und Kosten zu sparen, wurde das Kultivieren von *Bacillus larvae* aus Honig vereinfacht.

MATERIAL UND METHODEN

Von 52 Imkern wurden die Honigproben aus der Ernte des Jahres 1992 gesammelt. Die Besitzer der Bienen wurden gleichzeitig befragt, ob sie in ihren Ständen Brutkrankheiten festgestellt hatten, wo ihre Stände liegen und wie sie den Bienen Antibiotika gegen Brutkrankheiten gegeben hatten.

Nachuntersuchung wurde bei solchen Imkern durchgeführt, aus deren Honig *Bacillus larvae* oder *Bacillus alvei* isoliert wurden und die keine bestätigte Diagnose von den Brutkrankheiten hatten. Wenn die Honiguntersuchung negativ war, aber der Imker Symptome der Brutkrankheiten festgestellt hatte, wurde die Gesundheit der Bienen untersucht. Wenn in den Bienenvölkern Symptome der Brutkrankheiten zu finden waren, wurden die verdächtigen Larven mikroskopisch und mikrobiologisch untersucht.

DIE UNTERSUCHUNG DES HONIGS

Rund 5 g Honig pro Probe wurde 30 Minuten im Wasserbad gekocht. Danach wurde 10 µl mit der Schlinge auf die 5% Rinderblutagarplatte (Tryptone Soya Agar, Oxoid CM 131) gestrichen. Inkubation erfolgte in 34°C fünf Tage, die Kulturen wurden täglich kontrolliert. Um Trocknen zu

vermeiden, waren die Agarplatten während der Inkubation in einem Plastikbeutel. Verdächtige Kolonien wurden morphologisch, mikroskopisch und biochemisch untersucht: Gram-Färbung, Katalase- und Oxidasetesten, Reduktion des Nitrates, Digestion der Gelatine, Motilität, Abbau der Stärke und Säureproduktion aus Zuckern (Glucose, Fructose, Galactose, Xylose, Lactose, Sachharose und Salisin).

ERGEBNISSE

HONIGPROBEN UND KRANKHEITEN IN DEN STÄNDEN

Bacillus larvae war in neun Honigproben zu finden. In sechs Fällen war in den jeweiligen Imkereien klinische bösartige Faulbrut, in zwei Imkereien konnten keine Symptome der Krankheiten festgestellt werden. Mit dem neunten Imker mit einer positiven Honigprobe konnten wir uns nicht trotz zahlreicher Versuche in Verbindung setzen.

Bacillus alvei ließ sich aus sechs Proben kultivieren. Diesen Ergebnissen entsprachen in vier Imkereien klinische gutartige Faulbrut, in zwei Imkereien bösartige Faulbrut.

Zwei Imker, die Symptome der Brutkrankheiten festgestellt hatten, schickten Proben, wo weder *Bacillus larvae* noch *Bacillus alvei* gefunden wurde. In einer von diesen Imkereien war die Ursache der Symptome gutartige Faulbrut, in der anderen waren die Bienenvölker im Sommer 1993 klinisch gesund.

ANWENDUNG DER ANTIBIOTIKA UND CHEMOTHERAPEUTIKA

Sechzehn Imker teilten mit, daß sie ihren Bienen Arzneimittel gegen Brutkrankheiten gegeben hatten. Zwei von ihnen hatten Sulfapreparate angewendet, alle anderen Oxytetracyclin. Sieben Imker gaben Arzneien regelmäßig im Frühjahr oder im Herbst, um Krankheiten vorzubeugen, die Anwendung der Arzneien in drei Imkereien schien zufällig zu sein. Sechs Imker haben die Bienen wegen festgestellter Krankheiten mit Arzneien gepflegt.

Zwei von den Imkern, die regelmäßig den Bienen im Frühjahr Oxytetracyclin gaben, haben Honigprobe mit *Bacillus larvae* geschickt. Die eine Imkerei war klinisch gesund, in der anderen aber entwickelte sich eine vernichtende Faulbrut: der Imker verlor rund 80% der Völker bis Frühjahr 1993. Von den Imkern, die den Bienen Arzneien zufällig oder wegen einer festgestellten Brutkrankheit gaben, hatten drei in der Imkerei bösartige Faulbrut und drei gutartige Faulbrut.

Antibiotika und Chemotherapeutika sind in Finnland Verschreibungspflichtig, aber im Allgemeinen ist es den Imkern nicht schwer sie zu bekommen.

DISKUSSION

Die vereinfachte Methode zur Kultivierung von *Bacillus larvae* entdeckte gut alle Imkereien, wo Imker die Krankheit festgestellt hatten, dazu wurden noch

Tab. 1. Anwendung von Antibiotika und Chemotherapeutika und Gesundheit der Bienen

Imker	Anwendung der Arzneien	Fund aus Honig	Klinischer Zustand
1	OTC Frühjahr 90	<i>B. alvei</i>	bösartige Faulbrut
2	OTC Herbst 92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
5	OTC jedes Frühjahr	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
7	Sulfa in Herbst 90-92	negativ	gesund
10	OTC jedes Frühjahr	negativ	gesund
13	OTC Herbst 88	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut
14	OTC Herbst 92	negativ	gesund
16	OTC 91	negativ	gesund
18	Sulfa Herbst 90, 92	<i>B. alvei</i>	bösartige Faulbrut
19	OTC jeden Herbst	negativ	gesund
21	OTC jeden Herbst	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut
23	OTC 86-89	negativ	gesund
25	OTC jedes Frühjahr	<i>B. alvei</i> und <i>B. larvae</i>	gesund
34	OTC jedes Frühjahr	negativ	gutartige Faulbrut
37	OTC jedes Frühjahr	negativ	gesund
44	OTC jeden Herbst	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut

Tab. 2. Beobachtungen des Imkers, bakteriologischer Fund aus Honig und Gesundheit der Bienen

Imker	Anwendung der Arzneien	Funds aus Honig Ernte '92	Klinischer Zustand Sommer '93
1	keine Krankheiten	<i>B. alvei</i>	bösartige Faulbrut
2	Brutkrankheit 91-92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
5	Brutkrankheit 91-92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
8	Brutkrankheit 91-92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
10	Brutkrankheit 90-92	negativ	gesund
13	gutartige Faulbrut 89, 92	<i>B. alvei</i>	gesund (krankes Volk über- winterte nicht)
18	bösartige Faulbrut 90-92	<i>B. alvei</i>	bösartige Faulbrut
21	gutartige Faulbrut 89-91	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut
23	gutartige Faulbrut 86-87	negativ	gesund
25	keine Krankheiten	<i>B. alvei</i> und <i>B. larvae</i>	gesund
26	Brutkrankheit 92	<i>B. alvei</i> und <i>B. larvae</i>	gesund
28	keine Krankheiten	<i>B. larvae</i>	Imker nicht erreicht
29	Brutkrankheit 92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
33	keine Krankheiten	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut
34	gutartige Faulbrut 90, 92	negativ	gutartige Faulbrut
39	Brutkrankheit 88-90	negativ	gesund
41	Brutkrankheit 92	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut
44	gutartige Faulbrut 91-92	<i>B. alvei</i>	gutartige Faulbrut
46	keine Krankheiten	<i>B. larvae</i>	bösartige Faulbrut

zwei Imkereien gefunden, wo der Imker keine Beobachtungen von Krankheiten gemacht hatte. Die Methode scheint auch für praktische Verhältnisse empfindlich genug zu sein, da in zwei Imkereien die Infektion sich nicht mal zu einer

klinischen Krankheit entwickelt hatte. *Bacillus alvei* kann Wachstum von *Bacillus larvae* tarnen oder verhindern. Das kann mit Nalidixinsäure verhindert werden. Da aber *Bacillus alvei* in Verbindung mit gutartiger Faulbrut steht, ist Untersuchung der Gesundheit der Imkereien auch in diesen Fällen durchaus vernünftig. In dieser Arbeit ist doch zu bemerken, daß eine Imkerei mit gutartiger Faulbrut eine Honigprobe ohne *Bacillus alvei* schickte.

Die Methode ist billig und erfordert nur wenig Arbeit. Gewöhnliche Rinderblutagarplatten können angewendet werden. Im Allgemeinen ist nur eine Platte nötig, weil *Bacillus larvae* oft rein wächst und die nötigen Gram-Färbung samt Katalase- und Oxidasetesten aus der Primärkultur gemacht werden können.

Bacillus larvae wurde in 17% der Honigproben gefunden. In einigen Fällen war *Bacillus larvae* sicher von *Bacillus alvei* getarnt, da keine Nalidixinsäure angewendet wurde. Also der tatsächliche Anteil der Proben mit *Bacillus larvae* ist noch höher. In verschiedenen ausländischen Arbeiten ist der Anteil der Honigproben mit *Bacillus larvae* um 10% gewesen, wenn sie von den Imkern gesammelt wurden. In unserem Material war *Bacillus larvae* und/oder *Bacillus alvei* in 29% der Proben, also beinahe ein Drittel der Honige deutete auf eine Brutkrankheit.

Die Imker versuchen ziemlich oft Brutkrankheiten mit Arzneien vorzubeugen oder zu heilen. Ohne andere Maßnahmen wie Reinigung und Desinfektion, Kunstschwarmverfahren usw. bleibt das Ergebnis aber oft unzufrieden. In unserem Klima sind die Bienen während der Frühjahrsbehandlung im April oft brutlos oder haben nur wenig Brut und die Arzneien können zum großen Teil verlorengehen.

LITERATUR

1. Alippi A. M.: Characterization of *Bacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood of Honey bees. Rev. Argent. Microbiol. **24**, 67, 1992.
2. Grimm M., Moosbeckhofer R.: Untersuchung österreichischer Honige auf das Vorhandensein von *Bacillus larvae*-Sporen. Bienenvater **114**, (4), 167, 1993.
3. Hansen H.: Methods for determining the presence of foulbrood bacterium *Bacillus larvae* in honey. Tidsskr. Planteavl **88**, 325, 1984.
4. Hansen H.: The incidence of the foulbrood bacterium *Bacillus larvae* in honeys retailed in Denmark. Tidsskr. Planteavl **88**, 329, 1984.
5. Peltotalo P.: Yhteenveto kesän tautitarkkailusta. Mehiläinen **7**, 211, 1989.
6. Ritter W.: Untersuchung von Honigproben zur Diagnose von *Bacillus larvae*. Apidologie **23**, 361, 1992.
7. Steinkraus K. H., Morse R. A.: American foulbrood incidence in some U.S. and Canadian honeys. Apidologie **23**, 497, 1992.

STRESZCZENIE

Uzyskane od pszczelarzy próbki poddano badaniu mikrobiologicznemu (hodowla na agarze z krwią z dodatkiem 5% krwinek bydlęcych, po 30-minutowym ogrzewaniu w łaźni wodnej). W 17% próbek miodów stwierdzono obecność *Bacillus larvae*, a w 12% próbek obecność *Bacillus alvei*. W sześciu przypadkach stwierdzono także obecność *B. larvae* w miodzie. *B. alvei* znaleziono w dwóch próbkach miodu. *B. alvei* został stwierdzony w czterech przypadkach EFB, w jednym przypadku próbka miodu nie zawierała *B. alvei*. Pszczoły z dwu pasiek, z których pochodził miód zanieczyszczony *B. larvae*, nie wykazywały klinicznych objawów zgnilca złośliwego. Pytano pszczelarzy, czy stosowali uprzednio antybiotyki przeciw chorobom czerwia. Siedmiu z nich podawało antybiotyki profilaktycznie. Niezależnie od zapobiegawczego zastosowania na wiosnę oksytetracykliny u jednego z pytanych pszczelarzy w pasiece wystąpił zgnilec złośliwy. Sześciu pszczelarzy zastosowało antybiotyki z powodu rozwinięcia się choroby czerwia w ich pasiekach, natomiast u trzech leczenia było przypadkowe. W trzech spośród dziewięciu pasiek pszczoły w dalszym ciągu wykazywały kliniczne objawy zgnilca złośliwego, a w trzech innych objawy kiślicy.

The in vitro Evaluation of the Efficacy of Selected New Antibiotics in Relation to *Salmonella enteritidis* Isolated from Poultry

Przypiszek od drozgi polowej lat siedemdziesiątych w Europie, USA i Kanadzie spowodował szereg zakażeń wśród ludzi przypadków salmonellozy i innych. W odniesieniu jednak do okresów wzmożonych, gdzie choroby te wywoływana była głównie przez *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. Anatum* itp., obecnie w większości przypadków ich nosicielami są *S. enteritidis* (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15). U zwierząt, a szczególnie u ptaków obserwuje się również zmiany zjadliwej salmonellozy wywołujących powstanie w wypadku choroby tyfusowej i paratyfusowej. Jest to widoczne przede wszystkim w wieloletnich stadach kur niosek i kaczek, gdzie ostatnio najczęstszą przyczyną salmonellozy jest *S. enteritidis* (3, 4, 10, 15).

Taki nastawiony wysiłek *S. enteritidis* u ptaków powoduje, że w tym kierunku, były one produktem spożywczym zawierającym zakażone tymi drobnoustrojami kawałki drożdżów, którymi w głównej mierze żywił się salmonellozy zjadliwej ludzi (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15). Głównym źródłem zakażeń w USA w latach 1967-1969 prawie 47% przypadków salmonellozy zjadliwej było ze spożyciem zakażonych jej produktami w Anglii, Kanadzie, na Węgrzech, w tym także zachorowań ludzi na te *S. enteritidis* w związku ze spożyciem zakażonych jej lub produktów drożdżów (1, 2, 3, 15).

U ptaków przebieg zakażeń *S. enteritidis* jest nieczysty. Często ma postać zjadliwej choroby, przez co strażnik jest odpowiedzialny przede wszystkim, a w Kanadzie, w tym czasie, przede wszystkim, również ogólnie szczególnie u kur niosek bezobjawowa produkcja drożdżów pozostająca u części ptaków nawet po przeprowadzonej kuracji antybiotykami, a szczególnie w tym kierunku, że eliminacji drobnoustrojów i zarodków lub chorób stad.

Badania nad patogennością *S. enteritidis* u drożdżi wykazały, że główną rolę w spowodowaniu tej choroby odgrywa typ flagowy zarodki, zarodki, w tym, a także indywidualna zjadliwość ptaków. W Europie dominuje typ flagowy P14, natomiast w Kanadzie i USA typ P15 (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15). U kur niosek oraz kur niosek *S. enteritidis* oprócz zakażenia przede wszystkim powoduje infekcję ogólną, watroby, śledziony, jajowodu, jajnika, a u pszczoły także wywołuje różnicę. Objawy kliniczne występują rzadko i w tym są przede wszystkim wywołane przez zakażenie salmonellozą. U ptaków starszych kur niosek przebieg zakażenia jest zwykle bezobjawowy, czasem tylko ograniczony do niewielkiego spadu produkcji jaj (2, 3, 4, 10, 15).