

De meest verwoestende van alle broedziekten

M.J. van Iersel

In 1769 noemde Schirach een bepaalde ziekte van het broed van de honingbij 'vuilbroed'. Sindsdien hebben verschillende schrijvers diverse typen 'vuilbroed' genoemd. Het is niet bekend naar welke van deze ziekten Schirach oorspronkelijk verwees. In 1885 werd in Engeland de oorzaak vastgesteld van een van de soorten vuilbroed en men noemde de ziekteverwekker *Bacillus Alvei*, tegenwoordig *Melissococcus* genoemd. Deze ziekte is later Europees vuilbroed genoemd want hij is voor het eerst beschreven door een onderzoeker in Europa.

Een verwoestende ziekte

In 1903 ontdekte White de ziekteverwekker van een van de andere typen vuilbroed. Het was een bacterie en hij noemde deze *Bacillus larvae*. De ziekte werd Amerikaans vuilbroed genoemd omdat het onderzoek werd uitgevoerd in de staat New York, VS. Onlangs is *B. larvae* herbenoemd als *Paenibacillus larvae* ondersoort *larvae* (*P.l. larvae*).

Amerikaans vuilbroed (AVB) wordt beschouwd als de meest verwoestende van alle broedziekten van de honingbij. Normaal zullen volken, waarvan in het gesloten broed klinische symptomen van AVB te zien zijn, sterven, als er geen behandeling wordt uitgevoerd. De ziekte kan grote economische verliezen veroorzaken voor zowel imkers als bedrijven die van bestuiving afhankelijk zijn. De laatste 10 jaar is er een toename van het aantal gevallen van AVB in Europa. Dit onderstreept het belang van preventie en bestrijding.

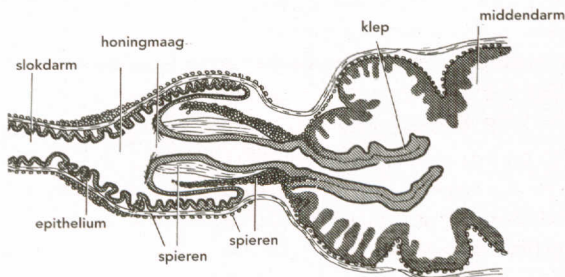
Amerikaans vuilbroed is een ziekte van het jonge broed

Zodra de larve uit het ei te voorschijn komt, wordt ze door de voedsterbijen gevoerd en daarbij kan de larve de sporen van de bacterie binnenkrijgen. Sporen van *P.l. larvae* kunnen zowel de werksterlarven als koninginnen- en darrenlarven infecteren. Uit een studie bleek dat larven die jonger zijn dan 24 uur het meest kwetsbaar zijn. De gevoeligheid van honingbijlarven is onder andere erfelijk bepaald. Een onderzoek laat zien dat 50% van 18-24 uur oude larven van een resistente lijn dood ging zodra ze meer dan 2.500 sporen kregen toegediend. Bij een minder

resistente lijn was dat al bij 1.300 sporen het geval. In een andere studie werden de larven in het laboratorium opgekweekt. Op die manier is het mogelijk de invloed van de voedsters uit te sluiten. Larven van 24-28 uur oud bleken gevoelig te zijn voor infectie door *P.l. larvae* met een duidelijk verband tussen de hoeveelheid sporen en de reactie. Oudere larven worden steeds ongevoeliger voor infectie, zodat er geen duidelijk verband aantoonbaar was tussen sporendosis en afsterven bij larven ouder dan 48 uur.

Anatomie van de middendarm

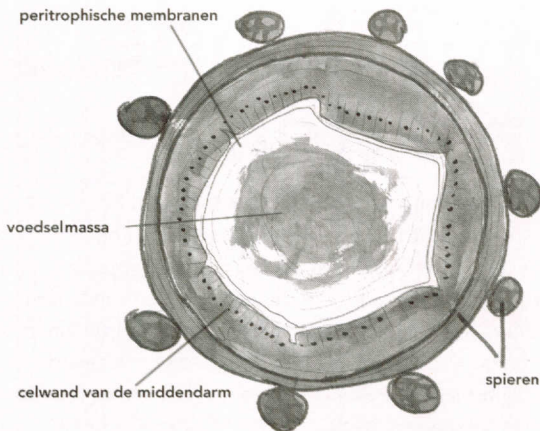
Om de ontwikkeling van de bacterie *P.l. larvae* in de individuele larf te begrijpen moeten we de bouw van de middendarm kennen. We onderscheiden daarbij de ruimte in het darmkanaal, het lumen en de ruimte buiten het darmkanaal, de haemocoel waar het bijenbloed zich bevindt. Het darmkanaal zelf kent een darmwand, aan de buitenkant omgeven door spieren in dwars- en lengterichting. De darmwand noemt men het epithelium en bestaat uit cellen. Afscheidingen van deze cellen zorgen voor de spijsvertering. De darmwand is van het voedsel in de darm gescheiden door vliezen, de zogenaamde peritrofe membranen. De functie van deze vliezen is niet geheel duidelijk. Men veronderstelt dat ze de darmwand beschermen tegen beschadigingen door de harde stuifmeelkorrels.



Lengtedoorsnede van de honingmaag en begin middendarm (naar Snodgrass, 1956)

Ontwikkeling van AVB in de larven

De sporen uit het besmette larvenvoedsel ontkiemen in de middendarm. De aanwezigheid van koolstofdioxide maakt de spore duidelijk dat ze zich in de middendarm bevindt en kan ontkiemen. Uit de



Dwarsdoornede van de middendarm van de honingbij

4 ■ spore komt de bacterie *P.l.larvae* te voorschijn. De bacterie is staafvormig en vermenigvuldigt zich al in het darmkanaal. De bacteriën proberen door de peritrofe membranen heen te komen. Daarna dringen ze door in het epithelium van de middendarm en gaan daar doorheen naar de lichaamsruimte buiten de darm. Hierin bevindt zich het bijenbloed. De bacteriën ondervinden dan geen hindernissen meer bij de verspreiding door het gehele lichaam. Ze vermenigvuldigen zich snel. Tenslotte zijn alle weefsels en organen van de larf aangetast. Dit stadium wordt bereikt in de overgang van larf naar pop. De pop sterft nu snel. Zodra er in de pop geen voedsel meer voor de bacteriën over is of zodra het aantal bacteriën een bepaald aantal overschrijdt, gaan ze over tot sporevorming. In een enkele rottende larf worden $2,5 \times 10^9 = 2.500.000.000$ sporen gevormd.

Immuniteit aangetast

Tijdens de infectie van de larve scheidt *P.l.larvae* een eiwit (proteïnase) af dat de werking van het immuniteitsstelsel van de besmette larve belemmert. Dat eiwit is in staat de werking van apidaecinen te onderdrukken. Apidaecinen zijn speciale eiwitten die de bij maakt om een binnendringende ziekteverwekker te bestrijden. Apidaecinen maken de bij immuun totdat de infectiedruk te hoog wordt, anders gezegd totdat er teveel sporen zijn binnengedrongen. Het mechanisme van aanval en afweer bij een besmetting met AVB wordt nog niet goed begrepen. Het eiwit proteïnase van *P.l.larvae* onderdrukt de werking van de afweerstoffen (apidaecines) van de larf, maar bij larven zijn tot nu toe alleen niet actieve afweerstoffen gevonden. Volwassen bijen zijn resistent tegen AVB. In besmette bijen kunnen sporen meer dan 2 maanden in het spijsverteringskanaal aanwezig blijven. Deze sporen

zijn besmettelijk en kunnen een uitbraak van AVB veroorzaken als ze aan jonge larven gevoerd worden. Zo fungeren besmette bijen als dragers van de ziekte.

Uitbraak van AVB in een volk

Diverse studies tonen aan dat er bij volken zonder klinische symptomen van AVB sporen van *P.l.larvae* in de honing aanwezig kunnen zijn. Gedurende een aantal jaren (1978-1990) had 9,7% van de onderzochte Deense volken honing die besmet was met sporen, terwijl slechts 3,7% van de volken klinische symptomen liet zien. Volken kunnen meerdere jaren honing hebben met veel sporen van AVB en toch geen klinische symptomen laten zien. Verder hebben veldproeven met volken die besmet werden met *P.l.larvae* aangetoond dat de bijen de sporen uit het volk kunnen verwijderen en dat er geen eenvoudige samenhang bestaat tussen het aantal sporen in de honing en de eerst zichtbare tekenen van AVB in het gesloten broed.

Het aantal sporen van *P.l.larvae* dat nodig is om een uitbraak te veroorzaken is experimenteel onderzocht door grote bijenvolken suikerwater met een bekend aantal sporen te voeren. Er was geen duidelijke samenhang te ontdekken tussen de hoeveelheid sporen die werd gevoerd en het ziek worden van de volken. Het gevoerde aantal sporen varieerde van 6 miljoen tot 2 miljard. Sommige volken werden al ziek bij het lage aantal sporen, anderen pas bij 2 miljard sporen.

Deze verschillen zijn te verklaren door verschillen tussen de bijenvolken: de meer of minder sterke natuurlijke weerstand zoals die erfelijk in een bepaalde bijenlijn wordt doorgegeven, de sterkte van het volk, de verhouding van volwassen bijen en broed, verschillen in dracht en stuifmeel verzamelen en verschillen in weer en klimaat.

Verspreiding onder de volken

De natuurlijke verspreiding van AVB is gering, vooral omdat de meeste sporen uit de circulatie worden gehaald door het hygiënisch gedrag van de volwassen bijen en omdat alleen de jongste larven vatbaar zijn. AVB kan verspreid worden door volken te voeren met honing of stuifmeel waarin sporen van *P.l.larvae* aanwezig zijn, door bijen die honing roven bij besmette volken. De infectie wordt ook verspreid door ramen besmet broed van het ene naar het andere volk over te brengen en door het gebruik van besmette bijenkasten of ander besmet materiaal. Vervliegende bijen zijn geen grote oorzaak in het verspreiden van de ziekte. Betrekkelijk weinig bijen

vervliegen en de meeste van hen dragen niet voldoende sporen bij zich om de infectie op gang te brengen. Koninginnen uit zieke volken kunnen nu en dan een aantal sporen van *P.I.larvae* bij zich hebben, terwijl werksters uit dergelijke volken een groot aantal sporen in hun darmkanaal hebben. Zelfs al zijn de koninginnen draagster van sporen dan nog zijn ze niet in staat om de klinische symptomen van AVB op te roepen als ze in een gezond volk worden ingevoerd.

Resistentie tegen AVB

De uitbraak van AVB houdt niet alleen verband met het aantal sporen dat aanwezig is in de honing van een volk, maar ook met het niveau van de weerstand tegen de ziekteverwekker in dat specifieke volk. Bij resistente volken vindt men gewoonlijk niet meer dan 200.000 tot 500.000 sporen per gram honing. Geen enkele lijn van honingbijen is immuun voor AVB, maar de weerstand ertegen is verschillend.

De weerstand bij de verschillende soorten larven (moer, dar, koningin) in het bijenvolk houdt verband met het stuifmeel in het voedsel van de larve. Koninginnenlarven krijgen het minste stuifmeel en zijn het bevattelijkst; werksterlarven krijgen een bescheiden hoeveelheid stuifmeel en zijn gemiddeld vatbaar en darrenlarven worden gevoed met het meeste stuifmeel en zijn het minst bevattelijk. Stuifmeel bevat micro-organismen die zich vijandig gedragen tegen *P.I.larvae*. Deze vijandige micro-organismen kan men isoleren uit de middendarm van larven en volwassen bijen en ook uit het door de bijen verzameld stuifmeel. Deze stoffen blijken dan in het laboratorium in staat het ontkiemen van de sporen en de groei van kolonies van *P.I.larvae* te verhinderen. Deze afremming gebeurt waarschijnlijk ook in het darmkanaal van de larven aangezien het experimenteel voeden van stuifmeel aan besmette larven van 6-18 uur oud het aantal sterfgevallen duidelijk verminderde. Aan de andere kant produceert *P.I.larvae* antibiotische stoffen die het effect verminderen van de natuurlijke microflora in het darmkanaal van de bij.

Verschillen in weerstand

Andere bestanddelen in het voedsel van de larven spelen ook een rol bij de weerstand tegen AVB. Bij resistente lijnen van de honingbij is het voedsel van de larven meer effectief in het verhinderen van het ontkiemen van de sporen en het groeien van de bacteriën dan het larvenvoedsel van bevattelijke lijnen. Men denkt dat de vetzuren in het larvenvoedsel een van de remmende componenten vormen.

De honingmaag (*proventriculus*) van de volwassen bij speelt ook een rol bij de weerstand tegen de ziekte. Sporen worden door de werking van het ventiel in de honingmaag uit de voedseloplossing verwijderd. Tot op zekere hoogte verhindert deze filterende werking van het ventiel dat er sporen terechtkomen in het voedsel voor de larven. Resistente lijnen filteren de sporen beter uit dan bevattelijke lijnen.

Een andere zeer belangrijke factor in het resistentie mechanisme is de vaardigheid van het volk om zieke larven te ontdekken en te verwijderen voordat de bacteriën tot sporevorming over kunnen gaan. Experimenten met individuele infectie van larven met *P.I.larvae* hebben aangetoond dat resistente volken larven die daardoor ziek worden, veel sneller verwijderen dan bevattelijke volken. In een resistent volk werd geen sporevorming waargenomen terwijl in een bevattelijk volk bij verschillende larven sporevorming optrad.

Preventie

In het algemeen wordt een regelmatige vervanging van de raten aanbevolen om een uitbraak van AVB te voorkomen. Broedkamerramen niet ouder laten worden dan 3 jaar.

Plaats de volken gedurende het actieve seizoen in gebieden met een goede nectar- en stuifmeeldracht. Geef volken een nieuwe moer uit een lijn met een goede resistentie tegen AVB. Gebruikte materialen grondig schoonmaken en bijen voeren als er geen dracht is.

Aangezien sporen van AVB gevonden worden in honing van volken zonder klinische symptomen, is het aan te bevelen om honing pas aan volken te voeren als deze vooraf getest is en negatief bevonden voor de aanwezigheid van sporen. (Noot van de vertaler: voor de gewone imker is dit praktisch onuitvoerbaar. Voorzichtig zijn met honing voeren is dus raadzaam). In de meeste gevallen zijn de sporen van *P.I.larvae* één jaar voordat de klinische symptomen te zien zijn, al te ontdekken. Voederkransonderzoek kan daarom een belangrijke rol spelen in de preventie van AVB.

Bovenstaand artikel is een vertaling en bewerking van een deel van het artikel: American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control, door Hansen, H. en Brodsgaard, C. uit 'Bee World' 80(1): 5-23 (1999) Verder geraadpleegd:

Anatomy of the honeybee door Snodgrass, R.E. Verslag Symposium Bijenziekten 1999, Kalmthout