

# Amerikaans vuilbroed herkennen is meer dan draden trekken

Tekst Bram Cornelissen en Dirk-Jan Valkenburg, Nationaal Referentie Laboratorium voor bijenziekten

## Inleiding

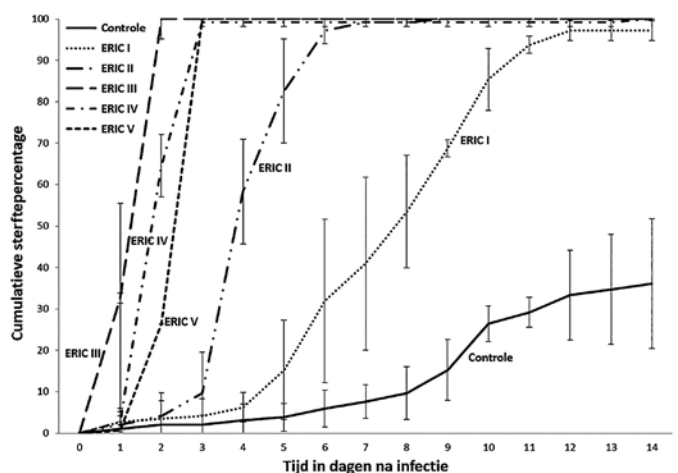
Niet veel mensen komen in hun carrière als imker in aanraking met Amerikaans vuilbroed (AVB). Gelukkig maar; de status als meldingsplichtige ziekte maakt de afwikkeling van een uitbraak een netelige zaak, die de getroffen niet in de kouwe kleren gaat zitten. In Nederland komt een uitbraak van AVB niet vaak voor, zeker als dit vergeleken wordt met bijvoorbeeld Duitsland, dat ongeveer tien keer zoveel uitbraken per bijenhouder heeft (persoonlijke communicatie Marc Schäfer, 2020). Maar door het ontbreken van een regelmatige screening en epidemiologische studies is het moeilijk te zeggen wat de status van AVB in Nederland is. Daar komt bij dat de aandacht begrijpelijkerwijs uitgaat naar klinische symptomen die we allen kennen van de basis cursus. Dit terwijl AVB meerdere verschijningsvormen heeft. In een tweetal artikelen zullen we het voorkomen en de verspreiding van Amerikaans vuilbroed in Nederland behandelen en stilstaan bij de twee verschijningsvormen die Nederland (liever kwijt dan) rijk is.

## De ziekteverwekker

Eerst even terug naar de basis. Amerikaans vuilbroed is een ziekte die wordt veroorzaakt door de bacterie *Paenibacillus larvae*. Deze ziekteverwekker kan in de vorm van sporen in een bijenvolk aanwezig zijn, zonder klinische symptomen te veroorzaken. Het begint allemaal bij de larven. Alleen larven jonger dan 36 uur kunnen via orale inname van sporen geïnfecteerd raken. Daarbij zijn minimaal tien sporen nodig om een dodelijke infectie in de larven te veroorzaken. De larve zal dus sterven en, indien dat onopgemerkt blijft tot na het verzegelen van de broedcel, als stroperige, dradentekkende massa een reservoir van miljoenen sporen zijn. Als meerdere larven geïnfecteerd raken, kunnen zich uiteindelijk op volksniveau klinische symptomen ontwikkelen. We spreken dan ook pas van een uitbraak van AVB als daadwerkelijk klinische symptomen in een bijenvolk worden waargenomen.

In de laatste twintig jaar is door de ontwikkeling en verfijning van moleculaire technieken veel meer bekend geworden over AVB en de ziekteverwekker die het veroorzaakt. In 2009 werd al een goed artikel gepubliceerd in *Bijenhouden* over de verschillende genotypen die van de bacterie *Paenibacillus larvae* voorkomen (Genersch, 2009, vertaald door Jan Kruit). Binnen een soort kunnen verschillende genotypen gedefinieerd worden, waardoor ieder genotype iets andere overerfbare eigenschappen heeft. Dit geldt ook voor *Paenibacillus larvae*, waarvan de genotypen worden aangeduid als ERIC I t/m V (Beims e.a., 2020). Deze vijf genotypen zijn door moleculaire technieken gescreend en vastgesteld op basis van zich herhalende genetische

fragmenten in hun DNA. Daarbij laten deze genotypen verschillen zien in eigenschappen, waaronder hun ziekmakend vermogen (virulentie) en morfologische kenmerken. In totaal zijn er nu dus vijf genotypen omschreven, maar er zijn er naar alle waarschijnlijkheid meer. ERIC I is welbekend. Dit is het genotype dat klinische symptomen veroorzaakt zoals in de basis cursus wordt geleerd. Maar uit onderzoek in Duitsland en België komt naar voren dat dit niet het enige genotype is dat in deze landen voorkomt (Genersch, 2009; Deschamps e.a., 2016). Dit maakt het waarschijnlijk dat ook in Nederland andere genotypen te vinden zijn, maar door het ontbreken van epidemiologisch onderzoek in deze richting is dit niet daadwerkelijk vastgesteld. Waarom is dit belangrijk om te weten? In de eerste plaats is het belangrijk om vast te stellen dat niet alle ERIC-genotypen klinische symptomen op volksniveau veroorzaken. ERIC III, IV en V doen dat niet en dit komt doordat deze genotypen een zeer snelle dood van geïnfecteerde larven veroorzaken (Beims e.a., 2020). Geïnfecteerde larven houden het in laboratoriumstudies niet langer dan drie dagen vol voordat ze sterven. Zieke of dode larven produceren vluchtige stoffen in hun maag die snel worden opgemerkt door werksters en ze worden, nog voordat sporen worden gevormd, uit het volk verwijderd. In de praktijk zullen deze genotypen dan ook niet opgemerkt worden door bijenhouders. Voor de genotypen ERIC I en II is dit anders. In laboratoriumstudies houden larven geïnfec-



Figuur 1. Sterftepercentage van honingbijlarven (<30 uur oud) na infectie met vijf verschillende *P. larvae* genotypen (500 sporen). Weergegeven is het cumulatieve sterftepercentage (y-as) over tijd in dagen (x-as). Binnen drie dagen na infectie (vijf à zes dagen na eileg) is het sterftepercentage van alle larven geïnfecteerd met ERIC III, IV en V 100%. Binnen zeven dagen zijn vrijwel alle larven geïnfecteerd met ERIC II dood, terwijl bijna alle larven geïnfecteerd met ERIC I twaalf dagen na infectie dood zijn. (Bron: Beims e.a., 2020).



Bijenvolk besmet met Amerikaans vuilbroed. Foto credits Wikimedia Commons/Tanarus, CC BY-SA 3.0

teerd met ERIC II het niet langer dan 7 dagen vol. Dit betekent dat in de praktijk de meeste geïnfecteerde larven worden geruimd voordat de broedcel op dag negen verzegeld wordt. Niettemin zal een klein deel (10%) van de geïnfecteerde larven toch verzegeld worden, waardoor er wel sporen gevormd worden en de infectie in stand blijft. En dan ERIC I. Dit is het genotype dat we het meeste tegenkomen. Pas na 12 dagen zijn alle larven bezweken; op het moment van verzegeling zal 40% van de geïnfecteerde larven nog in leven zijn (zie figuur 1). Het gevolg is dat een groot deel van deze larven niet geruimd wordt door de werksters en dat ze uiteindelijk na verzegeling veranderen in een sporenmassa.

Opmerkelijk genoeg is er dus een negatieve correlatie tussen de virulentie van *Paenibacillus larvae* op individueel niveau en volksniveau als gevolg van het hygiënisch gedrag van werksters. Hoe sneller een genotype een larve doodt, hoe minder het genotype voor klinische symptomen zorgt in een volk.

In Nederland en ook in andere landen gaat de meeste aandacht uit naar het genotype ERIC I. Dat is logisch, want dit is het genotype dat het meeste voorkomt en de grootste problemen veroorzaakt.

In monitorstudies is ongeveer 67% tot 75% van de positieve bijenmonsters van het type ERIC I. Het overgrote deel dus. Niettemin is ERIC II een goede tweede met ongeveer 30%. Met andere woorden, ERIC II moeten we zeker niet over het hoofd zien, terwijl dit nu juist letterlijk het probleem kan zijn, omdat het ziekteverloop op volksniveau langzamer is dan bij ERIC I. Doordat bij ERIC II ongeveer 90% van de dodelijk geïnfecteerde larven geruimd wordt voordat de cellen verzegeld zijn, komen minder sporen vrij. Daarnaast worden geruimde cellen weer belegd door de koningin waardoor er in

eerste instantie een minder uitgesproken hagelschotpatroon ontstaat dan bij ERIC I-infecties. Bovendien zijn er minder makkelijk draden te trekken van larven geïnfecteerd met genotype ERIC II, waardoor de kans bestaat dat afwijkend broed niet als AVB wordt opgemerkt. Met andere woorden, doordat het ziekteverloop langzamer is en het ziektebeeld kan afwijken, kan een infectie mogelijk langer onopgemerkt blijven. Desondanks is de uitkomst op de langere termijn hetzelfde als bij ERIC I en is de kans groot dat een geïnfecteerd bijenvolk zonder ingrijpen instort.

## Afsluiting

In het tweede artikel staan we stil bij uitbraken in Nederland in het verleden, of we iets kunnen zeggen over de ruimtelijke clustering van deze uitbraken en of er oorzaken aan te wijzen zijn voor deze clustering. ●

## Referenties

- Beims, H., Bunk, B., Erler, S., Mohr, K.I., Spröer, C., Pradella, S., Günther, G., Rohde, M., von der Ohe, W. en Steinert, M., 2020. Discovery of *Paenibacillus larvae* ERIC V: Phenotypic and genomic comparison to genotypes ERIC I-IV reveal different inventories of virulence factors which correlate with epidemiological prevalences of American Foulbrood. *International Journal of Medical Microbiology*, 310(2):151394.
- Deschamps, T., de Smet, L., Stragier, P., de Vos, P. en de Graaf, D.C., 2016. Multiple Locus Variable number of tandem repeat Analysis: A molecular genotyping tool for *Paenibacillus larvae*. *Microbial Biotechnology* 9 (6): 772 – 781.
- Genersch, E., 2009. Amerikaans vuilbroed kent varianten. *Bijenhouden* 3(11):3-5. Vertaald door Jan Kruit.