

# Früherkennung der Sauerbrut durch «real time PCR»

Die hochempfindliche PCR-Methodologie ist ein wichtiges Instrument in der Diagnose und Bekämpfung der Sauerbrut. Sie ist aber teurer als die Überprüfung der Völker durch den Bieneninspektor.

VALÉRIE GRANGIER<sup>1,2,3</sup>, LUC BELLOY<sup>1</sup>, JEAN-DANIEL CHARRIÈRE<sup>2</sup>, MARCUS G. DOHERR<sup>3</sup>, ALBERT FRITSCHÉ<sup>4</sup>, ANDREAS S. WALDVOGEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>INSTITUT GALLI-VALERIO, LAUSANNE; <sup>2</sup>ZENTRUM FÜR BIENENFORSCHUNG, AGROSCOPE ALP-Haras; <sup>3</sup>VPH INSTITUT, UNIVERSITÄT BERN, <sup>4</sup>KANTONSTIERARZT ST. GALLEN



Durch Sauerbrut stark befallene Brutwabe.

FOTO: KASPAR RUOFF

entnommen. In 34 von 88 beprobten Bienenständen (38,6 %) wurden keine Erreger festgestellt, in 54 Ständen (61,4 %) konnte *M. plutonius* nachgewiesen werden. Die Inspektoren wurden gebeten, während der Beprobung anzugeben, ob ein Verdacht auf Sauerbrut besteht oder nicht. Durch den Vergleich der Ergebnisse der visuellen Kontrolle und der durch «real time PCR» erhaltenen Resultate konnten wir zeigen, dass die Sensibilität der PCR-Methode (Zuverlässigkeit des Tests, bei Auftreten der Krankheit ein positives Ergebnis anzuzeigen) bei 93,3 % lag. Mit anderen Worten wurden die Krankheitserreger der Sauerbrut in quasi allen Bienenständen mit Symptomen angezeigt (14/15). Die Spezifität (Zuverlässigkeit des Tests, bei Nicht-Auftreten der Krankheit ein negatives Ergebnis anzuzeigen) lag hingegen nur bei 45,2 % (33/73), da das Bakterium durch die PCR-Methode in zahlreichen Bienenständen (40) angezeigt wurde, in welchen keinerlei klinische Symptome sichtbar waren. Das bedeutet, dass das Verfahren entweder nicht spezifisch genug ist oder – was wahrscheinlicher ist – dass es zahlreiche Trägervölker gibt, in welchen die Krankheit nicht oder noch nicht ausgebrochen ist.

Die Schweiz wird seit ungefähr 10 Jahren mit steigenden Fallzahlen der Sauerbrut (Europäische Faulbrut) konfrontiert, einer Krankheit, welche die Bienenlarven befällt und durch das Bakterium *Melissococcus plutonius* verursacht wird. Laut Tierseuchengesetz fällt diese Krankheit unter die «zu bekämpfenden Seuchen» und ist meldepflichtig (Grafik und Fotos). Gemäss schweizerischer Gesetzgebung wird ein Fall von Sauerbrut durch das Auftreten klinischer Symptome definiert. Sobald ein Fall entdeckt wird, wird der Umkreis von einem Kilometer zum Sperrgebiet erklärt. Anschliessend muss der verantwortliche Bieneninspektor sämtliche Völker im Sperrgebiet kontrollieren. In Regionen mit hoher Dichte an Bienenständen ist diese Massnahme mit einer grossen Arbeitsbelastung verbunden. Für die Bieneninspektoren wäre es somit hilfreich und wünschenswert, wenn sie die visuellen Kontrollen auf diejenigen

Bienenstände beschränken könnten, in welchen der Krankheitserreger präsent ist. Dieses Pilotprojekt hatte zum Ziel, eine molekularbiologische Diagnostik (real time PCR) bei vom Imker entnommenen Bienenproben zu testen. Mit dieser Analyse kann das Vorhandensein oder die Abwesenheit des Sauerbruterregers durch in vitro Amplifikation (Anm. Red.: Vermehrung des Bakterienerbgutes im Labor) nachgewiesen werden. Die Kontrollen vor Ort könnten somit auf die PCR-positiven Stände beschränkt werden. Es bleibt zu bemerken, dass die Anwesenheit des Bakteriums in einem Volk nicht unbedingt heisst, dass dieses Volk auch krank ist.

## Versuchsansatz

Zur Durchführung des Projekts wurden im Jahr 2010 Bienenproben aus 88 Schweizer Bienenständen (in den Kantonen Bern, Solothurn und Appenzell-Innerrhoden) in Sperrgebieten

## Entwicklung der Infektion und Wirkung der Sanierung

Einen Monat nach der ersten Probenahme wurden 35 der 54 befallenen Bienenständen erneut untersucht. Beim Vergleich der beiden Probenahmen lässt sich beobachten, dass das Bakterium in 14 % der Fälle (5/35) bei der zweiten Probenahme nicht nachgewiesen werden konnte. Hingegen wurde das Bakterium in 8 von 9 Bienenständen, in welchen sich bei der ersten Probenahme Symptome feststellen liessen, einen Monat später

trotz der erfolgten Sanierungsmassnahmen (Eliminierung der klinisch kranken Völker) immer noch nachgewiesen. Dies zeigt, wie schwierig es ist, diesen Krankheitserreger zu eliminieren. Im Frühjahr 2011 wurden 46 Bienenstände, in welchen bei der Erstbeprobung *M. plutonius* auftrat, erneut getestet. Dabei war *M. plutonius* in 35 % (16/46) dieser Bienenstände nicht mehr nachweisbar. Langfristig lässt sich somit ein Rückgang der befallenen Bienenstände beobachten.

### Risikofaktoren

Mittels eines Fragebogens wurden die Imker und Bieneninspektoren auch zum Zustand und insbesondere zur Geschichte der Bienenstände befragt. Anhand der Antworten wurden verschiedene Risikofaktoren mit dem Auftreten klinischer Symptome in Beziehung gesetzt. Die einzigen erhärteten Korrelationen bestanden in einer geringen Futterreserve, der Schwäche der Völker und einem schlechten Zustand der Brut. Es fragt sich natürlich, ob die beiden letztgenannten Faktoren Folgen oder Auslöser der Krankheit sind. Was die Futterreserven betrifft, so ist es ebenfalls schwierig zu beurteilen, ob das Risiko für einen Ausbruch der Krankheit bei Völkern mit geringen Futterreserven höher ist oder ob die kranken Völker schwächer sind und folglich weniger Futter sammeln.

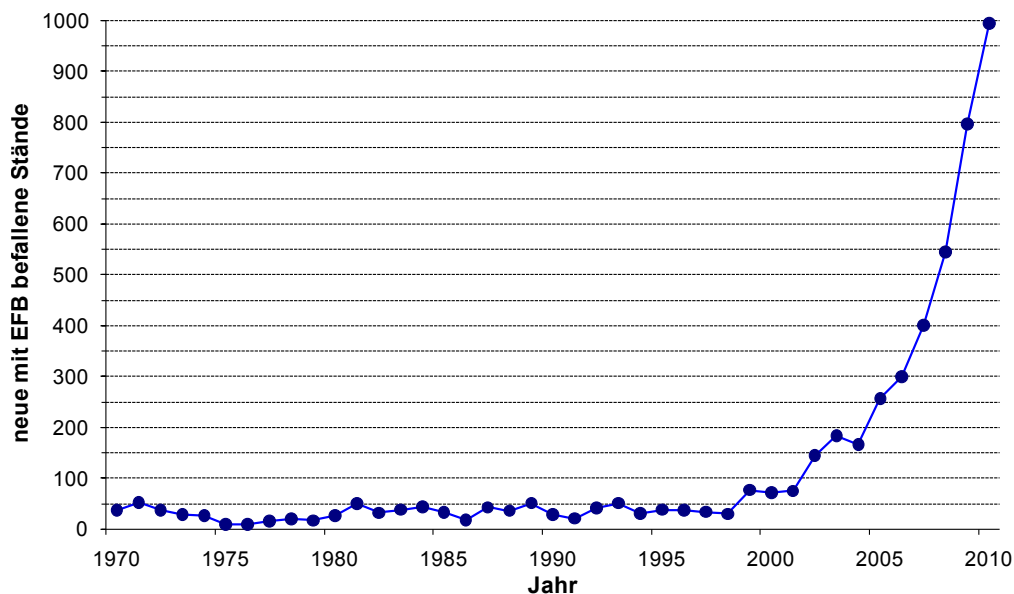
### Teurere PCR-Analyse

Die Idee, die Bieneninspektoren durch PCR-Proben der Imkerschaft zu entlasten (Foto rechts), wurde auch kostenseitig analysiert. Offensichtlich liegen die Kosten nach der Berechnung verschiedener Szenarien (gemäss dem Vergütungsbeispiel des Kantons Bern, CHF 30.–/Stunde ; CHF 0.90/km; CHF 85.–/PCR-Analyse) unabhängig von dem Prozentsatz an Bienenständen, die es aufzusuchen gilt, für das PCR-Szenario höher als bei der heute geltenden Regelung, also dem systematischen Kontrollieren aller im Sperrgebiet befindlichen Bienenstände.

### Schlussfolgerung

Die Studie zeigt folglich, dass die Analyse durch «real time PCR» von Bienenproben, die durch die Imker gezogen

Fälle mit Sauerbrut in der Schweiz



wurden, die visuellen Kontrollen der Bieneninspektoren nicht kostensparend ersetzen kann. Wenn der Imker jedoch dank der PCR-Technik gewarnt wird, dass *M. plutonius* in seinem Bienenstand vorhanden ist, kann er von dieser Information profitieren, indem er seinen Völkern mehr Aufmerksamkeit schenkt und möglicherweise zusätzliche Massnahmen ergreift, um die Entwicklung und Verbreitung der Krankheit zu vermeiden. Der Imker könnte also noch vermehrt darauf achten, regelmässig eine systematische Brutkontrolle durchzuführen, seine alten Rahmen rascher erneuern, auf den Austausch von Rahmen und anderem Material zwischen Völkern und Bienenständen verzichten, Futtermangel und Räuberei vermeiden und kein ausleckbares Material in der Nähe des Bienenstandes liegen lassen. Die durch die Analyse verfügbare Information kann potenziell dazu beitragen, die Entwicklung der Krankheit mittelfristig einzuschränken. Dieser Aspekt wurde in unserem Versuch jedoch nicht berücksichtigt. Zudem ist die «real time PCR» ein nützliches Werkzeug, um die Abwesenheit von *M. plutonius* nachzuweisen. So können die Imker mit dem Einverständnis des Kantonstierarztes ihre Völker aus einem Sperrgebiet bringen und ein Züchter kann ohne das Risiko, die Krankheit zu verbreiten, die Belegstation aufsuchen. Die «real time PCR» könnte auch eine wirksame Methode sein, um festzustellen, ob

die Sanierungsmassnahmen sowie zusätzliche Techniken wie die Bildung von Kunstschwärmen erfolgreich durchgeführt wurden.

### Dank

Wir danken den beteiligten Bieneninspektoren, die massgeblich zum Gelingen des Projektes beigetragen haben: Max Tschumi, Martin Fässler und seine Kollegen, Robert Oeschger, Adolf Stucki, Hans Reber, Hanspeter Beer, Alfred Höhener sowie Walter Gasser. Wir danken auch dem Bundesamt für Veterinärwesen für die Finanzierung des Projekts und Alexandra Roetschi (ALP-Haras) für die technische Unterstützung. 

Zunahme der Fallzahlen von Sauerbrut in den letzten Jahren. (<https://www.infosm.bvet.admin.ch>)



FOTO: MAX TSCHUMI

Probenahme von Bienen im Brutnest mithilfe einer Zündholzsachtel.