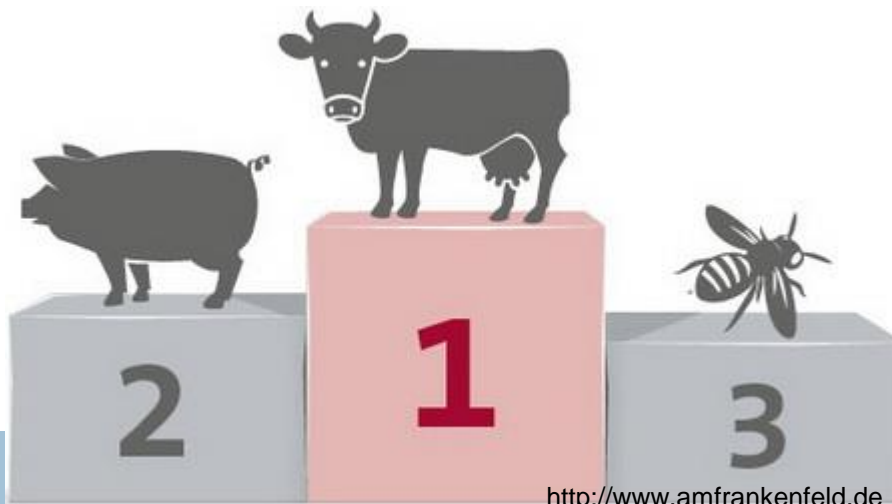


**Nachweis von Bienen-Viren mittels Real Time PCR -
ein Beitrag zur Ursachenabklärung bei Völkersterben**

Labordiagnostik in der Bestandsbetreuung – Bienen!

- In Europa werden 84 Prozent der 4.000 Gemüsearten und 264 Getreidearten von Bienen bestäubt.
- In Deutschland bestäuben die Bienen rund 80 Prozent der Nutz- und Wildpflanzen von der Karotte über die Tomate bis hin zum Klee.
- Das Umweltbundesamt bewertet die Biene als **drittwichtigstes Nutztier nach Rind und Schwein.**



Stoffwechselfdiagnostik bei Bienen?

- Untersuchung von Hämolymphe?
- Parameter?
- Referenzwerte?
- Aussagekraft/Interpretation?

Anzeigepflichtige Bienenkrankheiten

- Amerikanische Faulbrut
(*Paenibacillus larvae*)



- Befall mit dem Kleinen Beutenkäfer
(*Aethina tumida*)

- Befall mit der Tropilaelaps-Milbe



Weitere Erreger von Bienenkrankheiten

- Varroa-Milbe (*Varroa destructor*)
- Bienenviren:
 - Flügeldeformationsvirus (DWV)
 - Akute Bienenparalyse-Virus (ABPV)
 - Chronische Bienenparalyse-Virus (CBPV)
 - Sackbrutvirus (SBV)
 - Kaschmir-Bienenvirus (KBV)
 - Schwarze Königinnenzellen-Virus (BQCV)
 - u.v.m.



FLI, M. Schäfer

Was hat *Varroa destructor* mit Bienenviren zu tun?

- **Orale** ABPV-Aufnahme durch Bienen: **hohe Dosis** erforderlich, um Erkrankung auszulösen
- **Orale** Aufnahme **geringer Dosis** durch Bienen („Normalfall“): **inapparente** Infektion (Viren verbleiben im Darmtrakt)
- **Direkte Injektion** von ABPV in die **Hämolymphe** durch Varroa: klinische Symptome bis hin zum **Tod der Bienen** bei Übertragung **geringer Dosen**

→ *Varroa destructor* ist Vektor für Bienenviren, injiziert Viren direkt in die Hämolymphe, Viren sind dann auch im Kopf zu finden, verursachen erhöhte Wintersterblichkeit von Völkern!

Biene mit *Varroa destructor*



LALLF M-V, A. Drohla

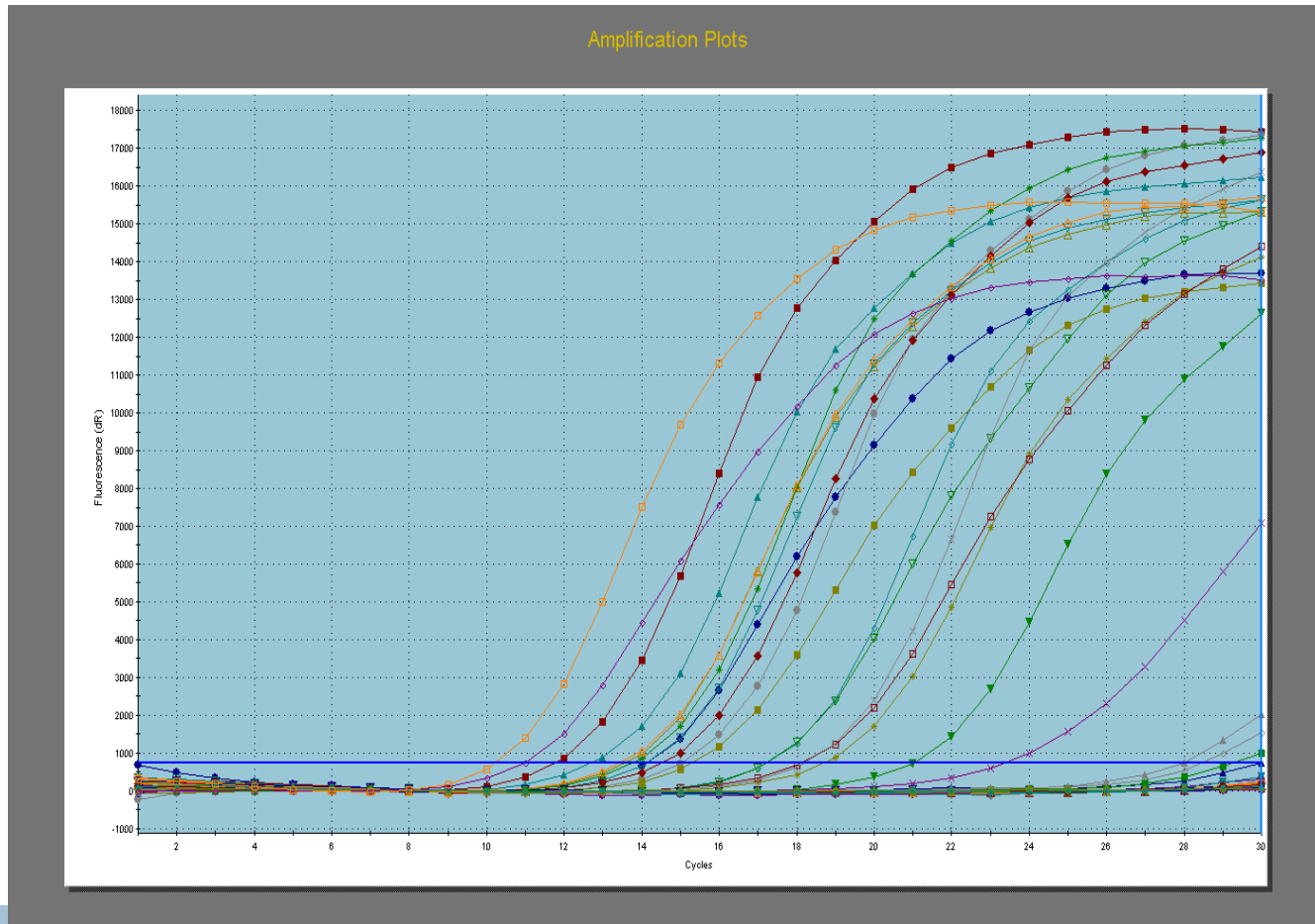
Real Time-PCR zum Nachweis von Bienenviren

- ABPV- und CBPV-RNA-Nachweise: Real Time RT-PCR nach Empfehlung des EU- bzw. des Nationalen Referenzlabors mittels Hydrolyse-(TaqMan-) Sonden
- DWV: Viele verschiedene Stämme beschrieben, TaqMan-Sonde erfasst nicht alle Stämme

→ Real Time RT-PCR mit Primern aus dem DEBIMO (Genersch 2005) ohne TaqMan-Sonde, dafür mit SYBRGreen und Schmelzpunktanalyse (Eigenentwicklung des LALLF M-V)

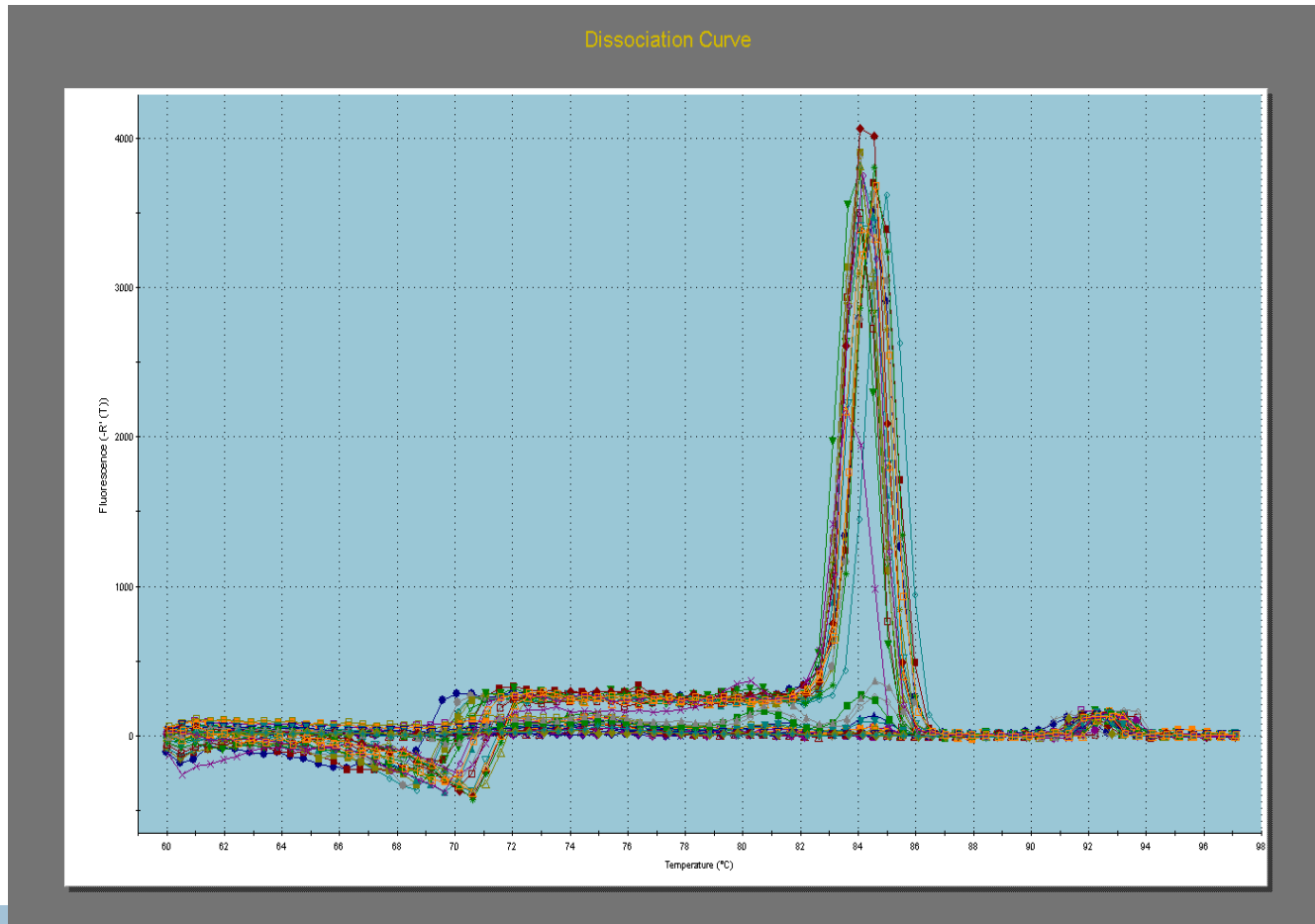
Amplification Plots

ABPV RT PCR TaqMan Probe (Jamnikar-Ciglenecki u. Toplak) 181217.mxp



Dissociation Curve

DWV RT PCR Dissociation Curve (Genersch) 181217.mxp



Labordiagnostik bei Völkersterben/Bienenverlusten

- Ausschluss von Pflanzenschutzmitteln (PSM): Gelbfiebermücken-Test aus Bienen und Pflanzen, wenn positiv (Kontaktgift!): chemische Analyse (JKI Braunschweig, 2012-2017 waren **nur 4 von 40 Verdachtsfällen** durch PSM verursacht)
- Parasitologische Untersuchung:
visuell *Varroa destructor*, mikroskopisch Nosema aus Darminhalt, Ausschluss von *Aethina tumida* und Tropilaelaps-Milbe aus Gemüll, Fallen o.ä. (Anzeigepflicht!)
- Bakteriologische Untersuchung: kulturell *Paenibacillus larvae* aus Honig und Futterkranz, eher schwache Brut als Völkersterben (Anzeigepflicht!)
- Molekularbiologische (virologische) Untersuchung: Real Time-PCR aus 10 Bienenköpfen/Volk auf DWV-, ABPV-, CBPV-RNA

Untersuchungsergebnisse September-Dezember 2017

Untersuchte Völker	DWV positiv	ABPV positiv	CBPV positiv	Varroa positiv	Nosema positiv
25	14 (56%)	6 (24%)	4 (16%)	19* (76%)	7 (28%)

-Von 25 Völkern waren **nur 5 Völker ohne Varroa-Befall**, diese 5 Völker waren auch **komplett negativ bzgl. Virusnachweisen in den Köpfen**.

→Varroa-Milbe ist der eigentliche Wegbereiter für die Viren mit der Hämolymphe in Richtung Kopf,
Folge: klinische Erkrankungen bis hin zum Völkersterben!

*1Volk bzgl. Varroa- und Nosema-Befall nicht auswertbar (zu wenige Bienen eingesandt, für parasitologische Untersuchung sind mind. 50 Bienen notwendig)

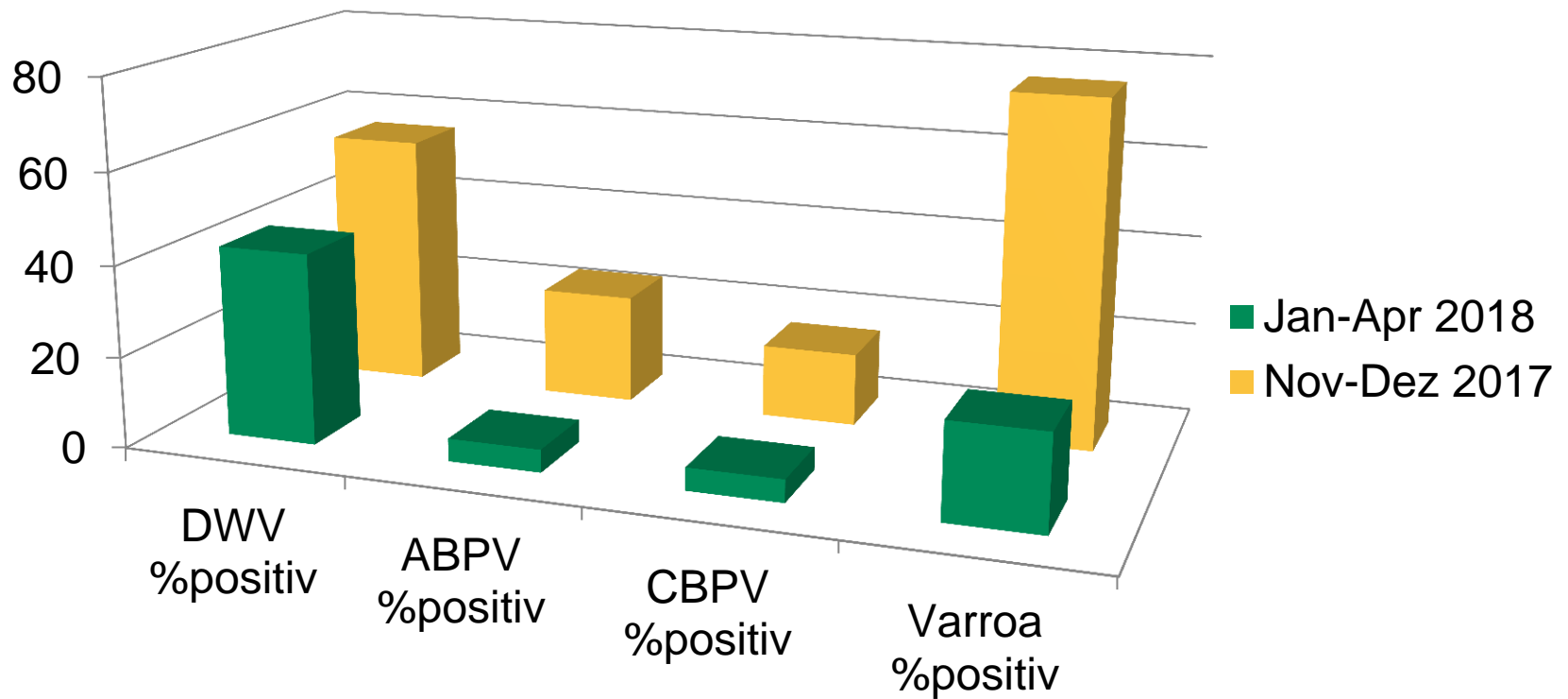
Untersuchungsergebnisse Januar-April 2018

Untersuchte Völker	DWV positiv	ABPV positiv	CBPV positiv	Varroa positiv	Nosema positiv
19	8 (42%)	1 (5%)	1 (5%)	4 (21%)	9 (47%)

-Von 19 Völkern waren **jetzt 15 Völker ohne Varroa-Befall**, 7 dieser 15 Völker waren trotzdem **positiv bzgl. Virusnachweisen in den Köpfen**.

→ Vermutlich (zu) späte Winter-Behandlung gegen Varroa (Reduktion von 76% auf 21% positiv), bestehende Virusinfektionen waren jedoch noch nachweisbar, wenngleich reduziert.

Varroa- und Virusnachweise Ende 2017/Anfang 2018



Schlussfolgerungen

- Vergiftung von Bienen durch PSM sind nicht so häufig wie vermutet (nur 10% der Verdachtsfälle bestätigt, Untersuchung im JKI Braunschweig)
- Virusbefall ist in Bienenvölkern weit verbreitet
- Klinische Erkrankungen durch Bienenviren treten erst dann auf, wenn die Varroa-Milbe Viren in die Hämolymphe der Bienen injiziert
- Varroa-Bekämpfung reduziert Völkerverluste durch Bienenviren

→ Die seit 2018 im LALLF verfügbare komplexe parasitologische, virologische (und bestehende bakteriologische) Diagnostik von Krankheitserregern kann zur **schnellen Abklärung der Ursachen von Völkersterben und Bienenverlusten** beitragen.

**Vielen Dank an die
Kollegen der
Pathologie
(Dr. C. Baumbach),
der Parasitologie
(VI M. Weber) und
des PCR-Labors
(VI S. Höber)**

**Wir danken für Ihre
Aufmerksamkeit!**



Foto: K. Risch