

Creation of a *Paenibacillus larvae* culture collection from the causative agent of American foulbrood of honey bees (*Apis mellifera*)

L. Makrai^{1*}

K. Sági¹

Zs. Lőrincz²

K. Nemes-Barnás²

L. Békési³

1. Állatorvostudományi Egyetem,
Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék,
1143 Budapest, Hungária krt. 23-25.

*e-mail: makrai.laszlo@univet.hu

2. Autovakcina Kft.,
1171 Budapest, Szabadság sugárút 57.

3. Haszonállat-génmegőrzési Központ,
Méhészeti és Méhbiológiai Intézet,
2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.

Baktériumtörzs-gyűjtemény létrehozása a mézelő méhek (*Apis mellifera*) nyúlós (amerikai) költésrothadását okozó *Paenibacillus larvae* hazai reprezentatív izolátumaiból

Makrai László^{1*}, Sági Krisztina¹, Lőrincz Zsanett²,
Nemes-Barnás Katalin², Békési László³

ÖSSZEFOGLALÁS

Munkánk célja egy hazai reprezentatív *Paenibacillus larvae* törzsgyűjtemény létrehozása volt, annak érdekében, hogy a hazai izolátumok tulajdonságainak jobb megismerése révén megfelelő megoldási javaslatokat tehessünk a betegség kártételének visszaszorítása érdekében. Magyarország különböző területeiről gyűjtött 297 mézmintából klasszikus bakteriológiai módszerekkel meghatároztuk az egységnyi mézmintában lévő *P. larvae* spórák számát. Az izolátumok fajszintű azonosítása tömegspektroszkópiás módszerrel történt. A létrejött hazai reprezentatív baktérium-törzsgyűjtemény 82 *P. larvae* izolátumot tartalmaz, amelyek Magyarország 17 megyéjének 49 településéről származnak.

SUMMARY

Background: American foulbrood caused by *P. larvae* has great economic impact among the bacterial honey bee diseases. The causative agent and the notifiable disease occur worldwide, also in Hungary. *P. larvae* is a Gram-positive spore-forming bacterium species. The resistance of its spore is very high, accordingly it can survive for decades. American foulbrood is a disease of the bee brood and the infection may spread fast in the colony and between colonies. Currently there is no effective treatment of the disease. Prevention from the clinical form of the disease might be aimed by the reduction of the number of spores in the bee hive. Using antibiotic treatment for honey bee colonies is forbidden in Hungary. The colonies showing clinical signs have to be killed, and the apiary gets quarantined.

Objectives: Our purpose was to create a representative bacterial culture collection of *P. larvae* in Hungary, in order to study the features of the Hungarian isolates (e.g. phenotypic and genotypic characters, susceptibility against disinfectants and so on).

Materials and Methods: A total of 297 honey samples were collected from different parts of Hungary (19 counties, 143 settlements), and different cultural methods were used for the isolation of the causative agent. Based on the cultural, morphological and biochemical features 82 isolates were cultured and stored in freezer at -80 °C till use. Identification of the isolates on species level was carried out using MALDI-TOF mass spectrometry, which identified all isolates as *P. larvae*.

Results and Discussion: As a result of our work on the one part the participating apiaries gained information about the infection of their colonies with the causative agent of American foulbrood, and on the other part a representative bacterial culture collection was set up, which comprise 82 *P. larvae* isolates from different parts of Hungary (17 counties, 49 settlements). This bacterial culture collection serves a basis for further research.

MÉH
MÉH

A nyúlós költésrothadás (*histolysis infectiosa pernicioso larvarum*) a mézelő méh (*Apis mellifera*) legjelentősebb bakteriális megbetegedése (17). Kórokozója a *P. larvae* nevű baktérium (2). A *Paenibacillus larvae* az egész Földön, így a folyamatos védekezés ellenére Magyarországon is széles körben elterjedt, és gyakran okoz súlyos klinikai tünetekben megnyilvánuló betegséget (4, 6).

A nyúlós költésrothadás a mézelő méh legjelentősebb bakteriális megbetegedése, amit a *Paenibacillus larvae* nevű baktérium okoz

A betegség hazánkban bejelentési kötelezettség alá tartozik

A betegség hazánkban bejelentési kötelezettség alá tartozik. A kórkép tekintetében érvényes, jelenleg is hatályos Állat-egészségügyi Szabályzat (1) előírásai alapján hatósági korlátozó intézkedéseket (pl. zárlat) kell bevezetni, a beteg méhcsaládokat ki kell irtani, a méhészetben szigorított fertőtlenítést kell végezni. A fertőtlenítést forrásban lévő 3%-os szódaoldattal (Na_2CO_3) vagy forrásban lévő 2%-os nátronlúggal (NaOH) kell elvégezni. A különböző eszközökről a viasz- és propolisz-maradványokat le kell kaparni, majd gázperzselővel le kell perzselni. Ami a fent leírt eljárásokkal nem fertőtleníthető, azt el kell égetni.

A fertőzöttségre gyanús, életben maradt családokat az utolsó megbetegedéstől számított 60 napig meg kell figyelni, méhészeti termékek, méz csak ipari célra használhatók fel. Az intézkedéseket követően a méhészet állami kártalanításban részesül.

2014-ben 151 bejelentett nyúlós költésrothadás kitörés volt az országban, ami lényegesen különbözhet a tényleges kitörések számától

Magyarországon 2014-ben több mint 20000 méhészetben mintegy 112000 méhcsaládot tartottak, az általuk megtermelt méz körülbelül 17000 tonna volt. Ugyanebben az évben 151 bejelentett nyúlós költésrothadás kitörés volt az országban, ami lényegesen különbözhet a tényleges kitörések számától. Ebben az évben 680 településen volt községi zárlat, több mint 4000 méhcsaládot irtottak ki, ami 365,6 millió forintnyi állami kártalanítási kiadást jelentett az országnak (16).

Számos nyúlós költésrothadással foglalkozó kutatócsoport választja a mézet vizsgálati mintának a *P. larvae* fertőzöttség elterjedtsége, ill. a spórák tanulmányozása céljából. A dolgozók az elpusztult lárvákat v. bábokat tartalmazó lépsejtek tisztogatása után a kaptár belsejét mechanikai úton teljes mértékben kontaminálják a spórákkal.

A mézben a spórák évtizedekig megőrzik fertőzőképességüket, ezért optimális vizsgálati anyagnak tekinthető

Méhcsaládok fertőzöttségének vizsgálatára számos laboratóriumi módszer áll rendelkezésre (7), amelyek közül újabban a molekuláris biológiai eljárásokat emelik ki méhekből, kaptársöpredékből és mézből (3). A spórák rendkívül ellenállóak a környezeti hatásokkal szemben, a mézben évtizedekig megőrzik fertőzőképességüket (8, 14, 18), és mivel a méhészetekben ehhez a méhészeti termékhez a legkönnyebb hozzáférni, ezért optimális vizsgálati anyagnak tekinthető. A pergetett mézminta alkalmas a méhészetben jelen lévő kórokozó mennyiségének monitorozására, mivel mind a pergetés, mind egyéb műveletek során a méz homogenizálódik, így az lehetőséget nyújt a kórokozó feldúsulásának mielőbbi észlelésére (5, 9, 15).

SAJÁT VIZSGÁLATOK

A szerzők célja egy hazai reprezentatív baktériumtörzs-gyűjtemény létrehozása volt

Vizsgálatunk célja az volt, hogy a Magyarország különböző területein működő méhészetekből gyűjtött mézminták felhasználásával létrehozunk ezen fertőző betegség kórokozójából egy hazai reprezentatív baktériumtörzs-gyűjteményt. Ez alapját képezi minden további vizsgálatnak, mint a baktérium sajátosságainak alaposabb megismerése: a virulencia-változatok, a fenotípusos és genotípusos tulajdonságok, a fajsztípus azonosítás különféle módszereinek összehasonlítása, a fertőtlenítőszerrel szembeni érzékenységének meghatározása, ill. olyan módszer kidolgozása, aminek segítségével megelőzhető lenne a betegség klinikai formában való megjelenése. Ilyen vizsgálatok eddig nem történtek Magyarországon.

ANYAG ÉS MÓDSZER

MINTAGYŰJTÉS

A magyarországi méhészetekkel egy hazai méhészeti szakfolyóiratban megjelentetett hirdetéssel, ill. internetes méhészfórumokon keresztül vettük fel a kapcsolatot.

A minták gyűjtését 2014 decembere és 2015 májusa között végeztük. A mintavételt méhészetenként két különböző pergetésből származó két mézmintából kértük.

A MÉZMINTÁK ELŐKÉSZÍTÉSE

A méz minta előkészítése során a mézből 10 g mennyiséget steril desztillált vízben feloldottunk. Centrifugálás után (30 perc, 5000 ×g) az üledékből véresagar-táptalajra szélesztettünk, majd a visszamaradó üledéket 80 °C-os vízfürdőben, 20 percig hőkezeltük, majd a mintából ismét véresagarra szélesztettünk. Ezután a hőkezelt üledéket tízszeres mennyiségűre hígítottuk és a mintából újra véresagar-táptalajra szélesztettünk.

A hőkezeletlen üledékből általában nagy mennyiségben nőttek ki olyan baktériumok és gombák is, amelyekkel a méhek a hordás során találkozhatnak, és ez gyakran megnehezítette a tenyészetek kiértékelését. A hőkezelés célja az volt, hogy a vegetatív alakok elpusztuljanak és csak a spórák maradjanak életben. A 80 °C-on hőkezelt üledékből csak az aerob spórás baktériumok nőttek ki, mint amilyen a *P. larvae* is, így többnyire könnyen vizsgálhatóak voltak a telepei a táptalajon. A tízszeres hígítású, hőkezelt üledék azokban az esetekben volt hasznos, amikor a hígítás nélküli tenyészetekben olyan nagyszámú baktériumtelep nőtt, ami nem tette lehetővé a telepek pontos számának meghatározását. Ezekben az esetekben a hígított szuszpenzióban lévő telepek alapján számoltuk ki a hőkezelt üledékben, ill. az eredeti méz minta 1 grammjában lévő *P. larvae* spórák számát.

A KÓROKOZÓ IZOLÁLÁSA

Az előkészített méz mintákat 10% steril defibrinált juhvérral kiegészített véresagar-táptalajra (BIOLAB Zrt., Budapest) szélesztettük. Minden méz mintából három tenyészet készült: a hőkezeletlen üledékből, a 80 °C-on hőkezelt üledékből és a tízszeres hígítású, hőkezelt üledékből. A méz minták kioltása után a táptalajokat aerob viszonyok között, 37 °C-on, 10% szén-dioxidot is tartalmazó termosztátban inkubáltuk. A primer tenyészeteket 72 óra inkubációt követően bíraltuk el.

A PRIMER TENYÉSZETEK BÍRÁLATA

A méz minták feldolgozásának megkezdése előtt egy *P. larvae* típus törzset (ATCC 9545) vizsgáltunk. A típus törzset különféle táptalajokra oltottuk ki: speciális *P. larvae* agarra (PLA), MYPGP agarra, BHIT agarra, J-agarra és véresagarra (14). A baktérium gátlóanyagokat nem tartalmazó véresagar-táptalajon mutatott a legjellegzetesebb növekedést, ezért ezt választottuk a méz minták vizsgálatához is. A méz mintákból kinőtt tenyészetek elbírálása során az ATCC 9545-ös típus törzs tulajdonságait vettük alapul: azokat a baktériumtelepeket tekintettük *P. larvae* telepeknek, amelyek tenyésztési és morfológiai tulajdonságai jelentős mértékben megegyeztek a típus törzsével. A típus törzs a szakirodalomban leírtaknak megfelelően 2–4 mm méretű, szabályos, szürkés, matt-fényű, egyenetlen felületű telepeket képezett, a tenyészeteknek jellegzetes dohos szaga volt (2).

A telepmorfológia alapján *P. larvae* baktériumnak vélt izolátumok telepeit háromszor továbboltottuk, így szintenyészetet hoztunk létre, aminek megkezdjük részletes vizsgálatát.

Natív mikroszkópos vizsgálat során 1000× nagyítással a kenetben láthatóvá

A beküldött méz mintákat hőkezelés előtt, ill. 80 °C-os hőkezelés után is vizsgálták

A 80 °C-on hőkezelt üledékből csak az aerob spórás baktériumok nőttek ki, mint amilyen a *P. larvae* is

Az előkészített méz mintákat juhvérral kiegészített véresagar-táptalajra szélesztették

A *P. larvae* törzsek 2–4 mm méretű, szabályos, szürkés, matt-fényű, egyenetlen felületű telepeket képeztek

A *P. larvae* Gram-pozitív, kataláz-negatív és oxidáz-pozitív baktérium *A. P. larvae* baktérium-nak ítélt izolátumokat -80 °C-on tárolták

váltak az 1,5–6 µm hosszúságú, karcsú, egyenes vagy enyhén hajlott, magányos vagy láncokba rendeződő, önálló mozgásra képes pálcák. Sötét-látóteres mikroszkóppal jól megfigyelhetőek voltak a baktériumspórák. Gram-szerint festve a baktériumok pozitívnak bizonyultak. A vizsgálatok során kataláz-enzim és citokrómoxidáz-enzim termelését vizsgáltuk. A *P. larvae* kataláz-negatív és oxidáz-pozitív baktérium (10, 13).

A felsorolt elsődleges morfológiai, tenyésztési és biokémiai tulajdonságok alapján *P. larvae* baktériumnak ítélt izolátumokat -80 °C-on tároltuk.

A másodlagos biokémiai tesztek közül a kazeinbontó képességet vizsgáltuk: tejesagar táptalajt állítottunk elő, amihez elkészítettük a BIOLAB Zrt. szerinti véresagaralapot, majd 15%-os UHT tejet adtunk hozzá és 90 mm átmérőjű Petri-csészékbe 15–15 ml-t öntöttünk belőle. A megszilárdulás után a baktériumot ráoltottuk a táptalajra, majd 72 óra inkubációt (37 °C, 10% CO₂) követően elbíraltuk a kazeinbontó képességet: pozitív esetben, ha a baktérium termelt kazeináz-enzimet, a telepek körül a táptalaj fel-tisztult.

A TENYÉSZETEK AZONOSÍTÁSA

Ha egy mézmintából *P. larvae* telepek nőttek ki, akkor regisztráltuk, hogy a hőkezeletlen üledékből, a hőkezelt üledékből és a tízszeres hígítású, hőkezelt üledékből kioltott tenyészetben hány telepet találtunk. Egy telep kialakulásához minimum egy spóra szükséges, vagyis a telepek száma feltételezhetően megközelítően egyezett a táptalajra kiszélesztett szuszpenzióban található spórák számával. A vizsgált mézmintában található spórák számát meghatároztuk, így az eredeti mézmintában található spóramennyiséget spóra/gramm méz formában tudtuk megadni.

A -80 °C-on tárolt, fontosabb tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságok alapján *P. larvae* baktériumnak ítélt tenyészetek azonosítása MALDI-TOF (Matrix-assisted laser desorption/ionization Time-of-Flight) (12) tömegspektrometriás módszerrel történt.

EREDMÉNYEK

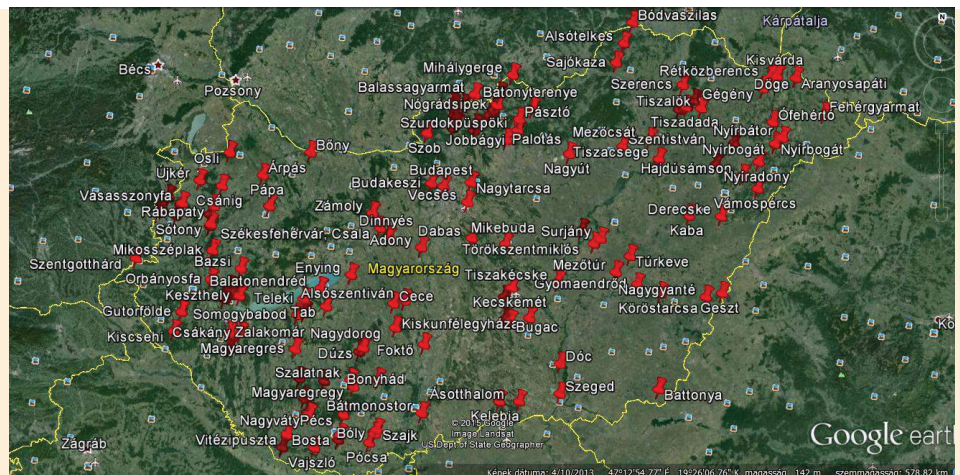
A vizsgálatunkkal kapcsolatos felhívásra 136 méhészt jelentkezett, akikről 142 településről (1. ábra) 297 méz minta érkezett. A mézminták legnagyobb százaléka akácméz volt (kb. 30%), nagyarányú volt még a napraforgóméz (kb. 20%), a rep-ceméz (kb. 15%), a vegyes virágméz (kb. 15%) és előfordult néhány gesztenyeméz és selyemfűméz is.

Meghatározták a vizsgált mézmintában található spórák számát

A mintagyűjtési felhívásra 142 településről 297 méz minta érkezett az ország valamennyi megyéjéből

1. ÁBRA. Az összegyűjtött 297 méz minta földrajzi eredete: 142 település (Google™ Earth 7.1.2.2041 program segítségével ábrázolva)

FIGURE 1. The geographical origin of the collected 297 honey samples: 142 settlements (illustrated with Google™ Earth 7.1.2.2041 program)



A felhívásra minden megyéből érkeztek mézminták, a **Táblázat** foglalja össze ezek megyénkénti eloszlását.

TÁBLÁZAT. A beküldött mézminták száma megyénkénti megoszlásban

TABLE The number of honey samples according to counties

Megye	Mézminták száma
Baranya megye	27
Bács-Kiskun megye	28
Békés megye	9
Borsod-Abaúj-Zemplén megye	18
Budapest	4
Csongrád megye	8
Fejér megye	11
Győr-Moson-Sopron megye	6
Hajdú-Bihar megye	13
Heves megye	2
Jász-Nagykun-Szolnok megye	10
Komárom-Esztergom megye	1
Nógrád megye	40
Pest megye	10
Somogy megye	18
Szabolcs-Szatmár-Bereg megye	30
Tolna megye	8
Vas megye	27
Veszprém megye	6
Zala megye	21
Összesen	297

A primer tenyészetek bírálatakor 82 baktériumtörzs bizonyult *P. larvae*-nak

A szerzők létrehoztak egy, az ország 49 településéről származó, 82 baktériumtörzsből álló hazai reprezentatív törzsgyűjteményt

A primer tenyészetek (2. ábra) bírálatakor 82 baktériumtörzs a telepormorfológia, az elsődleges és másodlagos tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságok vizsgálata során egységesen viselkedett, amely megfelelt a *P. larvae* szakirodalomban leírt tulajdonságainak, vagyis hogy a baktérium egy Gram-pozitív, spóráképző, önálló mozgásra képes pálcá, amely aerob és anaerob körülmények között is képes növekedni, kataláz-negatív, oxidáz-pozitív és kazeináz-enzimet is termel (3. ábra).

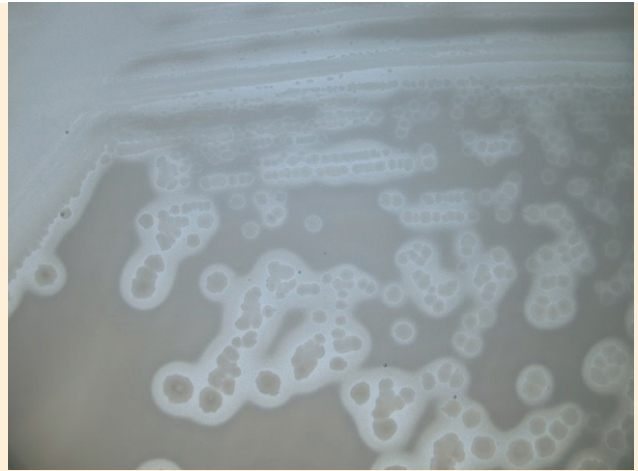
A tenyészetek fajszerű azonosítása során használt MALDI-TOF vizsgálatok eredményei alapján az összes izolátumot a *P. larvae* fajba tudtuk besorolni. Célkitűzésünknek megfelelően létrehoztunk egy, az ország 49 településéről (4. ábra) származó, 82 baktériumtörzsből álló hazai reprezentatív törzsgyűjteményt, amely megalapozza további kutatásainkat.

A mézmintákban lévő spórák mennyisége alapján a 82 *P. larvae* tartalmú mintát négy csoportba soroltuk be szakirodalmi adatok alapján: negatív csoportba kerültek azok a minták, amelyek 10 grammjából nem tudunk *P. larvae*-t kimutatni, kis fertőzöttségű csoportba kerültek a grammonként 25-nél kevesebb spórárt tartalmazó minták, közepesen fertőzött csoportba kerültek a grammonként 25–50 spórárt tartalmazó minták, és erősen fertőzöttnek tekintettük a grammonként 51-nél több spórárt tartalmazó mintákat (5). Vizsgálataink alapján a mézminták alkalmasak a méhészetek fertőzöttségi



2. ÁBRA. Mézmintából fejlődött *P. larvae* telepek nagy számban véresagar felületén (primer tenyészet, 72 óra inkubációt követően, 37 °C, 10% CO₂)

FIGURE 2. Primary culture of *P. larvae* from a honey sample on blood agar after 72 hours incubation at 37 °C in a 10% CO₂ atmosphere

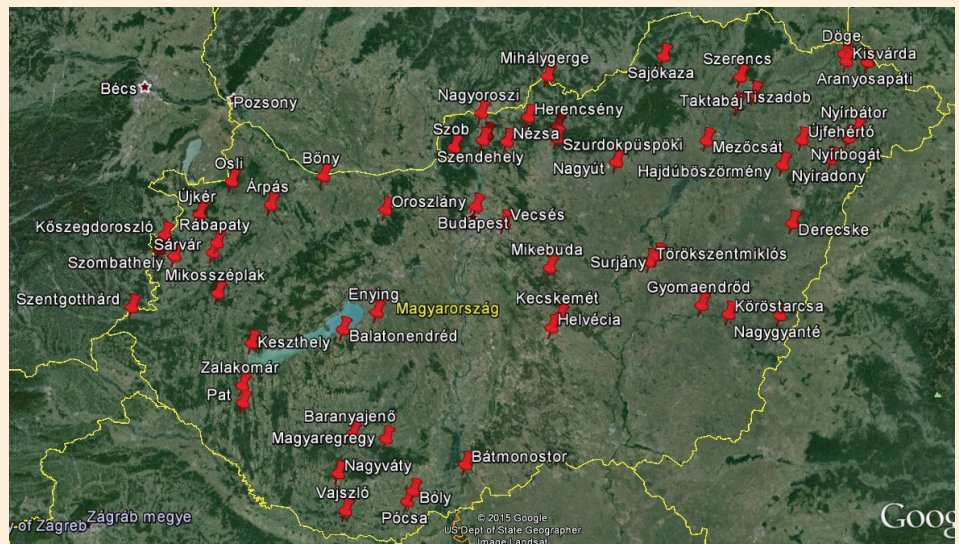


3. ÁBRA. Kazeináz termelés vizsgálata: a *P. larvae* telepek körül 72 óra inkubáció után a 15% tejet tartalmazó táptalaj feltisztult

FIGURE 3. Examination of caseinase production: after 72 hours incubation, 15% milk containing agar plate becomes clear around *P. larvae* colonies

4. ÁBRA. Az általunk létrehozott *P. larvae* törzsgyűjtemény 82 izolátumának földrajzi eredete (49 település) (Google™ Earth 7.1.2.2041 program segítségével ábrázolva)

FIGURE 4. The geographical origin of 82 isolates of the Hungarian *P. larvae* culture collection (49 settlements) (illustrated with Google™ Earth 7.1.2.2041 program)



A spórák mennyisége alapján elkülönítettek negatív, kis, közepes és erős fertőzöttségű mézmintákat

szintjének jellemzésére. A kis fertőzöttségű méhészetekben a kórokozó kis számban, de bizonyítottan jelen van, a közepesen fertőzött méhészetekben a kórokozó száma emelkedett, vagyis feldúsulása detektálható, az erősen fertőzött méhészetekben pedig a nagy spóraszám miatt a betegség bármikor megjelenhet klinikai formában is (5).

Erősen fertőzött volt 17 minta (51 spóra/gramm méz felett), közepesen fertőzött volt 5 minta (25–50 spóra/gramm méz), kevésbé fertőzött volt 60 minta (25 spóra/gramm méz alatt), 215 minta 10 grammjából pedig nem tudtuk a kórokozót kimutatni (16). A kórokozó jelenlétét azokban a méhészetekben sem zárhatjuk ki, ahol a 10 g vizsgált mézben spórát nem tudtunk kimutatni. Nagyobb mennyiségű méz vizsgálatával, valószínűleg emelkedett volna a pozitív minták száma, sőt egyes feltételezések szerint a kórokozó, ha nagyon kis számban is, de minden méhészetben jelen lehet.

MEGVITATÁS

A *P. larvae* az egész Földön, így hazánkban is széles körben elterjedt. Komoly gazdasági károkat okoz a méhészetekben egyrészt a kiirtott méhcsaládok nagy száma miatt, másrészt pedig azért, mert a zárlatok megnehezítik a gazdaságos méztermelést, a korlátozott vándoroltatás és csökkent mézeladás miatt (16).

A vizsgálatunk során kapott eredményeink, a baktérium tenyésztési, morfológiai és biokémiai tulajdonságai, valamint Magyarországon való jelenléte, elterjedtsége megfelel a szakirodalomban leírtaknak (4, 5, 11).

A hazai hivatalosan bejelentett járványkitörések, a kiirtott méhcsaládok száma, a kifizetett állami kártalanítás mértéke alapján nyilvánvaló, hogy a mézelő méhek nyúlós költésrothadása nagy gazdasági kártétellel járó fertőző betegség, aminek a kezelésében, szabályozásában és diagnosztikája tekintetében paradigmaváltásra van szükség.

Ehhez elengedhetetlenek a további, a kórokozó magyarországi törzsei-nek jobb megismerésére irányuló hazai kutatások, aminek alapját képezheti az általunk felállított reprezentatív hazai baktériumtörzs-gyűjtemény.

A nyúlós költésrothadás kórokozója feltehetően több méhészetben jelen van, mint eddig gondoltuk és mivel a bántalom ellen nem létezik jelenleg hatásos gyógymód, az egyetlen kézenfekvő lehetőség a betegség megelőzése a kórokozó csíraszámának alacsony szinten tartásával. Vizsgálatainkból kiderült, hogy a mézben jelen lévő spórák kimutatása, azok mennyiségének folyamatos monitorozása alkalmas módszer a spórák feldúsulásának észlelésére, ami szükségessé teheti a klinikai tünetekkel járó megbetegedés megelőzéséhez elengedhetetlen lépések megtételét ("raj állapotba helyezés"). A méheket új, fertőtlenített, kiégetett kaptárba, új keretek és műlépek közé kell átrázni, aminek hátránya a fiasítás elvesztése, de nagy előnye a kórokozó csíraszámának jelentős csökkenése a méhcsaládban, egyúttal a varroosis elleni eredményes védekezés segítése. Feltételezzük, hogy felhívásunkra elsősorban azok a méhészek jelentkeztek, akik a nyúlós költésrothadás elleni védekezést fontosnak tartják, és a jó gazda gondosságával minden tőlük telhetőt megtesznek a betegség megelőzése érdekében, ennek ellenére a beküldött mézminták közel 30%-ában mutattuk ki a *P. larvae* spórákat 10 grammnyi mézből.

Fontos hangsúlyozni, hogy az, hogy a beküldött egyetlen mézmintából körülbelül 10 grammot vizsgálva az esetek egy részében nem tudtuk kimutatni a kórokozót, nem jelenti azt, hogy az a méhészetben nincs jelen.

Vizsgálatunk során a méhészekkel konzultálva megtudtuk, hogy azoknál a méhészeteknél, amelyeknek a beküldött mézmintáiban nagy mennyiségben (51 spóra/gramm méz fölött) találtunk *P. larvae* spórákat, vagy a közelmúltban vagy a vizsgálatot követően megjelent a betegség klinikai tünetekben, tehát tényleges összefüggést találtunk a mézben jelen lévő spórák száma és a betegség kitörése között. A bántalommal kapcsolatos 2014-es adatok alapján egyértelmű, hogy Magyarországon a nyúlós költésrothadás elleni védekezés kérdése nem megoldott, ezért a jövőben, különösen járványgócok közelében, érdemes lenne kihasználni a vizsgálatunkban használt spórakimutató módszerek nyújtotta lehetőséget.

Az általunk létrehozott baktérium-törzsgyűjtemény megteremti a lehetőséget a *P. larvae* átfogóbb megismerésére, ami a nyúlós költésrothadás leküzdésében kulcsfontosságú lehet (16).

A kórkép a nagy gazdasági kártétellel járó fertőző betegség, aminek a kezelésében, szabályozásában és diagnosztikája tekintetében paradigmaváltásra van szükség

A nyúlós költésrothadás kórokozója feltehetően több méhészetben jelen van, mint eddig gondolták

Azoknál a méhészeteknél, amelyeknek a beküldött mézmintáiban nagy mennyiségben volt spóra, a közelmúltban vagy a vizsgálatot követően megjelent a betegség klinikai tünetekben

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt szeretnénk köszönetünket kifejezni a mézmintákat beküldő méhészeknek, különösen ezek szervezésében részt vállaló BROSS PÉTERNEK és DR. SÜMEGI MIHÁLYNAK. A vizsgálatok anyagi fedezetét biztosító Állatorvostudományi Egyetem kutatókari pályázatának (15276 és 15923-KK-UK) és az asszisztensi munkálatokban fontos szerepet vállaló HALASI TERÉZ és Soós-NÉMETH EVELIN munkatársainknak.

IRODALOM

- 70/2003. (VI. 27.) FVM rendelet a méhállományok védelméről és a mézelő méhek egyes betegségeinek megelőzéséről és leküzdéséről.
- ALIPPI, A. M. – AGUILAR O. M.: Unique DNA fingerprint patterns of *Paenibacillus larvae subsp. larvae* strains. *J. Apicult. Res.*, 1998. 37. 273–280.
- BAKONYI, T. – DERAKHSHIFAR, I. et al.: Development and evaluation of PCR assays for the detection of *Paenibacillus larvae* in honey samples: comparison with isolation and biochemical characterization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003. 69. 1504–1510.
- BÉKÉSI L. Sz.: Méhbetegségek. kiadó: Dr. Tóth György (Apiliteratura hungarica sorozat). 2012.
- BINDERNAGEL, B.: Bakteriologische Überprüfung der Sanierungsmaßnahme „offenes Kunstschwarmverfahren“ zur Bekämpfung der Amerikanischen Faulbrut. Dissertation. Hannover, Tierärztliche Hochschule. 2012.
- BÚZA L.: A mézelő méhek nyúlós költésrothadásának elterjedtsége és felszámolásának lehetősége hazánkban. *Magy. Állatorv. Lapja*, 1970. 25. 295–297.
- Coloss Beebook Vol. II. Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. *J. Apicult. Res.*, 2013. <http://www.coloss.org/beebook/II/afb>
- GENERSCH, E.: American Foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 2010. 103. 1. 10–19.
- GILLARD, M. – CHARRIERE, J.D. – BELLOY, L.: Distribution of *Paenibacillus larvae* spores inside honey bee colonies and its relevance for diagnosis. *J. Invertebr. Pathol.*, 2008. 99. 92–95.
- HANSEN, H. – BRØDSGAARD, C. J.: American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 1999. 80. 5–23.
- KOLTAI L.: A méhbetegségek megelőzése és gyógyítása. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest, 1985. 232.
- LAY, J.O. JR.: MALDI-TOF mass spectrometry of bacteria. *Mass. Spectrom. Rev.*, 2001. 2. 172–194.
- NEUENDORF, S. – HEDTKE, K. et al.: Biochemical characterization of different genotypes of *Paenibacillus larvae subsp. larvae*, a honey bee bacterial pathogen. *Microbiology*, 2004. 150. 2381–2390.
- Office International des Epizooties (2016) Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2016 Chapter 2.2.2. American foulbrood of honey bees (infection of honey bees with *Paenibacillus larvae*) OIE Manual 2016.
- RIESSBERGER-GALLÈ, U. – VON DER OHE, W. – CRAILSHEIM, K.: Adult Honeybee's Resistance against *Paenibacillus larvae larvae*, the Causative Agent of the American Foulbrood. *J. Invertebr. Pathol.*, 2001. 77. 231–236.
- SÁGI K.: Baktérium-törzsgyűjtemény létrehozása a háziméh (*Apis mellifera*) nyúlós költésrothadását okozó *Paenibacillus larvae* hazai reprezentatív izolátumaiból. SZIE-ÁOTK, TDK dolgozat, 2015.
- SHIMANUKI, H. – KNOX, D. A.: Bee health and international trade. *Rev. Sci. Tech.*, 1997. 16. 172–176.
- SHIMANUKI, H. – KNOX, D. A.: Diagnosis of Honey Bee Diseases. U.S. Department of Agriculture, *Agriculture Handbook No. AH-690*. 2000.

Közlésre érk.: 2017. ápr. 11.