

Åpen yngelr te – utvikler svakt infiserte bifolk klinisk sjukdom over tid?

Bjørn Dahle

Seniorrådgiver, Norges Birøkterlag

Sammendrag

Sommeren 2010 ble det oppdaget åpen yngelr te i en rekke driftsenheter i Agder. Sjukdommen er ført opp på nasjonal liste 2 over dyresykdommer og bekjempes med full sanering av infiserte driftsenheter. Siden 2011 er det ikke funnet klinisk sjuke bifolk, men bakterien, *Melissococcus plutonius* som forårsaker åpen yngelr te er påvist i noen få driftsenheter fram til 2020. Etter påvisning av *M. plutonius* i et fåtall bifolk i en større driftsenhet i Agder i 2020 fikk Norges Birøkterlag på vegne av birøkteren dispensasjon fra sanering for 5 bifolk som ble flyttet til Finland. Her har bifolkene blitt fulgt opp og prøvetatt for å se om *M. plutonius* ville oppformeres og om det ville utvikles klinisk sjukdom. Prøver som er tatt ut i perioden 2021-2023 har vært negative og bifolkene har ikke utviklet åpen yngelr te. Resultatene fra forsøket i Finland er ment å være en del av kunnskapsgrunnlaget i en evaluering av bekjempelsesstrategi for åpen yngelr te. Er det ønskelig å beholde dagens bekjempelsesstrategi eller skal den mykes opp? Forsøket har vist at *M. plutonius* i svakt infiserte bifolk kan forsvinne av seg selv og ikke nødvendigvis oppformeres og utvikles til klinisk sjukdom i form av åpen yngelr te.

Bakgrunn

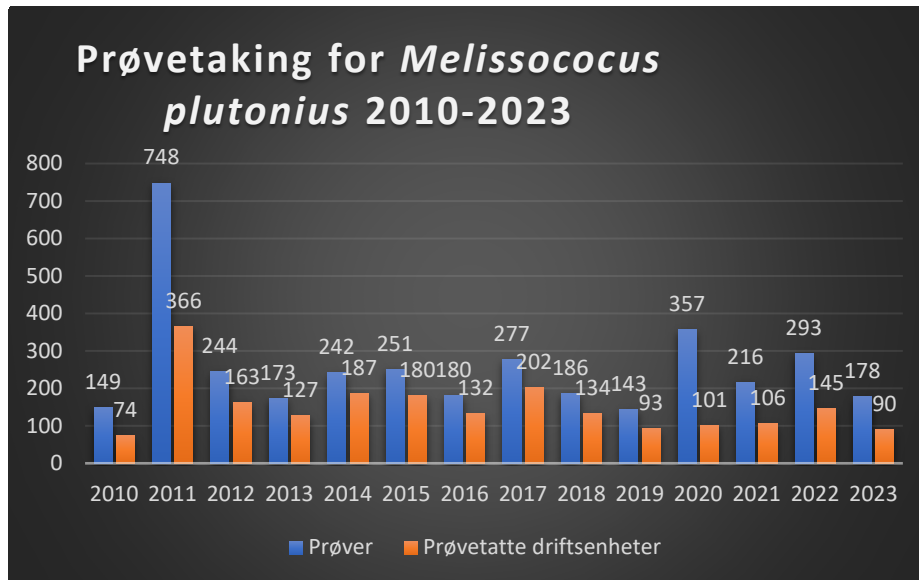
Åpen yngelr te er en bakteriesjukdom på honningbienes larver. Bakterien *Melissococcus plutonius* kommer inn i larvenes tarm gjennom f ret de spiser og vil der formere seg. Dersom antallet bakterier er tilstrekkelig stort, og bakteriene er av en virulent bakteriestamme vil infiserte larver d , normalt f r forsegling. Klinisk sjukdom forårsaket av *M. plutonius* kaller vi åpen yngelr te. Åpen yngelr te er ført opp som sjukdom på honningbier i nasjonal liste 2 (tidligere B-sjukdommer). Dette er alvorlige sjukdommer som krever systematisk bekjempelse for å kunne kontrolleres. I Norge bekjempes disse sjukdommene med mål om å utrydde eller gjøre de svært sjeldne.

Åpen yngelr te har vært en svært sjelden sjukdom hos honningbier i Norge i nyere tid. Bortsett fra et antatt tilfelle (ikke verifisert gjennom laboratorieanalyser) på 1980 tallet var det inntil 2010 ikke rapportert om utbrudd av sjukdommen. Sommeren 2010 rapporterte flere birøktere om kliniske symptomer som seinere ble verifisert til å være åpen yngelr te.

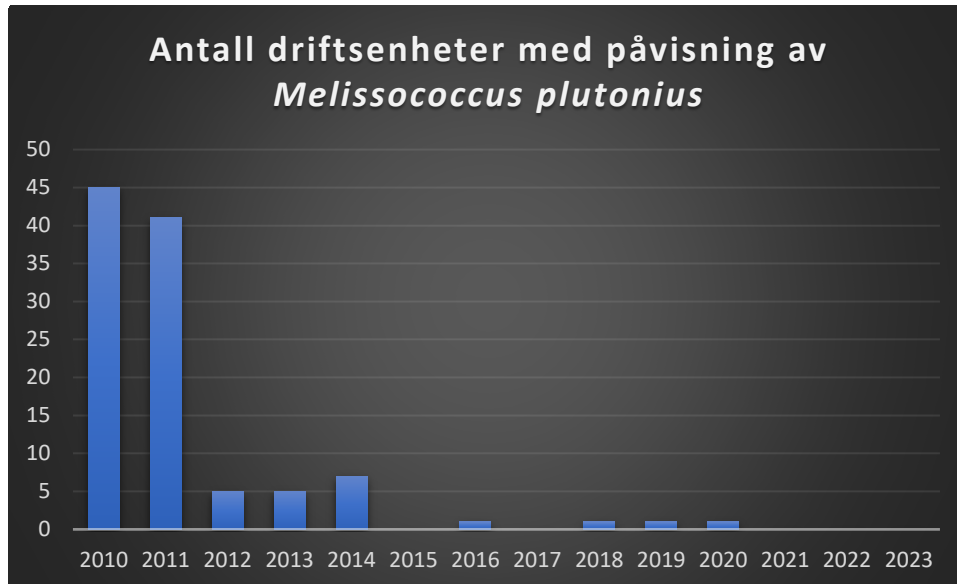
Mattilsynet som har ansvaret for bekjempelse av dyresjukdommer iverksatte bekjempelse og tiltak for å spore opp andre infiserte driftsenheter for så effektivt som mulig hindre videre spredning av sjukdommen og om mulig utrydde den. Sjukdommen ble bekjempet med full sanering av infiserte driftsenheter og kontaktbesetninger ble undersøkt for kliniske symptom og prøvetatt for påfølgende analyse ved hjelp av en standard PCR metodikk. Sjukdommen hadde sitt episenter i Aust-Agder med spredning til Vest-Agder og Hedmark gjennom flytting og omsetning av bifolk.

F r 2011-sesongen utviklet NMBU Veterinærhøgskolen som er nasjonalt referanselaboratorium for bisjukdommer en mer sensitiv qPCR metode som i større grad kan påvise *M. plutonius* også i bifolk uten kliniske symptom på sjukdommen. Også i 2011 ble det funnet en rekke infiserte driftsenheter men alle uten kliniske symptomer på sjukdommen. I 2010 og 2011 ble det sanert 86 driftsenheter med til sammen 4250 bifolk (figur 1-3). *M. plutonius* forekommer i ulike varianter (strains) som varierer i hvor dødelig den er for infiserte larver (Budge et al. 2014, Nakamura et al. 2016, Grossar et

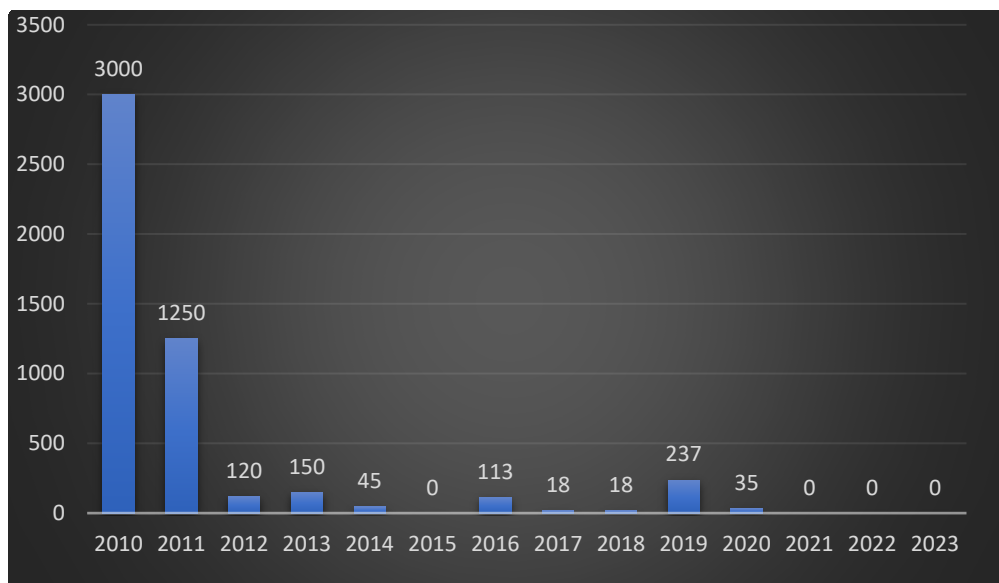
al. 2020). Noen varianter er høyvirulente, andre lavvirulente dvs. at de samme antall bakterier fra ulike varianter kan gi svært forskjellig dødelighet på larver som infiseres (Nakamura et al. 2016). Forsøk gjennomført ved SLU Sverige viste at den norske varianten som ble isolert fra klinisk sjuke larver i 2010 var blant de mer virulente bakteriestammene av *M. plutonius* (Grossar et al. 2020.)



Figur 1. Antall analyserte prøver og prøvetatte driftsenheter for *M. plutonius* i Norge 2010-2023



Figur 2. Antall driftsenheter påvist infisert av *M. plutonius* i Norge 2010-2023



Figur 3. Antall sanerte bifolk etter pålegg fra Mattilsynet etter påvisning av *M. plutonius* i bifolkene.

I 2011 etablerte Mattilsynet et OK-program for åpen yngelrâte hvor målet er å overvåke og fjerne smitte hvor den skulle bli påvist. I dette programmet er det valgt å analysere voksnedfall fra bifolkene. Voksnedfall som er samlet inn i biens yngelperiode er et godt prøvemedium som har en rekke fortrinn: Det kan samles inn av birøkteren selv, voksnedfall fra opptil 15 bifolk kan inngå i en samleprøve som birøkteren selv blander og med sensitiv qPCR analyse kan man påvise subklinisk smitte, dvs langt lavere smittenivå enn det som forbindes med kliniske symptomer. Man kan med andre ord avdekke og fjerne smitte før den infiserte driftsenheten utgjør en betydelig smittekilde for kontaktbigårder. Siden 2011 er det ikke funnet kliniske symptomer på åpen yngelrâte i de fåtall driftsenheter hvor *M. plutonius* er påvist og samtlige påvisninger har vært i tidligere kontaktbigårder og enheter som tidligere har sanert og startet opp igjen. Lang tids fravær av klinisk sykdom har naturlig nok ført til diskusjoner blant birøkterne om hvorvidt det er nødvendig å sanere infiserte bigårder hvor bifolkene er uten klinisk sykdom. Det er verdt å merke seg at det i løpet av de 9 siste årene bare har vært påvist *M. plutonius* i 4 driftsenheter og overvåkningsprogrammet med strategisk prøvetaking er effektivt til å fange opp smitte av *M. plutonius* ved lave nivåer før eventuelle kliniske symptomer skulle oppstå.

Åpen yngelrâte er en sykdom som håndteres forskjellig og var i 2015 meldepliktig i 79 av landene i OIEs register. I 22 av disse landene tar veterinærmyndighetene ansvar for sanering av klinisk sjuke bifolk og overvåker nabobigårder for å unngå spredning av sykdommen (Grossar et al. 2020, OIE 2018). Norge er et av disse landene hvor det også saneres bifolk uten klinisk sykdom og hvor det gis en økonomisk kompensasjon ved offentlige pålegg om sanering. I andre land er det birøkternes eget ansvar å bekjempe sykdommen. I sistnevnte tilfelle må birøkterne lære seg å leve med sykdommen som da ofte vil være mer vanlig forekommende. Det finnes driftstekniske metoder, bl. ombygging av infiserte bifolk på desinfisert utstyr og ny voks som i stor grad kan holde sykdommen under kontroll, men de fleste anbefaler avliving av klinisk sjuke bifolk. Trolig avhenger effektiviteten av disse metodene i stor grad av hvor virulente de involverte bakteriene er.

Siden birøkterne i Norge hadde begrenset erfaring med åpen yngelrâte og eldre litteratur hevdet at dette var en vanlig utbredt sykdom ønsket Norges Birøkterlag i 2011 å etablere godt isolerte forsøksbigårder med *M. plutonius* infiserte bifolk, både med og uten kliniske symptomer for å skaffe oss erfaring med alternative bekjempelsesmetoder og hvordan smitten utvikler seg i infiserte bifolk. Dette er viktig kunnskap i fall det skulle vise seg at sykdommen var så utbredt at den ville være

uhensiktsmessig å bekjempe gjennom full sanering. Norges Birøkterlag søkte derfor finansiering om et slikt prosjekt, men fikk ikke finansiering, og Mattilsynet kunne heller ikke godta å ha infiserte forsøksbigårder så lenge sjukdommen ble bekjempet med full sanering.

Feltforsøk i Finland

Våren 2020 ble det påvist *M. plutonius* på en bigårdsplass i en driftsenhet i Agder som hadde startet opp etter tidligere sanering. Etter diskusjon mellom birøkteren, referanselaboratoriet ved NMBU, Mattilsynet og Norges Birøkterlag ble det besluttet å analysere separate prøver fra samtlige bifolk i driftsenheten. Analysen av enkeltprøvene viste at 8 bifolk fra 3 bigårdsplasser var positive. Åpen yngelrâte er ikke en meldepliktig sykdom i Finland og gjennom Norges Birøkterlag sekretariats kontaktnett lyktes det finne fram til en birøkter i Finland som opprettet en isolert bigårdsplass hvor birøkteren kunne ta imot *M. plutonius* - infiserte bifolk fra Norge. Mattilsynet ga tillatelse til å flytte 5 infiserte bifolk ut av Norge og i juli 2020 ble 5 av de infiserte bifolkene transportert i kjølebil til Juoksengi, Finland hvor bifolkene siden har vært stelt av Veikko Valtanen, med assistanse fra veterinær Anu Korpikallio.

Målet med å flytte *M. plutonius* - infiserte bifolk til Finland var å undersøke hvordan infeksjonen utviklet seg i bifolkene og om bifolkene ville utvikle kliniske symptomer på sjukdommen. I fall bifolkene skulle utvikle kliniske symptomer skulle bakteriestammen sekvenseres for å verifisere at den var av samme bakteriestamme som var involvert i tilfellene med klinisk sykdom i 2010/2011. Slik sekvensering forutsetter at det finnes larver med kliniske symptomer siden metoden krever langt flere bakterier enn det som kan fås ut fra infiserte bifolk uten kliniske symptomer.

Forsøksbifolkene ble prøvetatt i juni, og august/september i 2021 og i mai og august/september 2022. Prøvene fra 2023 er tatt ut, men vi avventer svar på analysene. I juni 2021 besøkte Bjørn Dahle og Camilla Larsen fra Norges Birøkterlags sekretariat de finske birøkterne og inspiserer bifolkene og tok ut en rekke prøver av voksnedfall, bier og honning.

Totalt er det blitt analysert 60 prøver av voksnedfall, bier og honning. Ingen av prøvene var positive, men noen av de første prøvene fra våren 2021 ga svake utslag uten at de kunne defineres som positive. Alle påfølgende prøver var negative, det ble altså ikke påvist *M. plutonius* i bifolkene. Forsøket ble avsluttet med siste prøvetaking i september 2023.

Diskusjon

Feltforsøket i Finland viste at de 5 bifolkene som ble flyttet fra Norge til Finland ikke utviklet klinisk sykdom av åpen yngelrâte til tross for at det var svakt infisert av *M. plutonius* før de ble flyttet. *M. plutonius* ble heller ikke påvist i bifolkene selv etter 3 sesonger. Bifolkene var svakt infisert før de ble flyttet til Finland og bakteriene ble ikke oppformert i bifolkene etter flytting til Finland. Dette er ikke unikt, bl.a. har forsøk med bruk av antibiotika (oxytetracycline) og ombygging av bifolkene på nytt materiell vist at det hos en del bifolk kan det seinere ikke påvises smitte (Budge et al. 2010). Det er også vanlig at *M. plutonius* infeksjoner ikke har kliniske symptomer (Forsgren et al. 2005, Budge et al. 2010, D'Alvise et al. 2019, UK gov. 2013). Noen bakteriestammer er det vi kaller avirulente dvs. at en viss mengde bakterier ikke gir økt dødelighet sammenlignet med en uinfisert kontrollgruppe i laboratorieforsøk (Grossar et al. 2020). Med tanke på hvor virulent den norske bakteriestammen var i laboratorieforsøk ville vi forvente at det utviklet seg klinisk sykdom dersom *M. plutonius* ble oppformert i forsøksbifolkene. Åpen yngelrâte kan påvirkes av miljøfaktorer slik som bl.a. matmangel eller mangel på pleiebier i forhold til yngel og kommer oftest til syne om våren, og man

kan spekulere i om gunstige forhold for bifolkene etter flytting til Finland kan ha hatt en positiv effekt på bifolkenes evne til å hindre oppformering av *M. plutonius* i bifolkene.

Resultatene fra forsøket i Finland er ment å være en del av kunnskapsgrunnlaget i en evaluering av bekjempelsesstrategi for åpen yngelrâte. Er det ønskelig å beholde dagens bekjempelsesstrategi eller skal den mykes opp? Forsøket har vist at *M. plutonius* i svakt infiserte bifolk kan forsvinne av seg selv og ikke nødvendigvis oppformes og utvikles til klinisk sykdom i form av åpen yngelrâte.

Bakgrunnen for at en i Norge kan bekjempe forekomst av *M. plutonius* i friske bifolk i tillegg til den internasjonalt mer brukte saneringen av syke bifolk er at det ikke finnes noen bakgrunn av *M. plutonius* – forekomst i populasjonen av bifolk eller i naturen i Norge. Når en sanerer bigårder som kun er smittebærere vil en i teorien også sanere vekk alle varianter av *M. plutonius*. Dette gir en ekstra sikring og mulighet for at åpen yngelrâte kan holdes ute av populasjonen av bier i Norge i framtida også. Forsøket i Finland kan være et trinn på veien mot en framtidig saneringsstrategi som kan innebære sanering av kun smittede bifolk i en ellers frisk populasjon hos en birøkter. Retur til sanering av kun klinisk syke bifolk i Norge i framtida vil være mange skritt tilbake for den svært gunstige sykdomssituasjon i den norske bie-populasjonen, men en slik beslutning bør eventuelt tas av organisasjonen i samråd med Mattilsynet etter en prosess hvor fordeler og ulemper ved en endring av bekjempelsesstrategi blir grundig diskutert basert på fagkunnskap og hvilket handlingsrom som ligger innenfor de rammer som settes av listeføring av sykdommen og det offentliges ansvar for økonomisk kompensasjon som følger av en eventuell endring i bekjempelsesstrategi.

Litteratur

- Budge GE, Barrett B, Jones B, Pietravall S, Marris G, Chantawannakul P, Thwaites R, Hall J, Cuthbertson AGS, Brown MA 2010. The occurrence of *Melissococcus plutonius* in healthy colonies of *Apis mellifera* and the efficacy of European foulbrood control measures. *J Invertebr Pathol* 105: 164-170, doi: 10.1016/j.jip.2010.06.004.
- Budge GE, Shirley MDF, Jones B, Quill E, Tomkies V, Feil EJ, Brown MA, Haynes EG 2014. *The ISME journal* 8:1588-1597
- D'Alvise P, Seeburger V, Gihring K, Kieboom M, Hasselmann M 2019. Seasonal dynamics and co-occurrence patterns of honey bee pathogens revealed by high-throughput RT-qPCR analysis. *Ecol Evol* 18: 10241–10252, doi: 10.1002/ece3.5544
- Forsgren E, Lundhagen AC, Imdorf A, Fries I 2005. Distribution of *Melissococcus plutonius* in honeybee colonies with and without symptoms of European foulbrood, *Microbiol Ecol* 50: 369–374. DOI: 10.1007/s00248-004-0188-2
- Grossar D, Kilchenmann V, Forsgren E, Charriere JD, Gauthier L, Chapuisat M, Dietemann V 2020. Putative determinants of virulence in *Melissococcus plutonius*, the bacterial agent causing European foulbrood in honey bees. *Virulence* 11, <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1768338>
- Nakamura K, Yamazaki Y, Shiraishi A, Kobayashi S, Harada M, Yoshiyama M, Osaki M, Okura M, Takamatsu D 2016. *Scientific reports* 6:33329 | DOI: 10.1038/srep33329
- UK government 2013 <https://assets.publishing.service.gov.uk/media/5a7b803c40f0b645ba3c4bd4/bee-health-consult-efbprofile-20130110.pdf>