

Nákazová situácia moru včelieho plodu na území SR

NRL pre choroby včiel

Ing. Andrea Brtková, PhD.
MVDr. Zuzana Čuvalová

kolektív odboru bakteriológie
kolektív odboru molekulárno-biologických analýz

Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL

Izolácia *Paenibacillus larvae*: melivo, plást, med, vosk, peľ,
medzistienky, vývojové štádiá ...

Štandardný pracovný postup: špecifický podľa typu vzorky

Kultivácia: bežné kultivačné médiá (KA, MYPPN, MYP – plesne)
4 – 5 dní / 37°C

Mikroskopia: Gram-pozitívne tyčinky

Katalázový test: *P.larvae* nedisponuje enzýmom - kataláza



Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL

Detekcia na úrovni molekulárnej biológie:

Konvenčná PCR (*OIE terrestrial Manual 2008, kapitola 2.2.2.*)

v možnosť využitia metódy: konfirmácia *P. larvae* z čistej kultúry al.
z napadnutých lariev včiel s klinickými prejavmi

v špecifický gén: 16S rRNA;

v veľkosť špecifického fragmentu génu: 1 106 bp

v špecifické primery: *Dobbelaere et al.*, 2001

Druhé určenie - nested PCR (*OIE terrestrial Manual 2008, kapitola 2.2.2.*)

v možnosť využitia metódy: na sledovanie výskytu patogéna v mede, u včiel,
čmeliakov, lariev včiel a kokónov čmeliakov

v špecifický gén: 16S rRNA

v veľkosť špecifického fragmentu génu:

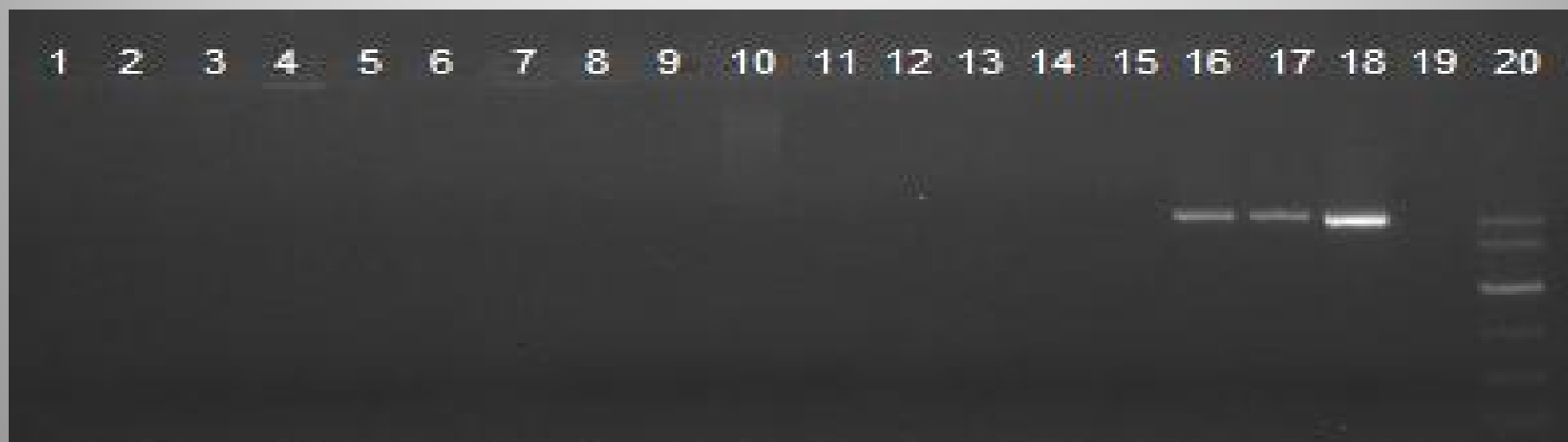
1. PCR: 969 bp (ext.)

2. PCR: 572 bp (int.)

v špecifické primery: *Lauro et al.*, 2003

Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL

Obr. : Elektroforetogram amplikónov získaných pri testovaní špecificity primerov pre druh *Paenibacillus larvae*.



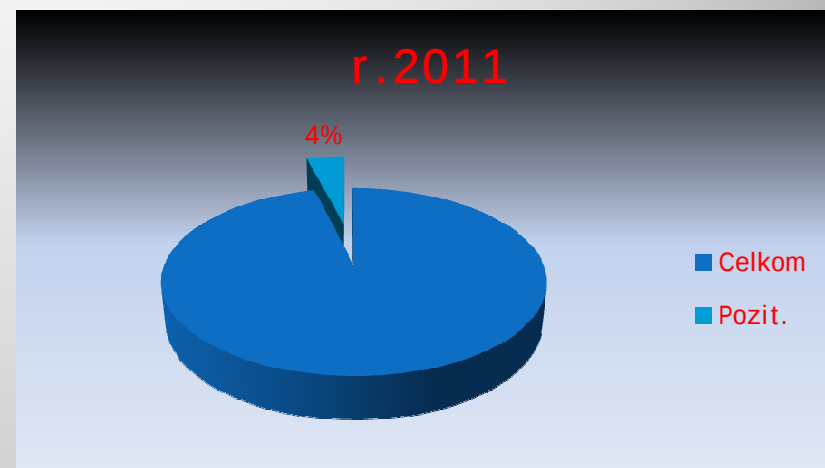
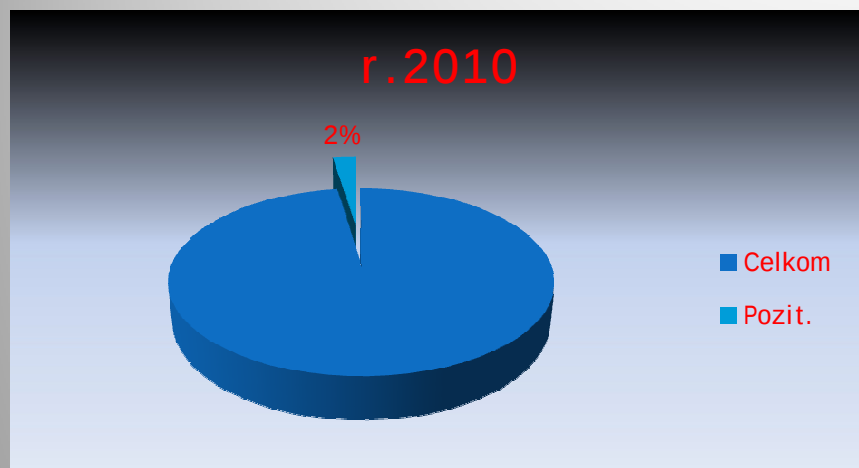
Dráha č.1 *E.coli* O157; č.2 *E.coli* O111; č.3 *S.aureus*; č.4 *S.epidermidi*; č.5 *E. faecalis*; č.6 *E. faecium*; č.7 *E.gallinarum*; č.8 *E.casseliflavus*; č.9 *Salmonella ent.ent.*; č.10 *Yersinia ruckerii*; č.11 *Serratia marcescens*; č.12 *Bacillus subtilis*; č.13 *Bacillus cereus*; č.14 – *M. pluton* ; č.15 – *M. pluton*; č.16 – *P. larvae* CCM 6822; č.17 – *P. larvae* CCM 5680; ; č.18 – *P. larvae* (zbierka ŠVPÚ DK); č.19 – „non-template control“ (ntc); č.20 – marker s veľkosťami fragmentov 50, 150, 300, 500, 750, 1000 bp

Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL

2010, 2011: Národný eradikačný program moru včelieho plodu (MVP)

- trvanie NP: jeden rok, v prípade nepriaznivej epizootologickej situácie pokračovanie aj v ďalšom roku
- vyšetrenie zmesných vzoriek zimného meliva: u všetkých chovateľov matiek; kočujúcich včelstiev, vyšetrenie plodových plástov
- + melivo → klinická prehliadka → + klinické zmeny → vyšetrenie plod. plástu
- + plodový plást → laboratórne potvrdenie MVP → opatrenia na zabránenie šírenia MVP

Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL



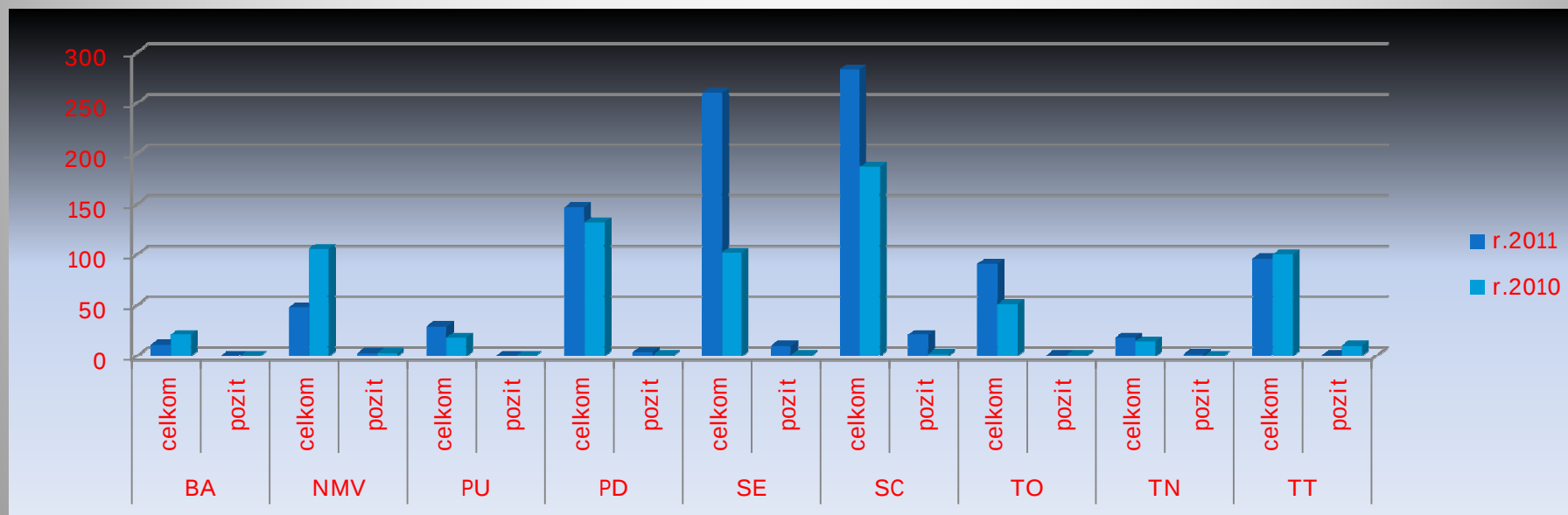
- Slovensko - melivá: r.2010: celkom: 3922 / (+) 93 = 2%
r.2011: celkom: 4921 / (+) 196 = 4%

	<50 KTJ/1g meliva;	>50-150;	>150-250;	>250-500;	>500
r.2011	89	58	21	13	15

- Slovensko - plásty: r.2010: celkom: 379 / (+) 260 = 69%
r.2011: celkom: 715 / (+) 527 = 73%

- nesúladi: (+) melivo – nevyšetrený plást
vyšetrené melivo – vyšetrený plást

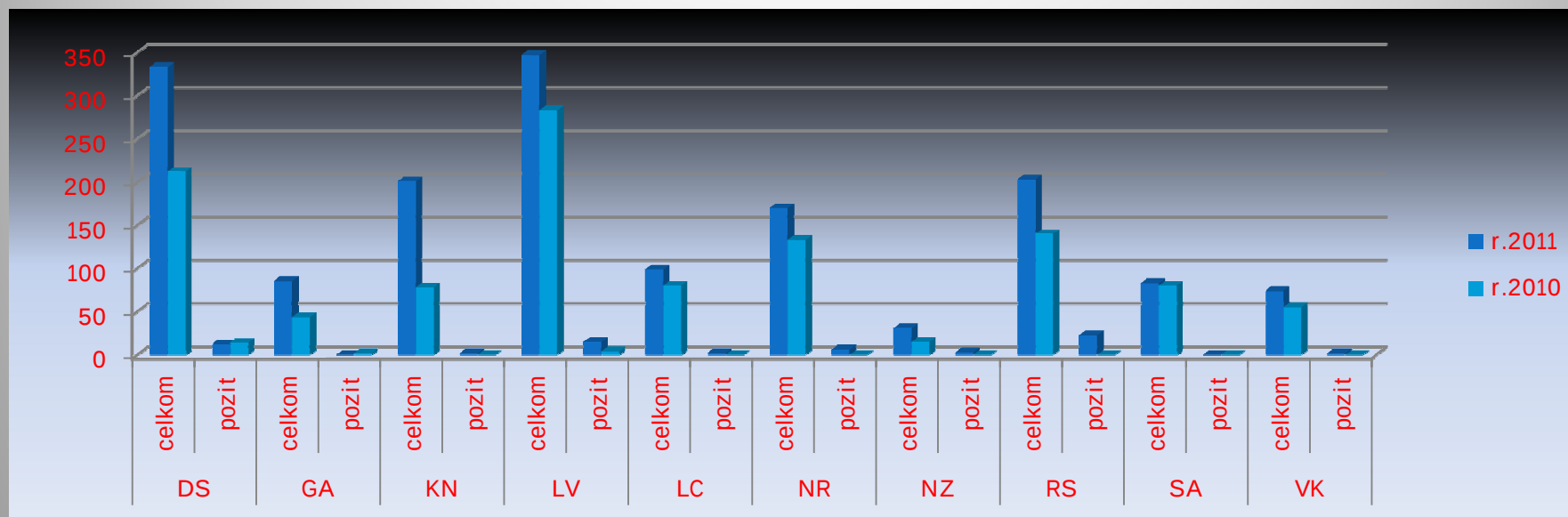
Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL



- Západné Slovensko: r.2010: celkom: 731 / (+) 17 = 2,3%
r.2011: celkom: 983 / (+) 49 = 5,0%
- pozitivita v roku 2011 stúpla oproti r.2010 (viac vyšetrených vzoriek)
 - TN – 11% nárast; SC – 6,5% (výnimka TT pokles o 10%)

Plásty: r.2011: celkom: 148 / (+) 125 = 84%
r.2010: celkom : 77 / (+) 58 = 75%

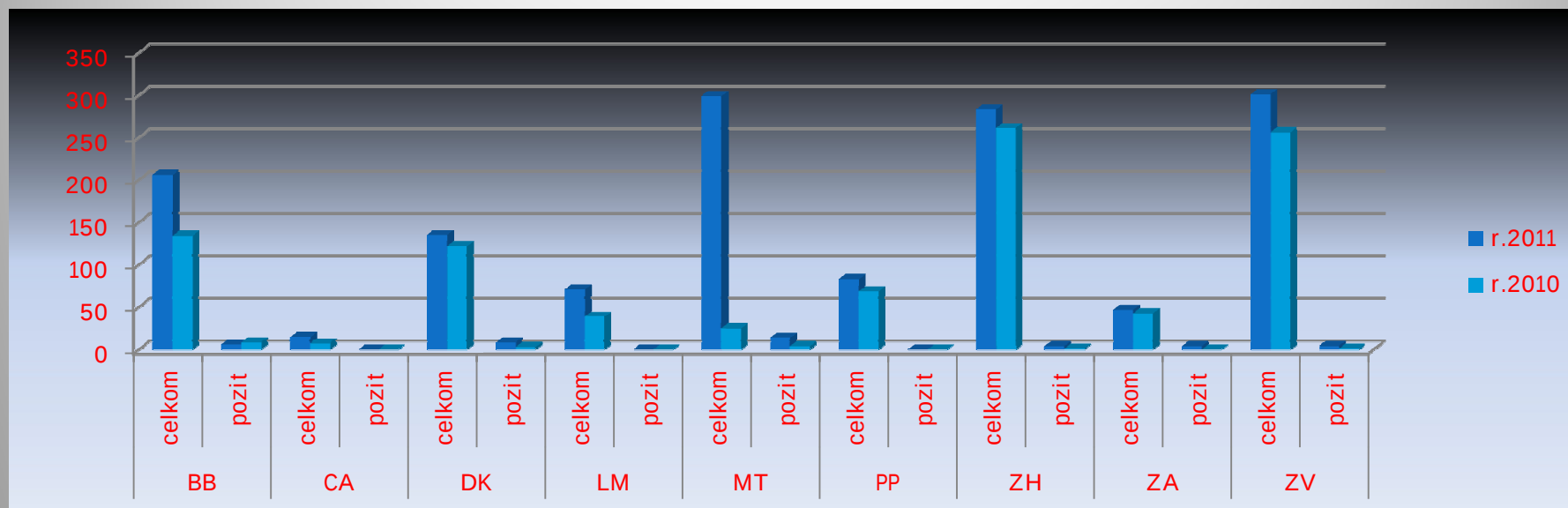
Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL



- Južné Slovensko: r.2010: celkom: 1120 / (+) 30 = 2,7%
r.2011: celkom: 1626 / (+) 65 = 4,0%
- pozitivita v roku 2011 stúpila oproti r.2010 (viac vyšetrených vzoriek)
 - RS – 11% nárast; NZ – 9,7% (naopak pokles: DS - 3%; GA – 4,5%)

Plásty: r.2011: celkom: 150 / (+) 127 = 85%
r.2010: celkom : 68 / (+) 18 = 26%

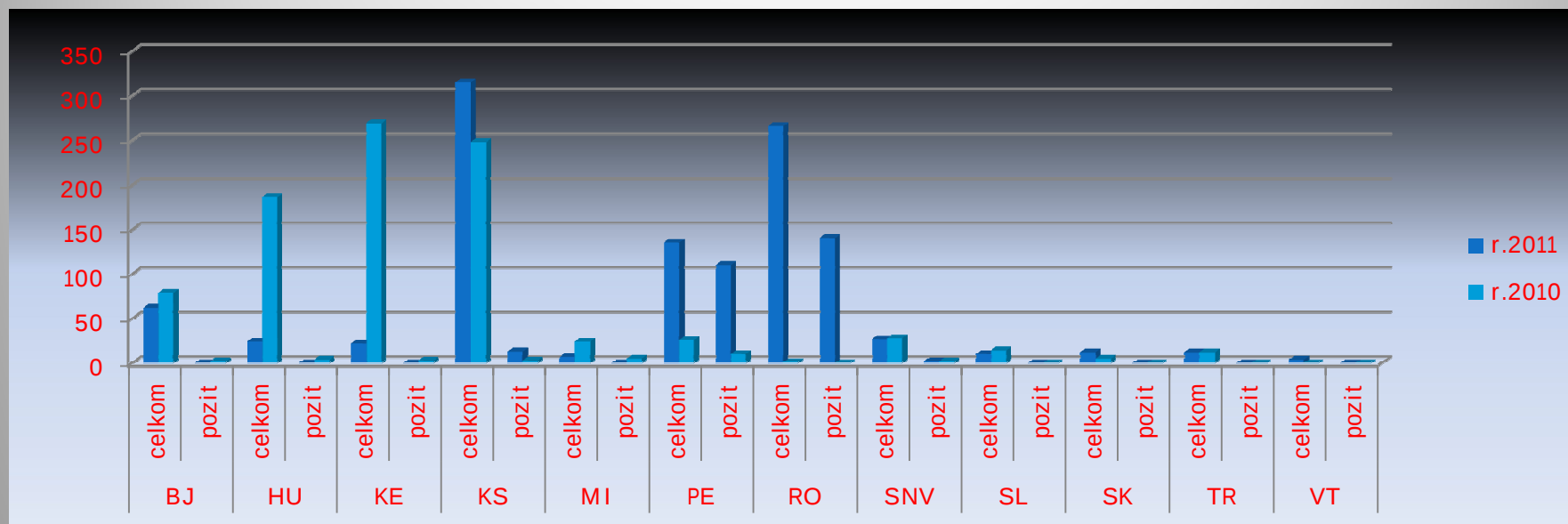
Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL



- Severné Slovensko: r.2010: celkom: 956 / (+) 17 = 1,78%
r.2011: celkom: 1440 / (+) 40 = 6,25%
- pozitivita v roku 2011 stúpila oproti r.2010 (viac vyšetrených vzoriek)
 - ZA – 8,5% nárast; DK – 3,5% (naopak pokles: MT 11%)

Plásty: r.2011: celkom: 349 / (+) 213 = 61%
r.2010: celkom : 150 / (+) 108 = 72%

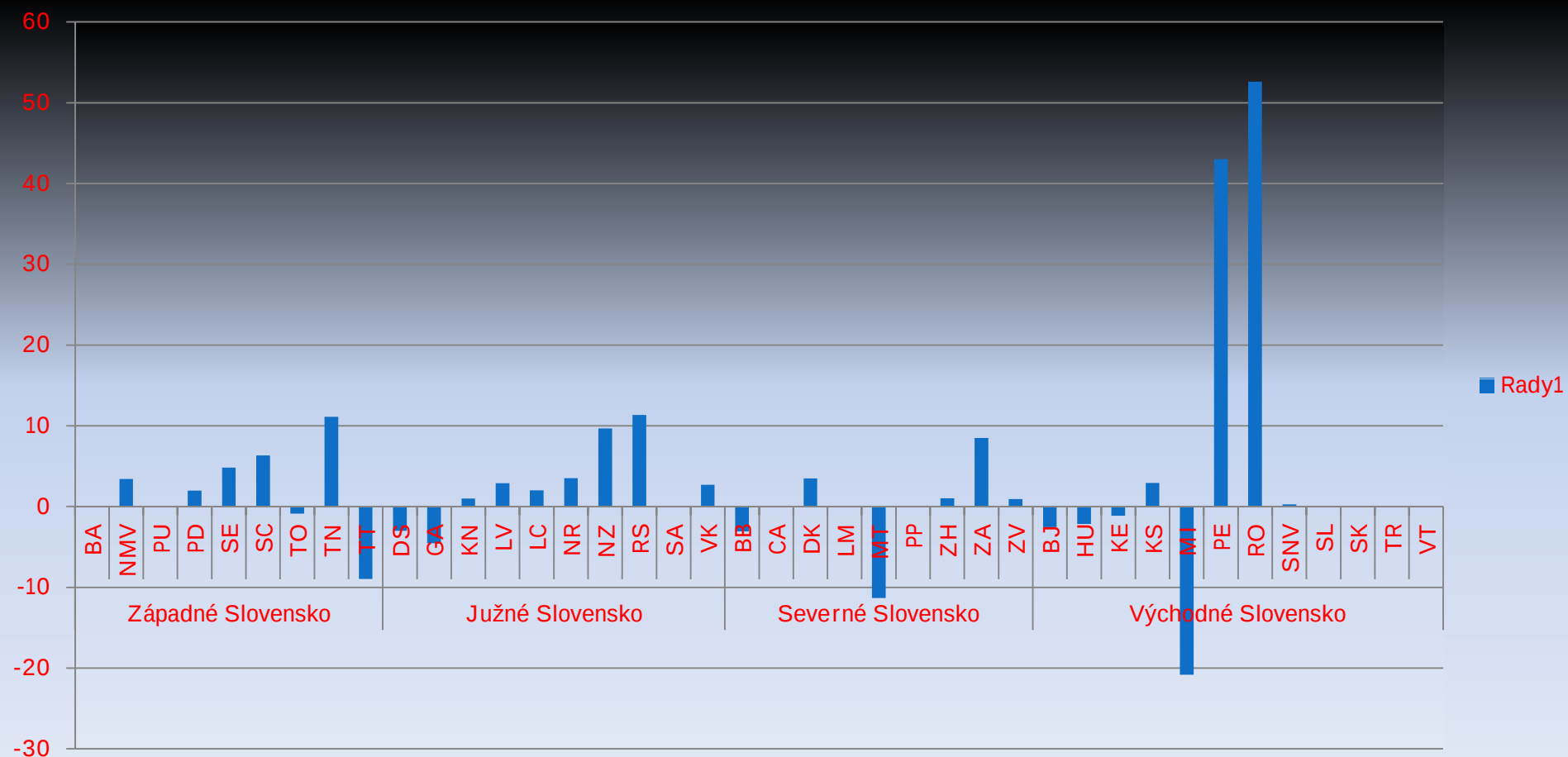
Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL

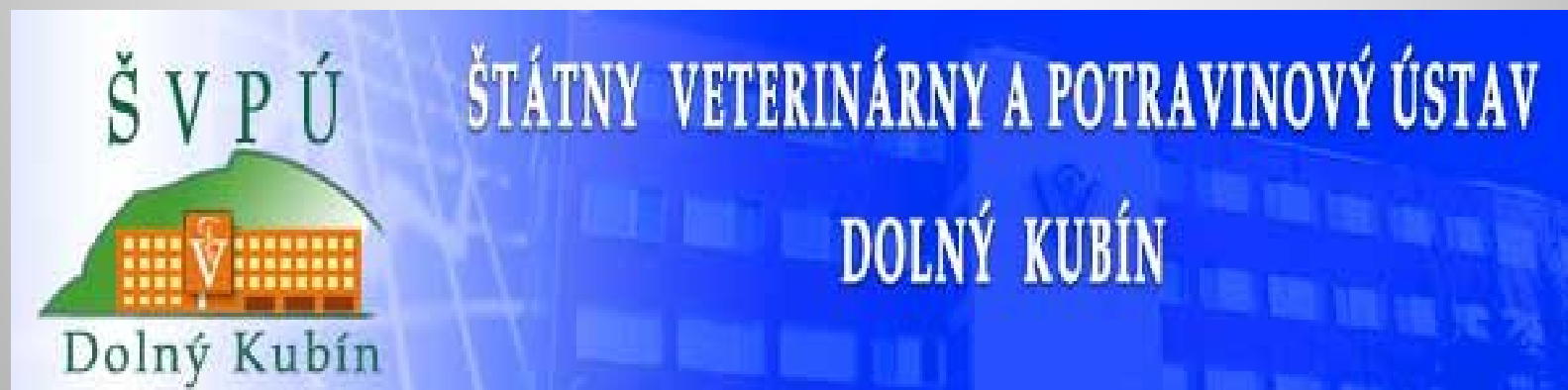


- Východné Slovensko: r.2010: celkom: 1115 / (+) 29 = 2,60%
r.2011: celkom: 896 / (+) 42 = 4,69%
- pozitivita v roku 2011 stúpla oproti r.2010 (viac vyšetrených vzoriek)
 - RO – 52% nárast; PE – 43% (naopak pokles: MI 20%)

Plásty: r.2011: celkom: 68 / (+) 62 = 91%
r.2010: celkom : 84 / (+) 76 = 90%

Diagnostika pôvodcu moru včelieho plodu v NRL





Ďakujem za pozornosť