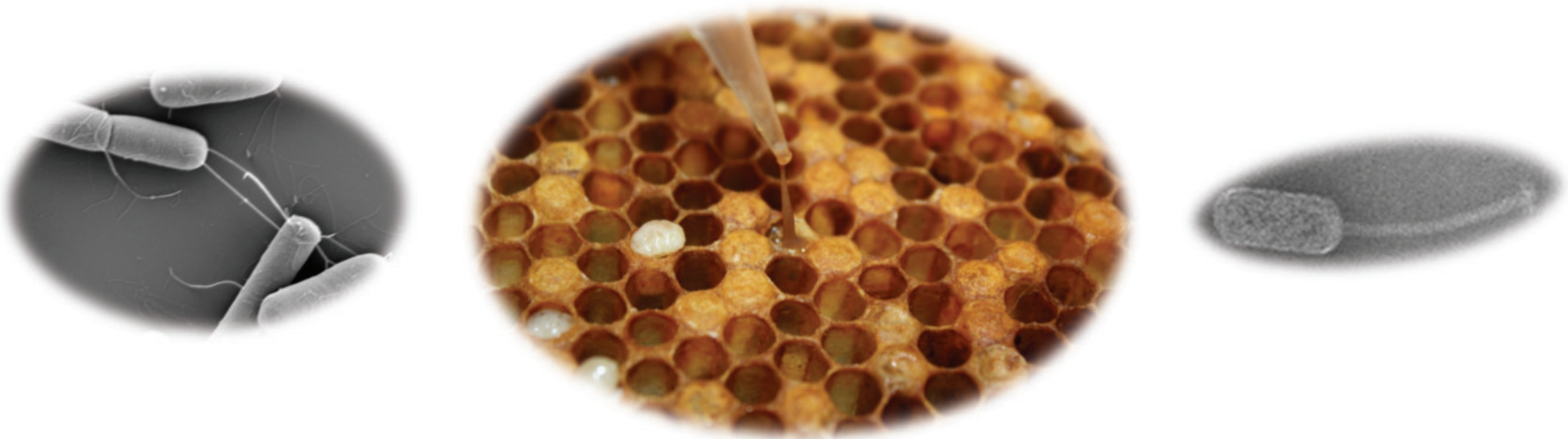


# Anwendung von Bakteriophagen bei Bienen



*20. BfR-Forum Verbraucherschutz*

7. November 2019

Berlin

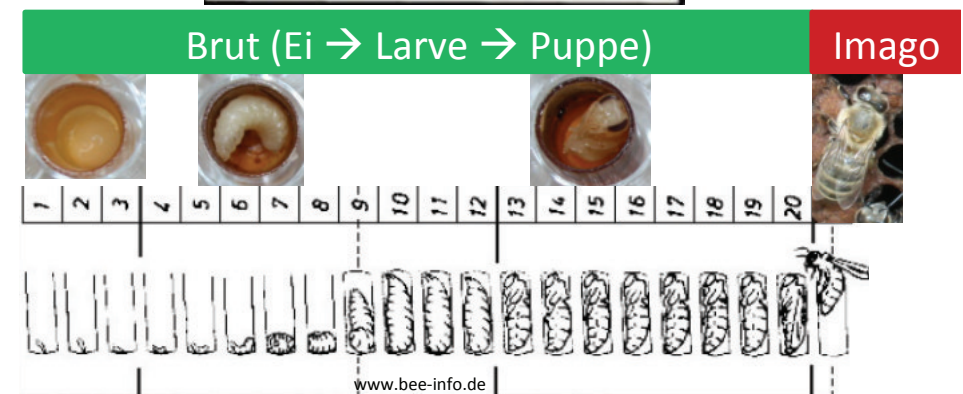
08.11.19

Dr. Hannes Beims  
LAVES – Inst. f. Bienenkunde Celle

1

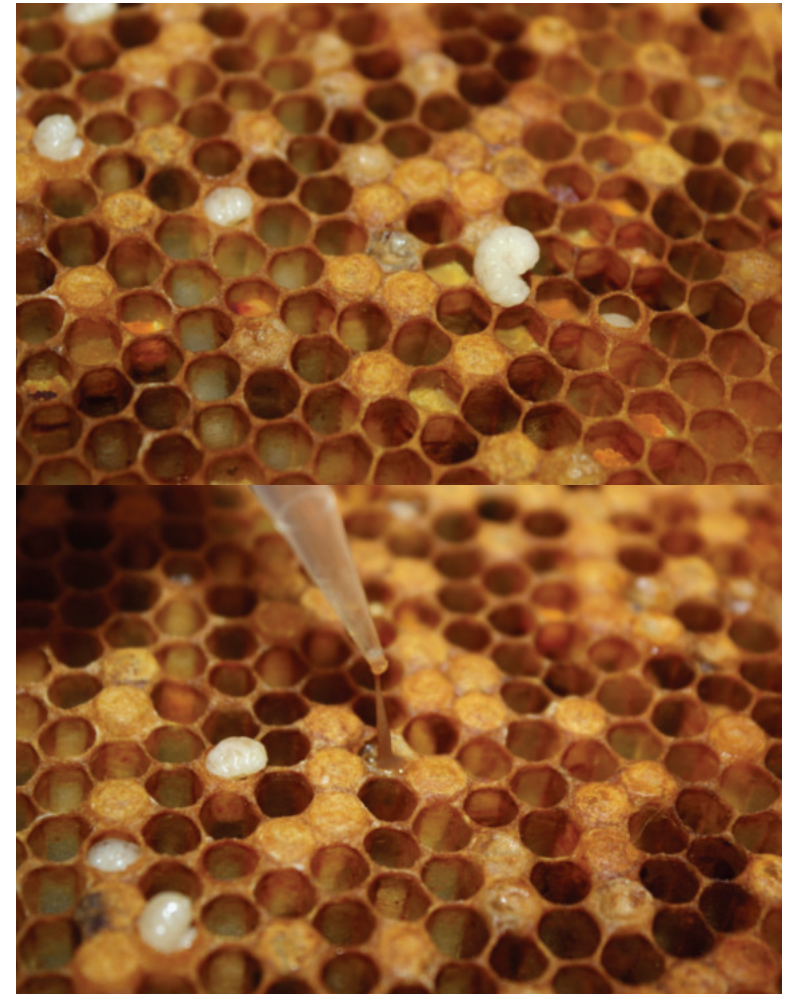
# Das Bienenvolk

- **Bienenvolk**
  - Bis zu 60.000 Tiere
  
- **Drei Kasten**
  - Königin 1
  - Arbeiterin mehrere tausend
  - Drohn ~500
  
- **Holometabole Insekten**
  - Vollständige Metamorphose
    - Ei 3 d
    - Larve 9 d
    - Puppe 9 d
    - Imago ~35 d → adult



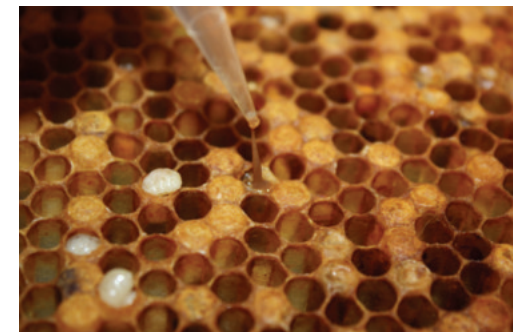
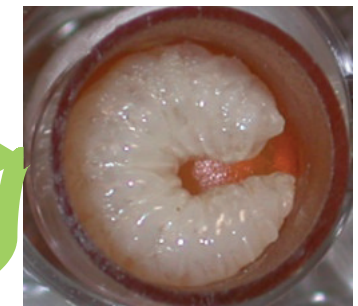
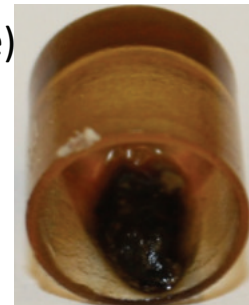
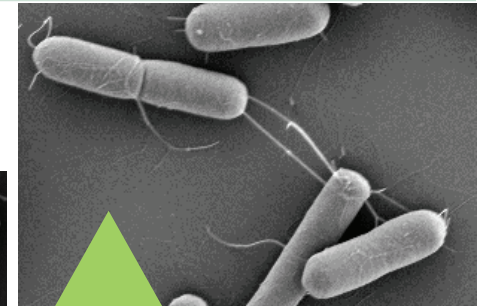
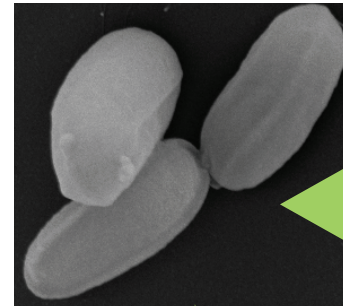
# Amerikanische Faulbrut (AFB)

- **Anzeigepflichtige Bienenseuche** (BienSeuchV)
  - Verdacht anzeigepflichtig (§7)
  - VetAmt kann Sperrbezirk einrichten
  
- **AFB-typische Symptome**
  - löchriges Brutnest/eingefallene Zelldeckel
  - stagnierende Volksentwicklung
  
- **Blühende Faulbrut**
  - positive Streichholzprobe (fadenziehende Masse)
  - Faulbrutschorfe in leeren Zellen [...]
  - *fauliger Geruch*



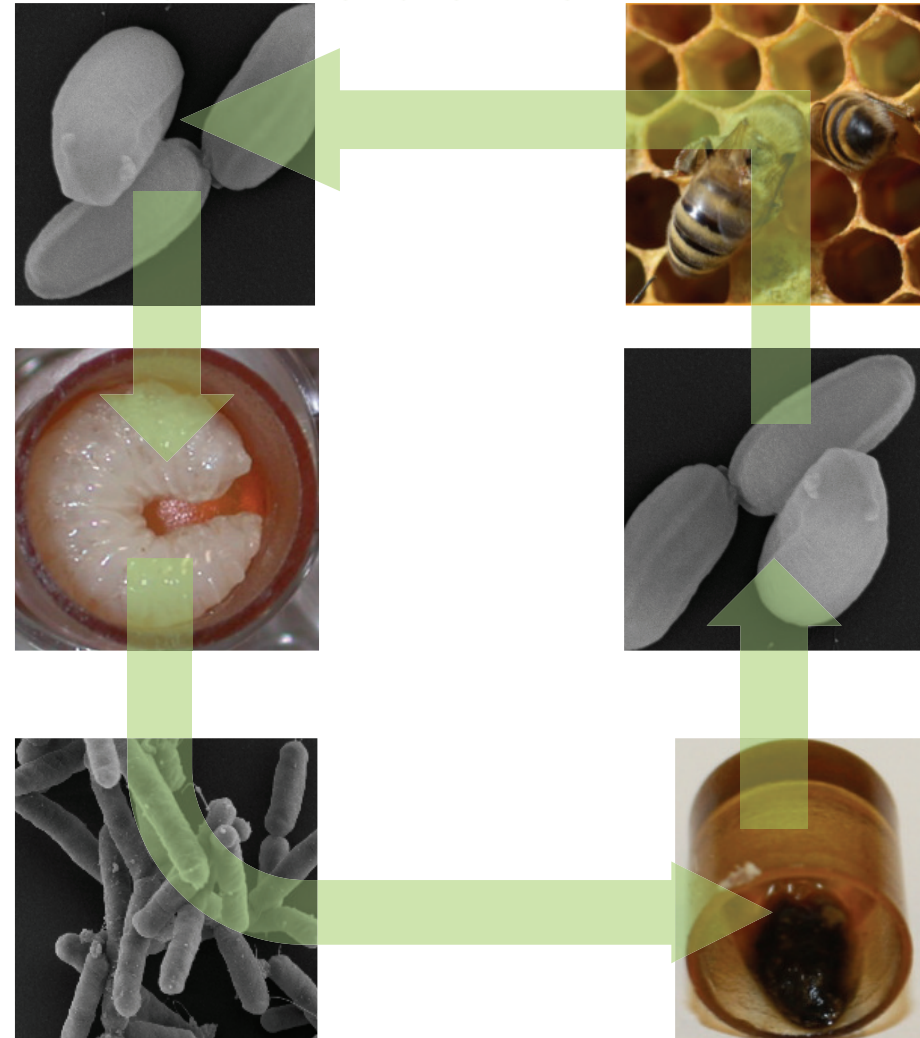
# *Paenibacillus larvae*

- **Stäbchenförmiges Bakterium**
  - Gram-positiv, bildet Sporen
  - Stäbchen, polytrich begeißelt
- **Sporen infizieren Honigbiene (*A. mellifera*)**
  - innerhalb der ersten 30 h
- **Bakterien töten Bienenbrut** (Rund-, bzw. Streckmade)
  - abhängig vom Erregertyp (ERIC)
- **Tote Larve wird zu Schleim zersetzt**
  - fauliger Geruch
  - löchriges Brutnest
  - nur AFB-Erreger aus Schleim isolierbar



# Infektionskreislauf - Volksebene

- **Infektion der Larve**  
→ Larve nimmt Spore mit Futter auf
- **Germination der Spore**  
→ Spore keimt im Mitteldarm aus
- **Tod der Larve**  
→ Larve stirbt und wird zu AFB-Schleim
- **Reinigung der Brutzelle**  
→ AFB-Schleim/-Schorf wird ausgeräumt
- **Verteilung der Sporen**  
→ Infektion weiterer Brut durch Sporen



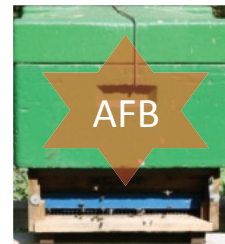
Dr. Hannes Beims

LAVES – Inst. f. Bienenkunde Celle

# How to treat AFB?

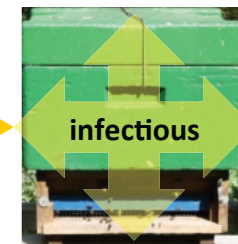
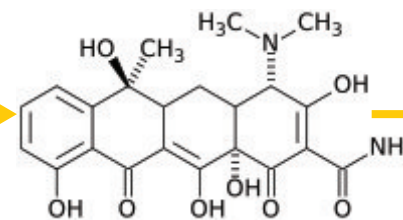
- **“Warmisanierung”**

- Völker werden abgetötet
- deutliche Wirtschaftliche Verluste
- +Kontaminiertes Material beseitigt



- **Antibiotika (in Europa nicht zugelassen)**

- Maskierung der Symptome
- Selektion von Resistenzen
- Rückstandsproblematik in Produkten



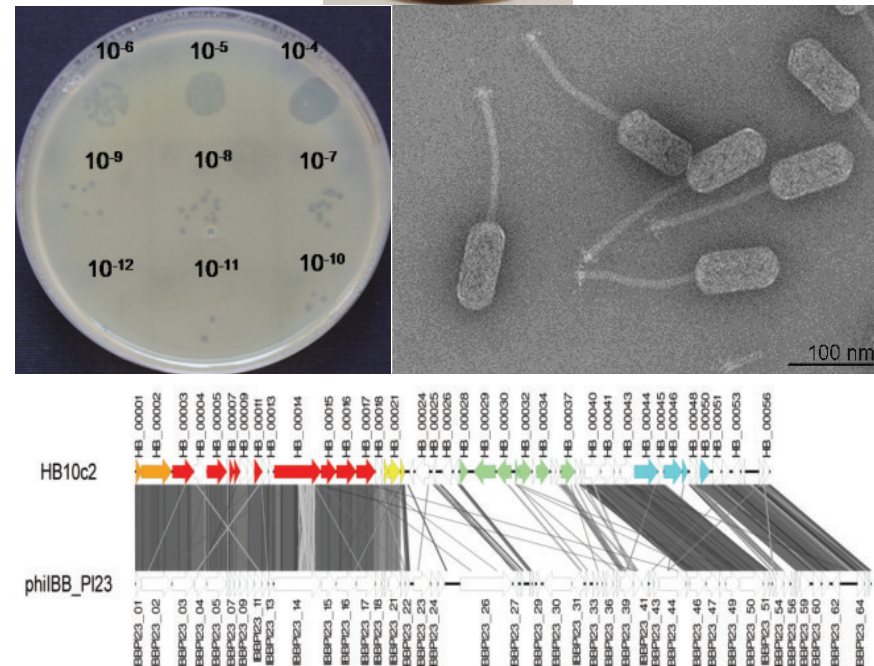
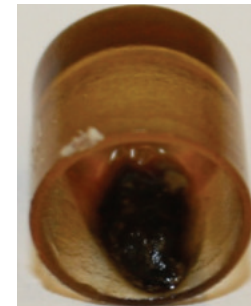
- **Kunstschwarm-Sanierung**

- +Adulte Bienen überleben
- +Völker überleben [...]
- Ausrüstung muss dekontaminiert werden

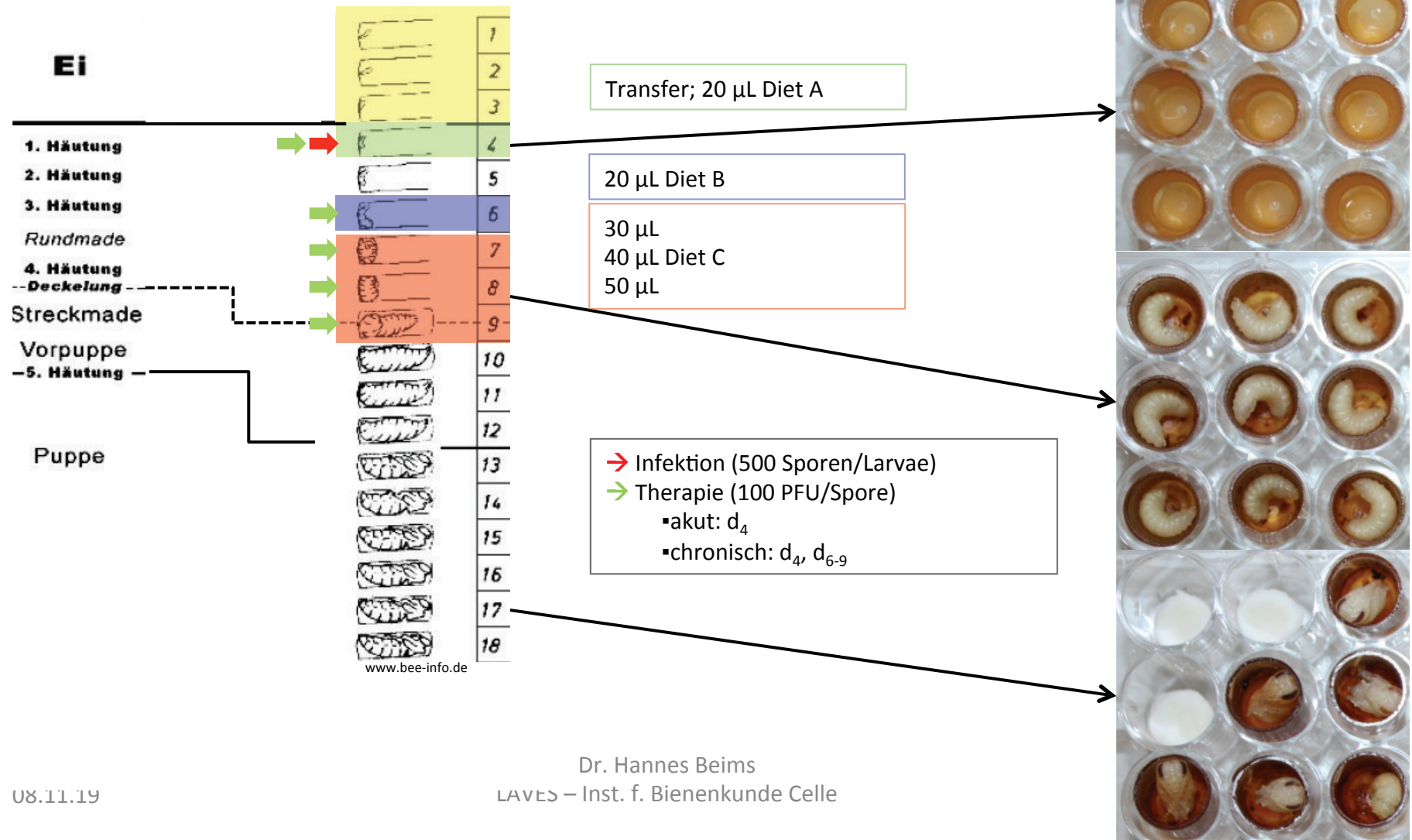


# *P. larvae*-spezifische Bakteriophagen

- **Idee: Phagentherapie gegen AFB**
  - Natürliches Mittel
  - Selbstdosierend
  - Keine Nebenwirkungen
  
- **Isolation von Bakteriophagen**
  - Geeignete Matrix suchen [...]
  
- **Charakterisierung**
  - Wirtsspezifität
    - Genotyp (ERIC)
    - Mikrobiom Honigbiene
  - Elektronenmikroskopie
  - Genomkartierung
  - Sequenzierung



# In vivo Phagentherapie





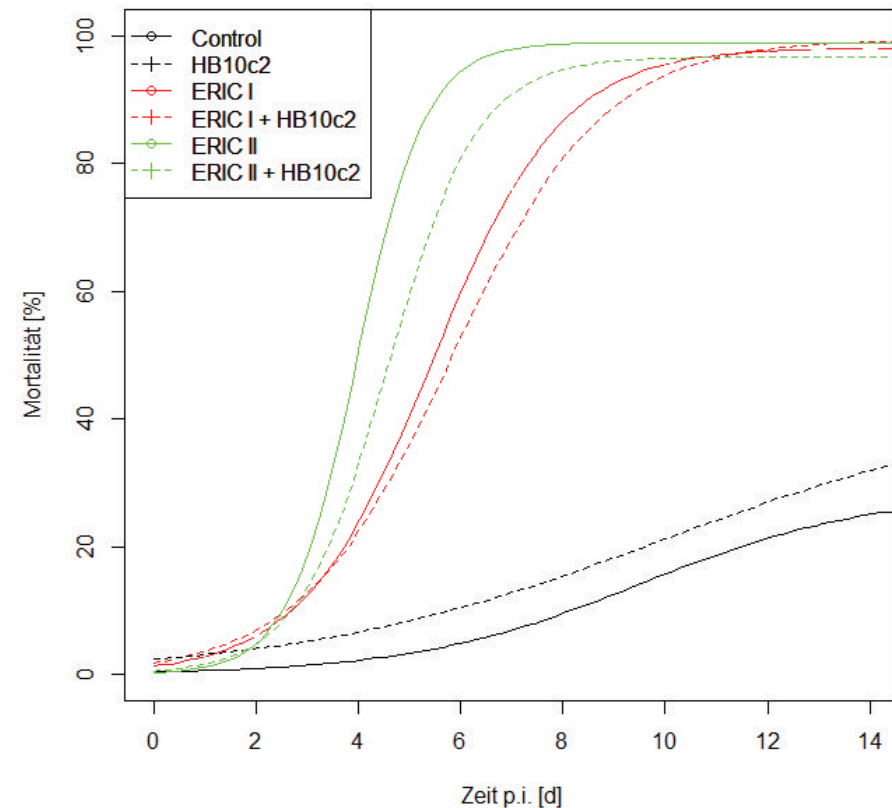
# In vivo Phagentherapie (einmalig)

- In vivo Wirkung des Phagen HBx**

|                   |                    |
|-------------------|--------------------|
| 48 Larven         | n = 3              |
| t = 14 d          | $\Delta t = 1$ d   |
| $MOI_{Inf} = 500$ | $MOI_{Ther} = 100$ |

- Vergleich der Mortalität**

|                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| Kontrolle         | 20,5% $\pm$ 2,1 |
| Phagenfütterung   | 31,3% $\pm$ 4,8 |
| Infektion ERIC I  | 100%            |
| Therapie ERIC I   | 99,3% $\pm$ 0,7 |
| Infektion ERIC II | 100%            |
| Therapie ERIC II  | 98,6% $\pm$ 1,4 |



→ kein Therapieerfolg durch die Applikation des Bakteriophagen HB10c2

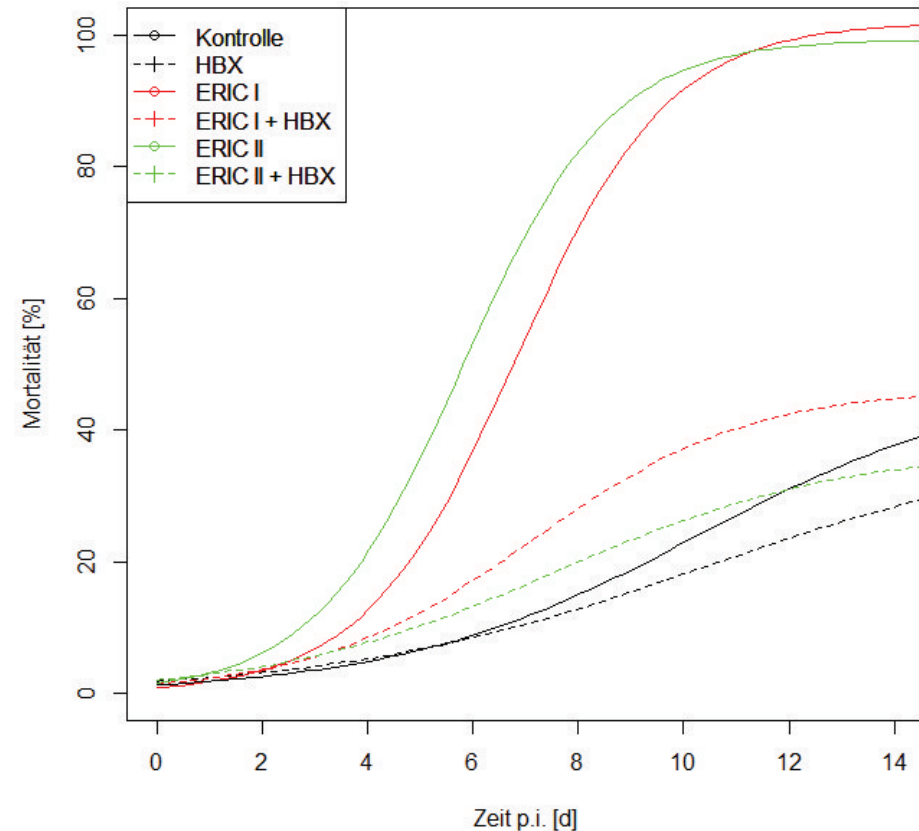
# In vivo Phagentherapie (täglich)

- In vivo Wirkung des Phagen HB $\chi$**

|                          |                           |
|--------------------------|---------------------------|
| 36 Larven                | n = 3                     |
| t = 14 d                 | $\Delta t = 1$ d          |
| MOI <sub>Inf</sub> = 500 | MOI <sub>Ther</sub> = 100 |

- Vergleich der Mortalität**

|                   |                 |
|-------------------|-----------------|
| Kontrolle         | 36,5% $\pm$ 2,4 |
| Phagenfütterung   | 27,3% $\pm$ 1,8 |
| Infektion ERIC I  | 100%            |
| Therapie ERIC I   | 44,2% $\pm$ 3,3 |
| Infektion ERIC II | 100%            |
| Therapie ERIC II  | 35,5% $\pm$ 6,4 |



→ **Signifikanter Therapieerfolg durch die kontinuierliche Applikation des Bakteriophagen HB $\chi$**

# Aussicht der Phagenforschung

## Bedeutung von Prophagen

- **Sequenzierung aller *P. larvae*-Genotypen**
  - ERIC I + II detaillierter
  - ERIC III-V *de novo*
- **Zahlreiche (mobile) genet. Elemente**
  - Prophagen
  - Phagen-verwandte Gene
  - „freie Phagen Genome“
- ***P. larvae* und seine Phagen**
  - Transduktionen
  - Lysogene Konversation
  - Entstehung der ERICs
    - Untersch. Pathomechanismen

## Phagen als Biosensor

- Phagen werden auf Matrix immobilisiert
- Bei Bindung an AFB-Spore → elektrochemisches Signal
- Detektion von AFB-Sporen im Schnelltest  
**Vielversprechender Ansatz, denn:**
  - Bisher veg. Form nötig f. Nachweis
  - Bisher nur Schnelltest f. veg. Zellen  
→ falsch-negative Ergebnisse





**Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit!**

Dr. Hannes Beims, M. Sc. Biologie  
LAVES – Inst. f. Bienenkunde Celle

Herzogin-Eleonore-Allee 5

29221 Celle

05141/90503-68

Hannes.Beims@LAVES.Niedersachsen.de