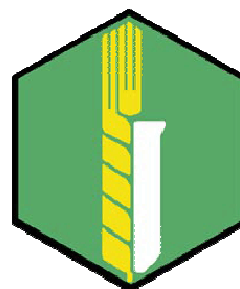


**Martin Kamler, Tomáš Erban, Jan Hubert**

**Postupy pro diagnostiku, tlumení, dezinfekci a obnovu  
včelařských provozů při výskytu bakteriálních  
chorob včel – manuál pro chovatele včel**

**CERTIFIKOVANÁ METODIKA**



Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.

&

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

**2018**



## **Postupy pro diagnostiku, tlumení, dezinfekci a obnovu včelařských provozů při výskytu bakteriálních chorob včel – manuál pro chovatele včel**

**Martin Kamler<sup>1</sup>, Tomáš Erban<sup>2</sup>, Jan Hubert<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., Dol 94, 252 66 Libčice nad Vltavou

<sup>2</sup>Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Drnovská 507/73, Praha 6-Ruzyně, 161 06

Certifikovaná metodika

### **Dedikace**

Metodika je výsledkem řešení výzkumného projektu QJ1310085 Nové metody pro komplexní diagnostiku zdravotního stavu včelstev *Apis mellifera* pro prevenci chorob a zvýšení jejich fitness financovaného Národní agenturou pro zemědělský výzkum Ministerstva zemědělství ČR.

### **Oponenti**

**Doc. Ing. Jaroslav Havlík, Ph.D.**, Česká zemědělská univerzita v Praze

**Ing. Petr Krejčík**, Oddělení rybářství a včelařství, Ministerstvo zemědělství ČR

**Ing. Michal Bednář**, Oddělení zkoušení přípravků na ochranu rostlin, NRL, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

Metodice bylo uděleno Osvědčení MZe č.j. 4487/2018-MZE-16232

### **Vydal:**

© Výzkumný ústav včelařský, s. r. o., 2018

ISBN 978-80-87196-40-3

## **Obsah**

1. Úvod
2. Cíl metodiky
3. Vlastní popis metodiky
4. Srovnání novosti postupů
5. Popis uplatnění Certifikované metodiky
6. Ekonomické aspekty
7. Seznam použité související literatury
8. Seznam publikací, které předcházely metodice.
9. Přílohy

### **1. Úvod**

Bakteriální onemocnění včel představují dlouhodobě významnou skupinu problémů moderního včelařství po celém světě. Nejvýznamnější jsou mor a hniloba včelího plodu (dále v textu MVP a HVP). K jejich úspěšnému řešení a zabránění šíření mezi včelstvy je v první řadě nutná správná prohlídka včelstev na stanovišti při podezření z onemocnění a odhalení včasných příznaků.

Následně je nutný odběr vzorků a jejich transport do laboratoře ke confirmaci bakteriálních původců nemoci. Tím se potvrdí či vyloučí podezření na MVP nebo HVP. V ČR jsou MVP a HVP dle veterinárního zákona řazeny mezi nebezpečné nákazy s povinným hlášením při podezření na výskyt ve včelstvech. Od 1. dubna 2013 po novelizaci vyhlášky č. 299/2003 Sb., platí, že pokud jsou klinické příznaky hniloby nebo moru včelího plodu laboratorně potvrzeny u více než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se spálením všechna včelstva na stanovišti. Pokud se laboratorně potvrzené klinické onemocnění vyskytuje u méně než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se pouze tato klinicky nemocná včelstva. Protože se jedná o likvidaci včelstev v důsledku nebezpečné nákazy, jsou chovatelům vypláceny náhrady.

Po potvrzení nebezpečného onemocnění je třeba provést řadu opatření a postupů tak, aby se onemocnění nešířilo dále. Za zdravotní stav včelstev jsou v první řadě zodpovědní chovatelé – včelaři. Ti jsou první, kdo může spatřit počínající onemocnění včelstev. V řadě případů však z různých důvodů včelaři nezaznamenají problémy včelstev. Zde mohou být včelařům nápomocni nejen učitelé včelařství a soukromí a úřední veterinární lékaři, kteří se včelařskému

oboru věnují, ale zejména proškolené osoby k prohlídce včelstev, tzv. prohlížitelé včelstev. Prohlížitelem se může stát fyzická osoba, která úspěšně absolvuje speciální školení blíže upravené prováděcím předpisem. Nové ustanovení o prohlížitelích včelstev je uzákoněno od 1. listopadu 2017 novelizací veterinárního zákona na základě požadavků Českého svazu včelařů. Při řešení nebezpečných bakteriálních onemocnění je třeba systematický postup od samého počátku při podezření na nákazu přes její zdolávání při potvrzení a následně až po obnovu včelařského provozu.

## **2. Cíl metodiky**

Cílem předložené metodiky je popsat systematický postup při podezření nebo výskytu bakteriálních nemocí v chovech včelstev. Metodika nově shrnuje stávající znalosti, které dosud byly roztržštěné v prezentacích, laboratorních záznamech, různých člancích nebo se tradovaly v praxi.

Pro komplexní a správnou diagnostiku onemocnění včel je důležitá terénní část diagnostiky. Prohlídka a odběr vzorků jsou naprosto klíčovými faktory. Cílem je využití metodiky jako průvodce a záznamník při terénních prohlídkách včelstev z důvodů podezření na onemocnění nebezpečnou nákazou (mor a hniloba včelího plodu, varroáza), dále i při řešení podezření na otravu včelstev, šetření úhynů včelstev na stanovišti a také i při běžných a úředních kontrolách včelařských provozů.

Metodiku chceme zpřístupnit přímo pro jednotlivé včelaře a pracovníky včelařských provozů, prohlížitele včelstev, úřední i praktické veterinární lékaře a další zájemce.

Dále může metodika sloužit k analýze problémů chovatelů včel v ČR použitím záznamů z terénních prohlídek.

## **3. Vlastní popis metodiky**

V první řadě je dobré si uvědomit, za jakým účelem a kdy provádíme diagnostickou prohlídku?

a) Prohlídka s diagnostickým zaměřením se provádí, pokud má včelař podezření, že se včelstvem není něco v pořádku. Při tom je důležité dotáhnout diagnostiku pokud možno až k odhalení příčin nenormálního stavu, i když se nebude jednat o potvrzení podezření na bakteriální nákazu.

b) Včelstva sama nezbuzují podezření, ale včelař má úmysl se včelstvy kočovat, stěhovat se, či prodat včelstva nebo oddělky mimo katastr jejich stanoviště. Pak je potřeba získat osvědčení o jejich zdraví ve formě protokolu z laboratoře.

c) Včelstva se ocitla v ochranném pásmu kolem ohniska moru nebo hniloby. Mimořádná veterinární opatření nařizují jejich prohlídky.

### **3.1. Materiál**

Je-li na stanovišti podezření na nákazu, je třeba předcházet možnému přenosu patogenů mezi stanovišti včelstev různých chovatelů. Proto pozor na přenášení věcí a oděvů mezi stanovišti. Dále také doporučujeme, aby se majitel, resp. chovatel, vždy prohlídky včelstev účastnil a sám své včely rozebíral. Tím zabráníme obavám, že prohlížeč způsobí ztrátu matky nebo jiné poškození včelstva.

Pro potřeby kontroly, prohlídky včelstev a odběru vzorků:

- záznamník (viz. Příloha č. 1), tužku a permanentní fixy, fotoaparát
- ochrana obličeje, ochranný oblek, návleky na boty – pro každé stanoviště použijeme nové v případě prohlídek z důvodů podezření na mor nebo hnilobu včelího plodu
- noviny, izolepu, polepky
- vzorkovnice a ependorfky různých objemů
- pinzety, nůž, skalpel, nůžky, jednorázové rukavice
- čistý etanol a kahan
- dřevěná párátko
- odběrové tampony s Amiesovou půdou
- čisté PE sáčky na odchyt včel, krabičky na včely
- polystyrenová krabice s ledem (v případě podezření na otravy včel a odběry vzorků pro molekulární analýzy)

### **3.2. Metodika**

Při problémech na stanovišti včel již zpravidla včelaři sami hlásí, že mají podezření na otravu nebo onemocnění. Proto i vzhledem ke specifčnosti a charakteru problémů při onemocnění včel a při podezření na otravu včel oddělujeme postup prohlídky a přístupu ke včelám na stanovišti.

### 3.2.1 Podezření na nemoc

Vzor protokolu pro záznam prohlídky je v příloze č. 1. Do protokolu napíšeme údaje o chovateli včetně adresy, kontaktu a registračních čísel chovatele a stanoviště. Pro každé stanoviště vedeme vlastní záznam. Je běžné, že stanoviště jsou mimo bydliště chovatele, proto i pro jejich jednoznačnou identifikaci a rozlišení nejen podle registračního čísla napíšeme umístění (např. sad, u lesa, označení podle místních názvů lokalit a pod). Zaznamenáme počet včelstev na stanovišti (obsazených úlů). Záznam můžeme vést společně pro všechna včelstva na stanovišti. Stav jednotlivých včelstev zaznamenáme i s označením příslušného úlu. Je dobré zaznamenat i přítomnost prázdných úlů a dalších předmětů, které by mohly mít pro vyšetření význam. V případě, že úly nejsou očíslovány, doporučuje se očíslovat obsazené úly pokud možno trvanlivým popisem. Vždy je užitečné stanoviště vyfotografovat.

#### 3.2.1.1 Anamnéza

V anamnéze nás zajímá vše, čeho si chovatel všiml u včelstev a kdy zaznamenal, že se včelstvu je nějaký problém. Tyto údaje zpravidla zjišťujeme rozhovorem v průběhu práce na stanovišti a při prohlídce, abychom si ujasnili možné příčiny problémů. Vlastní záznam však většinou zapíšeme v klidu po prohlídce. Je dobré zjistit následující skutečnosti:

Průběh zimování včelstev

Průběh jarního rozvoje

Monitoring roztočů Varroa (aktuální a předchozí sezonu)

Vyšetření měli a jeho výsledky

Ošetření včelstev proti roztočům Varroa (aktuální a předchozí sezonu)

Hodnocení polohy stanoviště a snůškové podmínky

Zimní krmení (doba, množství, druh krmiva)

#### 3.2.1.2 Zevní prohlídka úlů

U včelstev na stanovišti se nejdříve zaměříme na pozorování prostoru před úly, co se děje na letácích a česnech a až poté provedeme vlastní prohlídku včelstev s rozebráním díla.

Nejčastější podezření a jejich příznaky při zevním pozorování úlů a další postup:

Podezření na virózu nebo varroázu

Včely neschopné letu lezou před úly; jedná se o mladé včely, často jsou viditelná zakrnělá nebo poškozená křídla; na včelách je prohlédnutím možno spatřit roztoče Varroa

Podezření na roztočkovou nákazu

včely neschopné letu lezou po zemi před úly, křídla mají vyvracená do tvaru písmene K; včely odebereme do sáčku, můžeme i na led; dlouhodobě již nebyl původce *Acarapis woodi* v ČR prokázán, je však třeba provést vyšetření pro vyloučení akarapidózy.

Česno, leták, okolí oček

Jsou-li přítomné stopy kálení, připadá v úvahu nose móza. Skalpelem (nožem) seškrábneme výkaly do papíru nebo alobalu a zabalíme; ze včelstva odebereme 30 dělnic do sáčku k laboratornímu vyšetření. Ke kálení může docházet i z jiných příčin (melecitóza nebo nevhodné cukerné krmivo).

### 3.2.1.3. Prohlídka včelstva s rozebráním díla

Zásadně je potřeba prohlédnout všechny plásty, přestože to v zadovácích bývá obtížné. Zaznamenejme přítomnost včel (případně mrtvých včel), zásob a plodu (vajíčka, otevřený plod, zavíčkovaný plod). Při prohlídce se však postupně zaměřujeme na jednotlivé součásti včelstva takto a potvrzujeme či vylučujeme uvedené příčiny.

#### Zásoby

Pokud zjistíme, že včelstvo nežije a nejsou přítomny glycidové zásoby, může se jednat o úhyn hladem. Mrtvé včely jsou zpravidla semknuté v chomáči a mohou obsedat i několik rámků, rámků jsou bez zásob, mrtvé včely jsou zalezlé v buňkách. Hlad ovšem nemusí být primární příčinou úhynu. Nemocné nebo bezmatečné včelstvo může být neklidné a mít vysokou spotřebu zásob, které dojdou.

#### Přítomnost mrtvolek na dně

hlad – viz výše

běžný spad, ale ucpané česno

včely mají zkrácené zadečky a zdeformovaná křídla - virózy v důsledku varroázy



### Zavíčkovaný plod

Zavíčkovaný plod prohlížíme detailně zejména kvůli moru včelího plodu. Současně na něm potvrdíme či vyloučíme další patologické jevy.

Mor včelího plodu - hledáme byt' i ojedinělé plodové buňky s tmavšími vpadlými víčky, v některých i otvůrky. Pokud se buňka jakkoliv liší od zdravé (v porovnání s okolními), buňku označíme a celý plást odešleme k laboratornímu vyšetření.

Varroáza - buňky jsou otevřeny v různém stadiu vývoje kukly, kukly jsou částečně vykousány – podezření na varroázu v pokročilém stadiu. Pokud kukly z buněk vyjmeme a prohlédneme je, přítomnost roztočů Varroa zpravidla odhalíme.

Rourovitý plod - buňky jsou otevřeny v různém stadiu vývoje kukly, ale takto je postiženo několik buněk v řadě vedle sebe, jedná se o důsledek přítomnosti housenky zavíječe malého

### Mezerovitý plod

Mezerovitost je zapříčiněna řadou normálních okolností (roční doba, stáří matky, příbuzenská plemenitba, pyl v buňkách, redukce plodu včelami). Může být i patologická. Porovnááme i okolní včelstva. Podezření vyloučíme odesláním plástu do laboratoře.

### Hrboplod (víčka dělničího plodu jsou nápadně vypouklá)

Příčinou může být trubcokladná matka nebo trubčice (více vajíček v jedné buňce).

### Otevřený plod

Normální zdravé larvy včel jsou perleťově bílé a plodový plást rovnoměrně zakladený. Všímací si morfologie a barvy larev v buňkách. Patologické stavy a jejich příznaky jsou následující:

Zvápenatění včelího plodu - nezavíčkované larvy jsou pokryty bílým plst'ovitým povlakem, který může být u starších larev šedé, zelené nebo černé barvy; larvy jdou poměrně snadno vyloupnout a mají kompaktní vzhled se znaky článkování těla larvy.

Hniloba včelího plodu - vývoj larev je nepravidelný, plod je mezerovitý, larvy bez lesku matně bílé barvy, postupně se mění na žlutou. Pokud se larva rozkládá a mění se až na tmavohnědou kašovitou hmotu, uhynulé larvy v buňce ztrácí tvar a mrtvé larvy zůstávají ležet na dně buňky. Buňku s nemocnou larvou označíme a celý plást odešleme k laboratornímu vyšetření.

Virová nákaza plodu - larvy jsou před zavičkováním hnědě zbarvené, Pinzetou jdou snadno vyjmout a po vytažení mají podobu pytlíčku s tekutinou, jedná se o suspektní virus pytlíčkovitosti plodu. Po úhynu larva vysychá a mění se v hnědý útvar se zdviženými konci (tzv. gondola či čínský střevíc). Při pochybnostech buňku označíme a celý plást odešleme k laboratornímu vyšetření pro správnou diferenciální diagnostiku od nebezpečných bakteriálních nákaz

#### Vajíčka

Přítomnost nebo absence vajíček není diagnostickým znakem nebezpečných infekčních nemocí včelstev.

#### 3.2.1.4. Odběr vzorků

V předešlé části při prohlídce včelstev byla nastíněna indikace odběru vzorků. Vzorek může být vyšetřen na několik původců nákaz. Tento požadavek musíme do průvodní žádanky nebo objednávky jasně formulovat. V laboratoři se jen pokusí potvrdit nebo vyvrátit popsané podezření. Pro všechny vzorky platí společná pravidla: vzorky označíme identifikačními údaji chovatele, stanoviště a vždy číslem včelstva, z kterého byl vzorek odebírán.

#### Včely

Odběr mrtvolek pak provádíme do prodyšných papírových krabiček, aby se zabránilo zplesnivění a dalšímu rozkladu. Pokud je možno, vzorky zmrazíme.

Živé včely odchytáme z česna pinzetou nebo přiložením otevřeného PE sáčku. V dalších případech můžeme včely odebrat smetením z krajního rámu do PE sáčku. Ze sáčku vymačkáme co nejvíce vzduchu a poté zavážeme. V sáčku dýcháním včel vzrůstá koncentrace oxidu uhličitého, kterým se včely uspí. V tomto stavu včely vydrží živé minimálně 24 hodin nebo je

usmrtíme zmražením. Sáček umístíme do transportní krabice nebo kufru do stínu, nesmí být na slunci a přehřát se.

Množství včel ve vzorku: v případě podezření na infekční onemocnění odebíráme z každého včelstva minimálně 30 včel.

### Pláсты

Pláсты s podezřením na nákazu odebereme celé. Fixem napíšeme číslo úlu na horní loučku rámu odebíraného plástu. Párátka zamáčkeme do plástu tak, aby jeho špička označila buňku s podezřením na nákazu. Celý plást zabalíme do několika vrstev novin a zalepíme izolepou.

Takto zabalený plást můžeme i po více kusech vložit do PE pytle pro transport do laboratoře. Pro převoz plástů není nutné chlazení, ale pro přechovávání do druhého dne je nezbytné. Zároveň je nutné počítat při balení s tím, že z plodových ploch se mohou během transportu vylihnout včely, které polezou z obalu ven při otevření. První den nelétají, ale později představují riziko šíření nákazy, případně riziko pro personál laboratoře.

Pro diagnostiku MVP a HVP je též možno odebrat vzorek mrtvých a podezřelých larev výtěrem buňky odběrovým tamponem do zkumavky s Amiesovou půdou. V případě absence plodu při kontrole včelstev, je možno nově odebrat a vyšetřit vzorek dělnic, které jsou přenašečky spor *P. larvae*. Tento vzorek také doporučujeme pro rychlejší šetření MVP v okolí ohnisek v ochranném pásmu. Vzorek včel lze odebrat jednorázově a není časová prodleva a komplikace při odběru měli a jejím množstvím z podložek v letním období.

### Zásoby

Přítomnost původců bakteriálních nákaz plodu můžeme zjišťovat i v tekutých zásobách. Odběr se provádí vysterilizovanou nebo jednorázově používanou lžící z plástu, nejlépe z blízkosti plodu. Zásoby v množství alespoň 20 gramů zasíláme v dobře označených vzorkovnicích.

### Měl

Vzorek měli je dobrou matricí na vyšetření přítomnosti původce moru včelího plodu. Tento vzorek odebíráme v těchto případech: a) ochranná pásma; b) bývalá ochranná pásma po 5 letech;

c) chovatelé matek, kočovníci, přesun včelstev, prodej včelstev; d) předem dohodnutý a schválený projekt.

Období, kdy se vzorek měl odebrat: ideální je využít pro vyšetření měl sebranou při čištění podložek po posledním zimním ošetření včelstev proti roztočům Varroa. Tyto vzorky mohou být vyšetřeny v prosinci ještě před hromadným vyšetřováním varroázy a současně víme výsledek dostatečně dlouho před zahájením sezony i letové aktivity včelstev.

Měl odebíráme na každém stanovišti zvlášť, z měl můžeme vytvořit směsný vzorek. Směsný vzorek však může být připraven maximálně z 25 včelstev, v případě stanoviště včelstev v ochranném pásmu z 10 včelstev.

Zejména při odběru v zimním období je dobré nechat měl uschnout na novinách při běžné pokojové teplotě. Vysušené vzorky sesypeme do obalů. Obaly musí být prodyšné a zavíratelné tak, aby se z nich měl nesypana. Doporučujeme papírové tubusy s uzávěry. Vzorky v nich neplesniví a měl se z nich nesype. Nevhodné jsou plastové nebo kovové krabičky a obálky. Vyšetření na mor je mikrobiologického charakteru a výsledky ztrácí vypovídací schopnost, pokud se měl z obalů sype. Pozitivní měl může kontaminovat ostatní vzorky. Také plesnivá měl se vyšetřit nedá.

#### 3.2.1.5. Odeslání vzorků

Vzorky se odesílají k laboratorním analýzám. Laboratoř vybereme i podle toho, o jaké podezření se jedná, a nejlépe ji kontaktujeme a domluvíme podmínky transportu vzorků a možnosti vyšetření. Podle hledaných původců zašleme vzorky do laboratoří níže uvedených.

Virové infekce – molekulární analýzy jednotlivých virů provádí Výzkumný ústav veterinárního lékařství v.v.i., Brno; Oddělení virologie, RNDr. Jana Prodělalová, Ph.D.

Nosema spp.- mikroskopické vyšetření včel provádí Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.; laboratoře Státních veterinárních ústavů

Mor a hniloba včelího plodu – kultivační vyšetření z plodu, měl zásob i včel provádí Výzkumný ústav včelařský, s.r.o.; laboratoře Státních veterinárních ústavů; molekulární analýzy DNA z dělnic provádí Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Praha Ruzyně, RNDr. Jan Hubert, Ph.D.

### **3.2.2 Podezření na otravu**

Problémy může včelstvu způsobit nejen nemoc, ale také otrava. Příznaky někdy mohou být podobné. Mrtvolky včel při otravě jsou na zemi před úly, na letáku a česně; zasažené jsou létavky, proto mohou mít postižené včely pylové rousky. Mezi mrtvými včelami mohou být i živé včely, které jsou malátné, v křečích, mají vysunuté sosáky. Nahlédnutím na dno úlu můžeme někdy spatřit velkou vrstvu mrtvolek nebo i ještě živých malátných včel v křečích. V případě podezření na otravu kontaktujeme příslušný inspektorát KVS. Je nutno odebrat úřední vzorek v nových jednorázových rukavicích se odebere vzorek mrtvolek (min. 500 kusů) nebo ještě živých malátných včel do prodyšných krabiček nebo do PE sáčku a uložíme na led; transport do laboratoře je také nutný v mrazu a zajišťuje jej veterinární lékař. Při podezření na otravu včel je nutno vzorek co nejdříve sebrat a zmrazit. Po úhynu včel dochází k jejich rozkladu a v případě otrav se účinné látky, které otravu způsobily, metabolizují. Tím dochází též k jejich rozkladu a změně a při analýzách nemusí být pak detekovány. Odběr včel a jejich konzervace mrazem je nutná do 72 hodin od podezření na otravu. Pro zmrazení máme polystyrenovou krabici se suchým ledem nebo se zmraženými chladícími vložkami.

Stejně jako v ostatních případech, i v případě otrav provedeme záznam z prohlídky a místního šetření (vzor pro záznam viz. Příloha č. 1).

Současně přivolaný veterinář rozhodne, zda je účelné odebrat i vzorek rostlin (ošetřovaného porostu). Za tímto účelem se spojí s příslušným pracovníkem ÚKZÚZ. Ten je úřední osobou pro odběr vzorků rostlin a kontrolu zemědělských provozů. Včelař rozborů neplatí. Výsledky těchto rozborů pak mohou sloužit jako podklad pro řešení sporů o náhradu škody.

Analýzy placené objednatelům též provádí ALS Global a Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Praha Ruzyně (kontaktní osoba RNDr. Tomáš Erban, Ph.D.), Tyto výsledky nemohou být použity v případě sporů o náhradu, pokud odběr vzorků neprovedla úřední osoba.

### **3.2.3 Závěr prohlídky**

Po prohlédnutí včelstev se úly opět zavřou. Pokud jsme odebrali vzorky plástů s podezřením na nebezpečnou nákazu plodu, tak počet plástů v úle nedoplňujeme, jenom je srovnáme a počkáme až na výsledek laboratorního vyšetření. Jednorázové ochranné pomůcky vložíme do pytle a odstraníme jako nebezpečný odpad. Zaznamenáme, kdo prohlídku prováděl a byl u ní přítomen, byť i jako pozorovatel. Všichni zúčastnění záznam podepíší.

### 3.2.4 Tlumení bakteriálních nemocí

#### Vyhlášení ohniska a jeho likvidace

Laboratoř z odebraných vzorků potvrdí nebo vyloučí nebezpečná onemocnění plodu, tj. MVP nebo HVP. V případě pozitivního výsledku je ohniskem nákazy celé stanoviště včelstev s klinickými příznaky MVP nebo HVP. Pokud jsou klinické příznaky MVP nebo HVP laboratorně potvrzeny u více než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se spálením všechna včelstva na stanovišti. Pokud se laboratorně potvrzené klinické onemocnění vyskytuje u méně než 15 % včelstev na stanovišti, likvidují se pouze tato klinicky nemocná včelstva. O likvidaci se provede úřední zápis, který pak slouží i k vyčíslení náhrady pro chovatele.

Doporučujeme provést inventarizaci počtu obsazených a prázdných úlů na stanovišti hned při prvních návštěvách při vzniku podezření na výskyt MVP nebo HVP. Je-li zapsáno, kolik úlů na kterém stanovišti původně bylo, ztíží se tak možnost, že někoho napadne některé věci před likvidací schovat nebo přestěhovat.

Je nutné domluvit s místními hasiči, aby se utracení včelstev a jejich spálení provedlo najednou. Před utracením včelstev se musí napřed připravit místo, kde se budou věci pálit. Večer po skončení letu včel se úly důkladně uzavřou a shora se do nich nalije asi 1 - 2 dl benzínu. Benzin se rychle odpaří, omámí a usmrtí včely. Tento postup je rychlejší než zaplňování včelstev oxidem siřičitým ze zapáleného sirného knotu.

Při eradikaci MVP nebo HVP na celém stanovišti následuje spálení všech úlů, plástů, včel a spalitelných pomůcek. Je třeba nekompromisně spálit i všechny záložní souše, pokud pocházejí z ohniska a všechny prázdné úly a záložní úlové součásti, jako dna, víka, nástavky a rojáčky.

V případě likvidace jen jednotlivých včelstev s klinicky potvrzeným MVP nebo HVP je nutná zásadní očista na stanovišti a v provozu kvůli zbývajícím včelstvům. Ve včelařské praxi zpravidla kolují plásty, nástavky a další potřeby nejen v rámci včelstev na jednom stanovišti, ale i na několika stanovištích chovatele. Doporučujeme proto provést očistu včelstev s přemetem na mezistěny s aplikací podpůrných imunostimulačních látek (viz. certifikovaná metodika Kamler a kol. 2017).

### 3.2.5. Dezinfekce při výskytu bakteriálních onemocnění

#### Vysokou teplotou

Preventivně lze ošetřovat dřevěné předměty v horkém parafinu. Tento postup ale nemůže nahradit nařízenou likvidaci úlů s klinicky nemocnými včelstvy a nelze jej použít pro dvojstěnné utepené nástavky. Potřebná teplota parafinu je 150 °C a doba tepelné expozice alespoň 5 minut od chvíle, kdy z ponořeného dřeva přestanou stoupat bublinky vodní páry. Původce HVP je mnohem citlivější vůči vysoké teplotě než spory MVP. Přesto je třeba bez ohledu na původce provést správné parafinování výše uvedeným způsobem.

Neúčinné je působení nízké teploty. Spory MVP beze škody přežije i opakované namočení do tekutého dusíku (-190 °C).

#### Chemická dezinfekce

##### Dezinfekce jodoforem

Jod je účinný dezinfekční prostředek, nejúčinnější je ve formě jodoforu. Jodofory jsou přípravky obsahující jod v komplexu s rozpouštěcím činidlem. Pro včelařskou praxi se osvědčil přípravek Bee-Safe, který dokáže snížit množství životaschopných spor původce MVP a má velmi dobrý účinek proti virovým partikulím.

Úly: Ze všech prázdných nástavků mechanicky oškrábeme zbytky vosku, propolisu a výkalů. Všechny plochy dřevěných nástavků ožehneme plamenem. Polystyrenové nástavky pouze mechanicky očistíme.

Mytí:

V případě silného znečištění, ještě před vlastní dezinfekcí, použijeme pro snadnější mytí přípravek Shift v koncentraci 1 %. Díky výrazným smáčecím účinkům snadno odstraníme nečistoty.

Na úly nanese pěnu 1% Shift a 20 minut necháme působit, poté opláchneme čistou vodou. Česnové uzávěry, stropní folie, uteplivky, podložky namočíme do 1% roztoku Shift na 30 minut a následně opláchneme.

Všechny umyté předměty ponecháme úplně zaschnout.

Vlastní dezinfekce nástavků:

Úly všech materiálů dezinfikujeme (ideálně pěnou) přípravkem Bee-Safe v koncentraci 4 % v dávce 300 ml roztoku na 1 m<sup>2</sup>.

Dnu úlu věnujeme zvýšenou pozornost.

Česnové uzávěry, stropní folie, utěplivky, podložky dezinfikujeme ponorem na 30 minut v lázni o koncentraci 2 % Bee-Safe.

Osychání:

Dezinfekci se ponechá zaschnout. Dezinfekci neoplachujeme!

Takto ošetřené části úlů necháme odvětrat 1 měsíc na suchém a čistém místě s volným přístupem vzduchu.

Rámky: Z rámků vyvaříme včelí dílo a po vyjmutí necháme rámky zchladnout.

Rámky mechanicky očistíme.

Vlastní dezinfekce rámků:

Rámky ponoříme do lázně 2% roztoku Bee-Safe na 30 minut (lze využít i společné lázně s česnovými uzávěrami)

Osazení rámků a použití ve včelstvech:

Před osazením rámků mezistěnou a jejich opětovném vložení do včelstva je také ponecháme jeden měsíc odvětrat.

Rámky by se měly dezinfikovat vždy po vyvaření díla nejdéle v tříletých cyklech.

Kontrola účinnosti

Roztok Bee-Safe snadno zkontrolujeme vizuálně: Účinný roztok Bee-Safe má silně hnědě zbarvení. Při změně barvy do žluté či odbarvení je nutno vyměnit za čerstvý.

Dezinfekce louhem



Nejběžnější dezinfekční prostředek je louh, respektive hydroxid sodný (případně hydroxid draselný). Aby se spolehlivě zničily i spory původce MVP musí se použít alespoň 5% roztok louhu a musí být minimálně 80 °C teplý. Použití studeného louhu není dostatečné

Dezinfekce louhem a chlornanem sodným

Chlornan sodný je účinnou látkou v běžně dostupném přípravku Savo. Chlornan sodný ve vodě uvolňuje aktivní kyslík. Tento účinek SAVA se velmi zesílí ve směsi s louhem. Vyzkoušená směs 5% louhu a 0,5% chlornanu sodného likviduje i spory původce MVP za studena. Ne však v dřevěných předmětech.

Pro namíchání účinné směsi použijeme:

10 litrů vody

1/2 kg pecičkového louhu

1 litr SAVA

### **3.2.6 Obnova včelařských provozů**

Pro včelstva je třeba připravit spolehlivě čisté, nejlépe nové úly. Pro převoz smetenců a oddělků doporučujeme také nové obaly, nejlépe jednorázové lepenkové krabice.

Nová včelstva je třeba opatřit z důvěryhodných zdrojů. Požadujte po dodavateli certifikát o vyšetření měli na mor plodu.

Zavčelení je také dobrá příležitost pro nákup kvalitního genetického materiálu z , rozmnožovacích, případně šlechtitelských chovů. Tyto chovy se totiž mohou prokázat protokolem o negativním vyšetření na mor. V případě jiných zdrojů je třeba od dodavatele vyšetření vyžadovat.

## **4. Srovnání novosti postupů**

V posledních deseti letech nebyla předložena metodika, která by systematicky a jednoduše shrnula a popsala postup prohlídky, odběr vzorků a záznamy pro další vyhodnocení. Předložená metodika je obecně použitelným postupem pro správnou prohlídku a následné vyhodnocení situace při kontrolách a prohlídkách včelstev. Doplňující údaje jsou důležité pro vyhodnocení rizik, zdrojů infekce a dalších faktorů, které by mohly vést k propuknutí klinických stavů

nemocí.. Digitalizace a následná analýza záznamů z prohlídek v jednotlivých regionech ČR může být významným zdrojem informací k vyhodnocení stávající situace v chovu včelstev a k dalšímu upřesnění a postupu při tlumení nemocí včel.

## **5. Popis uplatnění Certifikované metodiky**

Metodika je určena pro prohlížitele včelstev (asistenty veterinárních inspektorů), úřední a praktické veterinární lékaře a samozřejmě i pro samotné včelaře v zájmovém i profesionálním provozu. Najde uplatnění i při výuce a školení včelařů dálkového učebního studia a během jednorázových včelařských kurzů zaměřených na zdraví a nemoci včel.

## **6. Ekonomické aspekty**

Správný postup při prohlídkách včelstev a odběr vzorků je klíčovým momentem pro včasné odhalení bakteriálních i dalších nemocí včel. Včasným odhalením nemocí se zabrání šíření nákaz mezi včelstvy i stanovišti včelstev a tím k ekonomickým škodám v důsledku tlumení nákaz nebo i likvidací jednotlivých včelstev. Zavedení postupů metodiky není spojeno s žádnými zvláštními materiálními náklady, ale potřebuje důslednou informovanost a šíření získaných poznatků. Přínosy mohou být vysoké. Cena jednoho včelstva včetně úlu se pohybuje v rozmezí 5 – 10 tisíc Kč. V případě finančních náhrad při likvidaci včelstev s nebezpečnými bakteriálními nemocemi (mor a hniloba včelího plodu) bylo v letech 2014 až 2017 chovatelům včel v ČR vyplaceno kolem 15 mil. korun ročně. Náklady na eradikaci jednoho ohniska jsou v řádech desítek až stovek tisíc korun. Každým včelstvem zachráněným před likvidací vzniká nemalý ekonomický efekt. Vedle ceny ušetřených materiálních náhrad se ušetří další náklady pracovní a cestovní.

## **7. Seznam použité související literatury**

Aronstein, K. A., Murray, K. D. (2010). Chalkbrood disease in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S20–S29.

Aubert, M., Ball, B., Fries, I., Moritz, R., Milani, N., Bernardinelli, I. (2008). *Virology and the honey bee*. European Commission, Directorate-General for Research, Brussels, 460 pp. URL: <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/c1c33689-ed8b-4c8f-bc42-c6b36317325d>

- Bailey, L., Ball, B. V. (1991). Honey bee pathology. 2<sup>nd</sup> edition. Academic Press, London, 193 pp.
- Budge, G. E., Barrett, B., Jones, B., Pietravalle, S., Marris, G., Chantawannakul, P., Thwaites, R., Hall, J., Cuthbertson, A. G. S., Brown, M. A. (2010). The occurrence of *Melissococcus plutonius* in healthy colonies of *Apis mellifera* and the efficacy of European foulbrood control measures. *Journal of Invertebrate Pathology*, 105(2), 164–170.
- de Miranda, J. R., Genersch, E. (2010). Deformed wing virus. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S48–S61.
- Dietemann, V., Ellis, J. D., Neumann, P. (2013). The COLOSS *BEEBOOK*, Volume I: Standard methods for *Apis mellifera* research. International Bee Research Association, Treforest.
- Dietemann, V., Ellis, J. D., Neumann, P. (2013). The COLOSS *BEEBOOK*, Volume II: Standard methods for *Apis mellifera* pest and pathogen research. International Bee Research Association, Treforest.
- Drobníková, V. (1983). Tlumení moru včelího plodu. Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství & Federální ministerstvo zemědělství a výživy, Praha, 29 pp.
- Forsgren, E. (2010). European foulbrood in honey bees. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S5–S9.
- Fries, I. (2010). *Nosema ceranae* in European honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S73–S79.
- Genersch, E. (2010). American foulbrood in honeybees and its causative agent, *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S10–S19.
- Gritsch, H. (2010) Silná včelstva po celý rok. Nakladatelství Brázda, Praha, 176 pp.
- Kamler, M., Tyl, J., Titěra, D. (2017) Očista včelstev přemetením na mezistěny s aplikací podpůrných imunostimulačních látek. Certifikovaná metodika, VÚVč Dol, 14 pp.
- Ribièere, M., Olivier, V., Blanchard, P. (2010). Chronic bee paralysis: a disease and a virus like no other? *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S120–S131.
- Rosenkranz, P., Aumeier, P., Ziegelmann, B. (2010). Biology and control of *Varroa destructor*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 103(Supplement 1), S96–S119.
- Sammataro, D., Avitabile, A. (1998). The beekeeper's handbook. 3<sup>rd</sup> edition. Comstock Publishing Associates, Ithaca, NY & London, 190 pp.

Svoboda, J. (1965). Zjišťování a tlumení nemocí včelího plodu. Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha, 14 pp.

Tautz, J. (2010). Fenomenální včely: biologie včelstva jako superorganizmu. 2<sup>nd</sup> edition in Czech. Nakladatelství Brázda, Praha, 286 pp.

## 8. Seznam publikací, které předcházely metodice

Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Hortova, B., Nesvorna, M., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J. (2017). Bacterial community associated with worker honeybees (*Apis mellifera*) affected by European foulbrood. PeerJ, 5, e3816. *(dedikace projektu MZe QJ1310085 Nové metody pro komplexní diagnostiku zdravotního stavu včelstev Apis mellifera pro prevenci chorob a zvýšení jejich fitness)*

Erban, T., Ledvinka, O., Kamler, M., Nesvorna, M., Hortova, B., Tyl, J., Titera, D., Markovic, M., Hubert, J. (2017). Honeybee (*Apis mellifera*)-associated bacterial community affected by American foulbrood: Detection of *Paenibacillus larvae* via microbiome analysis. Scientific reports, 7(1), 5084. *(dedikace projektu MZe QJ1310085 Nové metody pro komplexní diagnostiku zdravotního stavu včelstev Apis mellifera pro prevenci chorob a zvýšení jejich fitness - 90 %; a TA ČR Vývoj nástrojů a pomůcek pro včasnou detekci hniloby včelího plodu – 10 %)*

Hubert, J., Bicianova, M., Ledvinka, O., Kamler, M., Lester, P. J., Nesvorna, M., Kopecký, J., Erban, T. (2017). Changes in the Bacteriome of Honey Bees Associated with the Parasite *Varroa destructor*, and Pathogens *Nosema* and *Lotmaria passim*. Microbial ecology, 73(3), 685-698. *(dedikace projektu MZe QJ1310085 Nové metody pro komplexní diagnostiku zdravotního stavu včelstev Apis mellifera pro prevenci chorob a zvýšení jejich fitness)*

Kamler M., Tyl J., Nesvorná M., Hubert J., Merta J., Karešová B., Titěra D. (2016) Hniloba včelího plodu - znovuobjevená infekce včelstev v České republice. Veterinářství 66 (6): 435–438. *(dedikace projektu MZe QJ1310085 Nové metody pro komplexní diagnostiku zdravotního stavu včelstev Apis mellifera pro prevenci chorob a zvýšení jejich fitness)*

## 9. Přílohy



<b>Vlastní prohlídka včelstev</b>		<b>Čas</b>
<b>Úlový systém</b>	<b>Zdroj vody</b>	
<b>Matky (linie)</b>		
<b>Chování včel</b>		
<b>Stav včelstev</b>		
<b>Uhynulá včelstva</b>		
<b>Plod (otevřený, zavíčkovaný, vajíčka)</b>		
<b>Glycidové zásoby</b>		
<b>Pyl</b>		
<b>Obměna díla</b>		
<b>Dezinfekce</b>		
<b>Odběr vzorků</b>		
<b>Prohlídku provedl</b>		
<b>Podpis chovatele</b>	<b>Podpis prohlížeatele</b>	
<b>Jméno a podpis dalších účastníků prohlídky</b>		