

# Prvo cepivo za zaščito žuželk – priložnost za nova spoznanja o čebelji družini kot superorganizmu

V začetku letošnjega leta smo v številnih medijih lahko zasledili novico o prvem cepivu za čebele, ki je v ZDA dobilo pogojno dovoljenje za promet njihovega ministrstva za kmetijstvo. Cepivo je namenjeno zaščiti čebeljih družin pred hudo gnilobo čebelje zalege (HGČZ). Nas, ki se ukvarjamo s čebelami, takšna novica seveda ne pušča hladnih. Običajno vsaka novost prinaša navdušenje in hkrati pomisleke. V tem primeru imamo tako ugodno priložnost, da malce osvetlimo področje obrambnega sistema žuželk in razmislimo o možnostih, ki jih novo cepivo morda prinaša.

**dr. Lucija Žvokelj in dr. Metka Pislak Ocepek, Nacionalni veterinarski inštitut, Veterinarska fakulteta Univerze v Ljubljani (lucija.zvokelj@vf.uni-lj.si in metka.pislakocepek@vf.uni-lj.si)**

**Z**aradi vse večjega števila bakterijskih sevov z ugotovljeno rezistenco na odpornost proti protimikrobnim zdravilom (antibiotiki) in nevarnosti ostankov teh zdravil v hrani in krmi, v ZDA od leta 2017 uporabo antibiotikov za rejne živali lahko predpiše in izda le veterinar.

Pred tem so lahko rejci živali, tudi čebelarji, antibiotike kupili prosto v prodaji. Na tej celini imajo posledično zadnja leta veliko težav z izbruhi hude gnilobe čebelje zalege, hkrati pa še vedno veliko porabo antibiotikov v čebelarstvu, zato se intenzivno ukvarjajo z iskanjem rešitev za nastalo situacijo.

## Zakaj je cepivo za žuželke takšna novost?

Svet mikroorganizmov okrog nas je zelo pester in dinamičen. Vsi organizmi na Zemlji imamo zato bolj ali manj dobro razvit imunski sistem. Za imunski sistem vretenčarjev, kamor spadamo tudi sesalci, sta značilni prirojena in pridobljena odpornost. Preboleli še nekaj časa ohranjamo odpornost proti povzročiteljem bolezni, ki nas je doletela. Za nas je značilna izdelava specifičnih protiteles, kar omogoča uporabo cepiv proti različnim boleznim.

Taka protitelesa se lahko tudi z matere preko posteljice (sesalci) ali jajčnega rumenjaka (plazilci, ptiči, ribe, dvoživke) prenesejo na potomce. Žuželke, med njimi čebele, seveda ne spadajo med vretenčarje. Za čebeljo družino je zelo pomembna socialna odpornost (umiranje osebkov izven gnezda, propoliziranje, čistilni nagon, termoregulacija, delitev dela ...).

Tudi žuželke imajo razvito individualno odpornost, sestavni del katere so celice, kot so hemociti in

protimikrobni peptidi. Bistveno pa je, da imunski sistem žuželk ne ustvarja protiteles, zato vzvoda za cepivo zanje do nedavnega ni bilo.

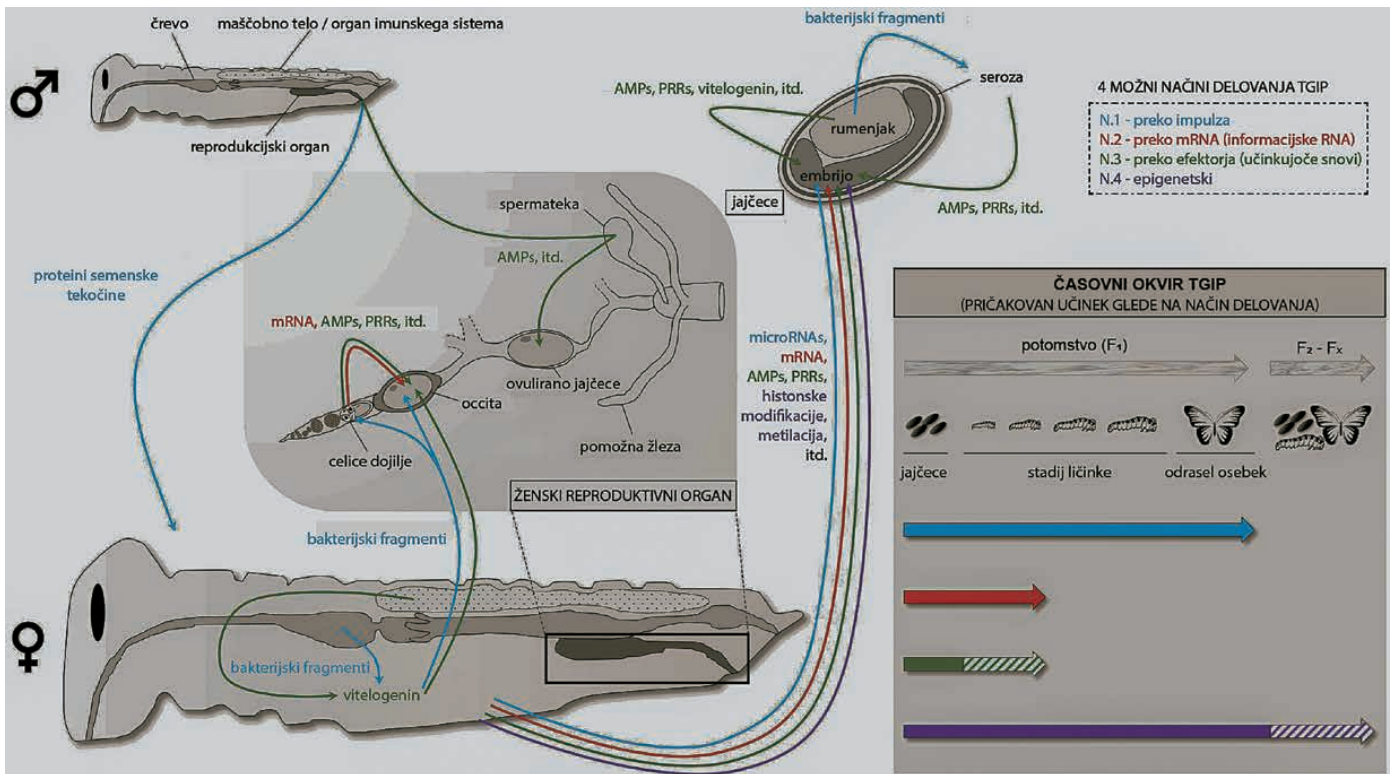
Ideja o cepivu izhaja iz pojava, poznanega pri nevretenčarjih, tako imenovanega trans-generacijskega prenosa odpornosti na potomce (ang. transgenerational immune priming TGIP), ki je bil prvič dokazan pri rakcih leta 1999.

Pri TGIP gre za mehanizem vplivanja staršev na odpornost potomcev. Starši lahko učinkujočo snov ali signal (po navadi so to molekule, ki so sestavine bakterijske celice) prenesejo na potomce, kar lahko stimulira ali pripravi imunski sistem potomcev na srečanje s povzročitelji bolezni, s katerimi so se predhodno že srečali starši.

V primeru medonosne čebele so ugotovili, da se lahko informacija o povzročitelju bolezni (npr. bakterija *Paenibacillus larvae*), s katerim se sreča matica, prenese do razvijajočih jajčec v ovarijih matice. Posledično naj bi na ta način nastala določena odpornost pri vseh njenih ličinkah.

## Še vedno skrivnostni svet čebel – ali kako mehanizem TGIP deluje?

Vendar TGIP trenutno še vedno vzbuja veliko vprašanj glede na mehanizem delovanja, na epidemiološko vlogo pri dinamiki bolezni, kot tudi njegovo evolucijo. V številnih poskusih dokazovanja njegovega obstoja pri nevretenčarjih raziskovalci namreč sploh niso bili uspešni. Obstaja več možnosti, kako naj bi TGIP pravzaprav deloval, največkrat so omenjene te štiri (slika 1):



Predstavitev štirih hipotetičnih mehanizmov odgovornih za TGIP pri nevretenčarjih. Vsak mehanizem je predstavljen s svojo barvo. Za odziv imunskega sistema pri matici, kot njenem potomstvu, prispevajo tudi proteini semenske tekočine trotoev. (Vir: Tetreau et al., 2019.)

### 1. Prenos signalov (delček bakterije), ki sprožijo TGIP

Starši pošljejo »signal« o prisotnem povzročitelju bolezni potomcem; prenese se na razvijajoča se jajčeca (npr. bakterijski peptidi naj bi se iz črevesja matice prenesli na jajčeca v ovarijih). Predvidevajo, da ima pri medonosni čebeli vitelogenin ključno vlogo pri prenosu »signala« iz črevesja do ovarijev.

### 2. Prenos mRNA(s)

Ženski osebki preskrbijo svoja jajčeca z mRNA (informacijsko RNA), ki kodira protimikrobne imunske efektorje (učinkujoče snovi). Prenos mRNAs z matere na jajčeca v razvoju je že bila potrjena pri številnih vrstah, tudi nekaterih insektih.

### 3. Prenos efektorjev (učinkujočih snovi)

Ženski osebki bi lahko neposredno prenesli imunske efektorske proteine do jajčec, pasivno preko hemolimfe matere ali preko celic dojilj, za katere vemo, da sintetizirajo proteine, ki se prenesejo do jajčnih celic.

### 4. Epigenetsko

Starši, izpostavljeni povzročiteljem bolezni, se v procesu epigenetike reprogramirajo

(acetilacija/deacetilacija histona in/ali metilacija/demetilacija imunskih genov). To preoblikovano epigenetsko stanje prenesejo na potomce.

## Način »cepljenja« čebelje družine in pričakovan učinek

Omenjeno novo cepivo vsebuje inaktivirano obliko povzročitelja hude gnilobe čebelje zalege (*Paenibacillus larvae*). Po navodilu proizvajalca se zameša v sladkorno pogačo, s katero se napolni prostor za hrano v transportni matičnici. Matico s spremljevalkami vstavimo v matičnico. Čebele spremljevalke s hrano zaužijejo cepivo in ga preko matičnega mlečka prenesejo matici. Matica shranjuje delčke cepiva v maščobnem telesu, od koder se »signal« prenese na jajčnike in nato razvijajoča se jajčeca. Matica se vstavi v panj, povečana odpornost proti bolezni pa naj bi se nadalje prenašala na njene ličinke.

Učinkovitost cepiva je bila preverjena zgolj v laboratorijskih pogojih, saj poskusno okuževanje čebeljih družin v naravi pri boleznih čebel, ki se zatirajo po zakonu, ne pride v poštev. Osemnajsti (18.) dan po dodajanju »cepljenih« matic v poskusne panje so bile čebelje ličinke v starosti 0 – 36 ur presajene na plošče za umetno vzrejo. Skupini ličink so s hrano dodali spore povzročitelja HGČZ, druga skupina je služila kot kontrola.

Hkrati so spremljali smrtnost ličink iz testne in kontrolne skupine. Ugotovljeno je bilo, da je v tem poskusu cepivo zmanjšalo smrtnost pri ličinkah za 30 – 50%. Podobna učinkovitost cepiva je bila tudi v ponovitvi poskusa, 37. dan po vstavljanju matic v panje. Omenjeno raziskavo so opravili na zelo majhnem vzorcu, drugih podatkov o učinku uporabe cepiva pa za zdaj ni.

## Kateri pomisleki o uporabi cepiva se pojavljajo?

Mehanizem TGIP pri žuželkah je, kljub številnim raziskavam, še precej v začetni fazi razumevanja. Znanstveno dokazan je bil le v nekaj primerih žuželk. Dokler bolje ne razumemo tovrstnega načina morebitnega prenosa odpornosti pri čebelah, se prenašane in ozkoglede poteze človeka lahko kmalu izkažejo kot napake. Posledice številnih preteklih napak pri poseganju v življenje čebel namreč zelo intenzivno okušamo danes. Vsekakor ni znano, kako se pridobljena odpornost na opisan način izraža s časom. Zanimivo, če ne nujno, bi bilo preveriti učinkovitost cepiva po treh, šestih in devetih mesecih. Prav tako pri mehanizmu TGIP ničesar še ne vemo o razlikah med spoloma in vplivu črevesnih bakterij (mikrobiote) na TGIP, čeprav je znano, da imajo črevesni mikroorganizmi ključno vlogo pri odpornosti čebel.

Še največji pomislek pa predstavljajo posledice TGIP na razvoj virulence (stopnja, do katere okužba prizadene preživetje in reprodukcijo gostitelja) povzročiteljev bolezni (patogenov). Znano je, da nepopolna cepiva (kot je v tem primeru novo cepivo) pripomorejo k razvoju bolj virulentnih patogenov. Če mehanizem cepljenja namreč ne vzpostavi učinkovite odpornosti, s tem samo podaljšuje čas patogenu, da se uspešneje razmnoži in ima daljše obdobje za prenos na druge gostitelje. Zelo pomembno je, da z dodatnimi študijami TGIP bolje razumemo njegovo vlogo v evoluciji virulence patogenov.


## Kakšne so sodobne možnosti za učinkovito preprečevanje hude gnilobe čebelje zalege pri nas?

Z dobrim poznavanjem narave bolezni in preventivnim ukrepanjem smo v primeru HGČŽ že na pol poti do rešitve težave. Še vedno velja in tudi bo, da je za preprečevanje bolezni zalege v čebelji družini ključno intenzivno menjavanje satja. Poleg starega satja za pojav bolezni veliko tveganje predstavljata gostota čebeljih družin (ropi) in transport družin. V Sloveniji smo začeli tudi uvajati preventivni pristop preprečevanja razvoja klinične oblike bolezni, za kar imamo v zadnjih



Foto: Lenka Jerele

Pester cvetni prah je nenadomestljiv prehranski vir za vzpostavljanje dobrega obrambnega sistema osebkov čebelje družine.

letih zagotovljeno tudi naj sodobnejšo laboratorijsko diagnostiko. Čebelar tako lahko preveri, kakšno je tveganje za pojav bolezni v njegovem čebelarstvu in s tehnološkimi ukrepi uspešno preprečuje pojav klinične oblike bolezni. Ključni za močan imunski sistem naših čebel pa so kakovostni pašni viri, predvsem raznolik in za čebele dobro izkoristljiv cvetni prah. Le ta predstavlja vir za sintezo beljakovin, ki so temelj pri vzpostavitvi in vzdrževanju obrambnega sistema organizmov. 

Viri:

- Tetreau, G., Dhinaut, J., Gourbal, B., & Moret, Y. (2019): *Trans-generational immune priming in invertebrates: current knowledge and future prospects*. *Frontiers in Immunology*, 10, 1938.
- Dickel, F., Bos, N. M. P., Hughes, H., Martín-Hernández, R., Higes, M., Kleiser, A., & Freitak, D. (2022): *The oral vaccination with *Paenibacillus larvae* bacterin can decrease susceptibility to American Foulbrood infection in honey bees—A safety and efficacy study*. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1494.
- Harwood, C., Salmela, H., Freitak, D., & Amdam, G. (2021): *Social immunity in honey bees: royal jelly as a vehicle in transferring bacterial pathogen fragments between nestmates*. *Journal of Experimental Biology*, 224(7), jeb231076.