

## Transmission horizontale de spores de *Paenibacillus larvae* entre colonies d'abeilles *Apis mellifera* par le pillage

par **Anders LINDSTRÖM**<sup>1</sup>, **Seppo KORPELA**<sup>2</sup>, **Ingemar FRIES**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Ecology, Box 7044,  
750 07, Uppsala, Sweden

<sup>2</sup> MTT Agrifood Research Finland, 31600 Jokioinen, Finland

*Apidologie* 39 (2008) 515–522

Traduction libre et commentaires de Jérôme Vandame et Yves Layec

### Résumé

De façon assez étonnante, on connaît peu de chose sur la vitesse de transmission entre colonies d'abeilles du bacille *Paenibacillus larvae* (*P*) responsable de la loque américaine (LA). Nous avons étudié ici le degré de transmission « horizontale » de spores de *P* entre colonies d'abeilles en fonction de la distance entre les colonies. Pour cela, nous avons fait des cultures de spores à partir de prélèvements successifs d'abeilles adultes.

- Les résultats démontrent un effet direct de la distance aux colonies cliniquement malades sur la probabilité de contracter une quantité élevée de spores aussi bien que sur celle de développer des symptômes visibles de la maladie.
- Les résultats montrent aussi qu'une colonie peut présenter de grandes quantités de spores par abeille adulte sans présenter de signes cliniques de la loque américaine.
- Enfin les données suggèrent que la transmission de la maladie entre ruchers a lieu à des distances de l'ordre du kilomètre ou moins et que la contagion est significativement plus faible pour des distances de l'ordre de 2 km ou plus quand des colonies mortes de LA sont laissées à la merci de pillage.

La loque américaine (LA) est une maladie bactérienne commune des abeilles (*Apis mellifera* L.) causée par *Paenibacillus larvae* (*P*) (6). On la retrouve sur tous les continents où l'apiculture est pratiquée (3). La bactérie produit des spores très résistantes que la transmis-

sion ait lieu dans la ruche ou entre les ruches. Lorsque des symptômes cliniques de la maladie apparaissent dans les colonies infectées, en l'absence de traitement, celles-ci succomberont très probablement à cette maladie (10).

[...]

**Tab. 1 : Modes de transmission de *Paenibacillus larvae* à l'intérieur de la colonie et entre colonies.**

	Horizontal	Vertical
<b>à l'intérieur de la colonie</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• de l'ouvrière au couvain, à l'ouvrière ou au mâle</li> <li>• du mâle à l'ouvrière ou au mâle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• de la reine à la fille (ouvrière)</li> <li>• de la reine à la fille (reine)</li> <li>• de la reine au fils (mâle)</li> </ul>
<b>entre colonies</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• de l'ouvrière à l'ouvrière ou au mâle</li> <li>• du mâle à l'ouvrière ou au mâle (dérive, pillage)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• essaimage</li> </ul>

Récemment, il a été démontré que la transmission verticale [tableau 1 tiré de l'article de Fries (2001) et traduit en français] des spores de loque américaine entre des colonies infectées a lieu lors de l'essaimage. Cependant suite à une telle transmission de spores par essaimage, il est rare d'avoir des colonies filles cliniquement malades (5).

NdT: dans l'article (5) cité, il est question d'essaimage naturel, sans transfert de cadres évidemment, d'où un assainissement des abeilles réduites naturellement à l'état d'essaim nu].

La transmission horizontale des spores entre colonies a déjà été démontrée (8, 9, 13) mais l'importance de la distance à la source d'infection n'a jamais été étudiée. De plus, la proximité des cas avérés de loque américaine semble accroître la probabilité de détection de spores dans le miel des ruchers voisins (1).

Le pillage est généralement considéré comme un facteur d'importance majeure dans la transmission de la loque américaine (12, 19, 20, 10, 4, 1). Cependant aucune étude n'a été réalisée sur le taux de transmission des spores de *P. larvae* entre colonies durant le pillage, pas plus que sur l'importance de la distance entre les colonies pilleuses et les colonies pillées, cliniquement infectées.

Le comportement de pillage est un phénomène qui a lieu fréquemment lorsque le nectar est rare, principalement à la fin de la période de floraison, mais aussi au printemps (22). Pendant le pillage, les abeilles attaquent les colonies les plus faibles et tentent de piller leur stock de miel. Si les colonies sont affaiblies, par exemple en raison d'une maladie, les pathogènes présents peuvent être transmis aux colonies pillardes par le biais du miel contaminé. Le bacille *Pl* semble être bien adapté à ce type de transmission horizontale (4),

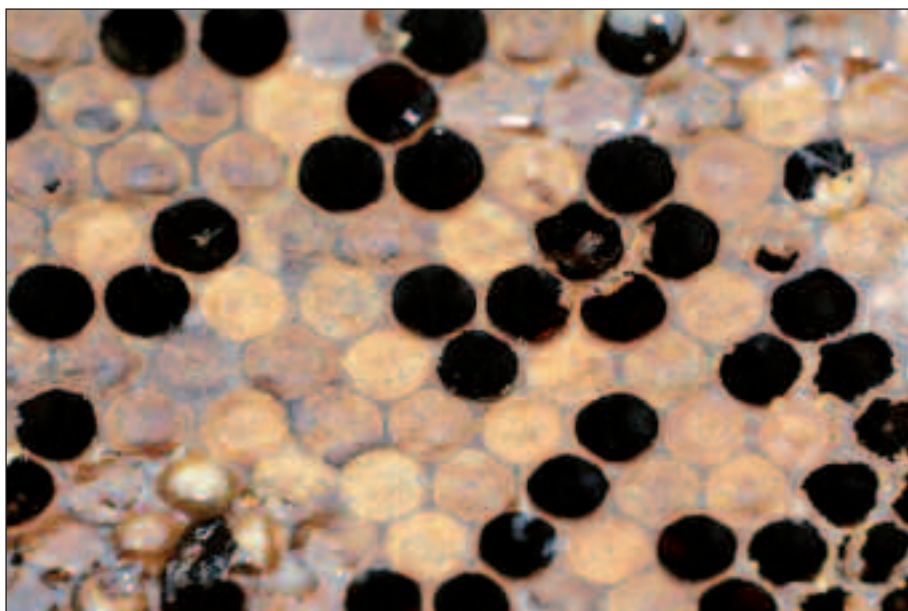
où les spores résistantes contaminent le miel des colonies infectées (11). Lorsque les abeilles pillardes rapportent et stockent du miel contaminé, les spores seront redistribuées dans la colonie lorsque le miel est utilisé. Si un nombre suffisant de spores est disséminé, il est possible que des larves soient infectées. De plus, les abeilles pillant des colonies infectées sont probablement très contaminées par des spores de *P. larvae*, bien que ce phénomène ne soit pas bien documenté.



#### **Larve filante.**

En conditions réelles, la détection de la loque américaine est basée sur l'apparence du couvain malade dont les larves présentent une consistance typique (larve filante). Lorsque la larve morte se dessèche, des écailles durcies se forment et adhèrent fermement à la paroi de la cellule. Une seule larve morte peut contenir jusqu'à 2,5 mil-

liards de spores (21, 16). Dans des colonies ne présentant pas de symptôme clinique de la maladie, des spores du pathogène peuvent être détectées dans des échantillons d'abeilles adultes (13, 18). Ainsi, les charges de spores sur les abeilles adultes permettent la quantification de la transmission de pathogènes entre colonies (5).



Écaille loqueuse.

Ici sont utilisés des échantillons d'abeilles adultes pour déterminer le taux de transmission horizontale de spores de *P. larvae* et les symptômes cliniques des colonies, comme une fonction de leur distance physique aux colonies cliniquement atteintes de loque américaine.

## Matériel et méthode

### Dispositif expérimental

L'expérimentation a été réalisée dans le Centre-Ouest de la Finlande à la fin du mois de juillet de la première année expérimentale. **Trois colonies très infectées** par la loque américaine (> 500 colonies bactériennes pour 100 abeilles adultes et plus de 500 larves

malades par colonie) ont été placées dans un rucher avec **3 autres colonies**.

**Quatre autres ruchers** contenant respectivement 4, 2, 2 et 3 colonies (soit un total de 11 colonies) ont été installés à 1/2, 1, 2 et 3 km de distance du rucher infecté par la loque américaine.

Donc 14 colonies ont été utilisées en plus des 3 colonies atteintes de loque américaine. Sept colonies n'étaient pas complètement dépourvues de spores de *P. larvae* à l'origine de l'expérimentation, mais présentaient des quantités de spores très basses (0,3 – 3,7 colonies bactériennes pour 100 abeilles). Les colonies contaminées ne présentaient pas de signes cliniques de la loque américaine avant l'expérimentation.

Les colonies à 2 et 3 km n'ont pas présenté de symptômes de maladie pendant l'expérimentation. Les colonies contaminées ont été distribuées aléatoirement dans les ruchers expérimentaux. Il n'y avait pas d'autres colonies identifiées dans un rayon de 5 km des ruchers expérimentaux.

### Évolution des colonies

Dans les colonies initialement contaminées par la loque américaine dans le rucher du km 0, une partie des hausses fut pillée au cours de l'automne de la première année expérimentale ; ces mê-

mes colonies sont mortes pendant le premier hiver. Au printemps de la seconde année d'expérimentation, les autres compartiments à miel des colonies mortes furent pillés, après quoi, ces colonies ont été retirées du rucher. À la fin de ce même été, **trois nouvelles colonies très infectées** ont été apportées dans le même rucher. Les compartiments à miel de ces trois nouvelles colonies ont été partiellement pillés pendant l'automne et les colonies sont mortes pendant l'hiver. Les autres compartiments à miel des colonies mortes furent pillés pendant le printemps de la troisième année d'expéri-

**Tab. 2 : Distribution des colonies dans les 5 ruchers, survie des colonies et incidence de la maladie.** Les colonies notées avec les lettres A à F sont les colonies cibles et celles notées de 1 à 14 sont les colonies expérimentales. La note (a) dénote une colonie où les symptômes cliniques ont été découverts et (b) signifie que la colonie est morte ou a été retirée avec des symptômes de loque américaine sévères.

	Année 1	Année 2	Année 3	Année 4
Cible 0 km	A (a)	A (a)	D (a)	D (b)
	B (a)	B (b)	E (a)	E (b)
	C (a)	c5b)	F (a)	F (b)
Exp col à 0 km	1	1 (a, b)		
	2	2 (a, b)		
	3	3 (a, b)		
0,5 km	4	4	4 (a, b)	
	5	5	5 (a)	5 (b)
	6	6	6	6
	7	7	7(a)	7 (b)
1 km	8	8	8	8 (a, b)
	9	9	9 (a, b)	
2 km	10	10	10	10
	11	11	11	11
3 km	12	12	12	12
	13	13	13	13
	14	14	14	14

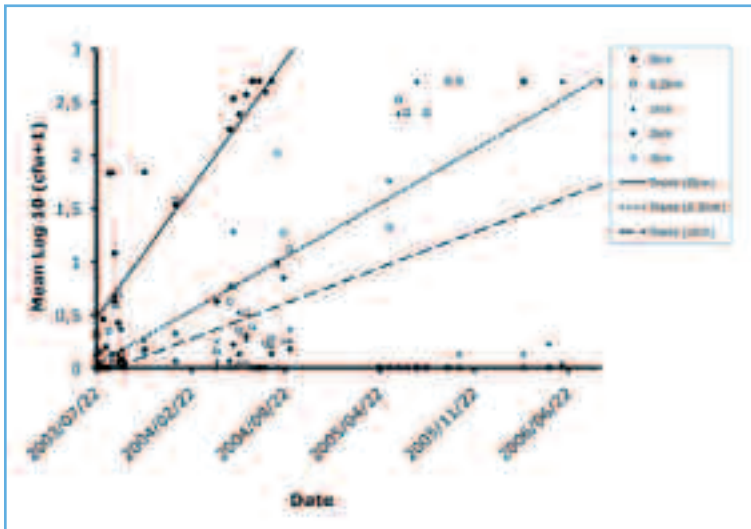


Fig. 1: Charges en spores dans les différents ruchers. Pour les ruchers des km 0, 0,5 et 1, une ligne de tendance a été incluse.

mentation. Une vue schématique du développement des symptômes cliniques et des colonies survivantes est présentée dans le tableau 2.

### Échantillons abeilles et cultures des spores

Les échantillons, composés de plus de 100 abeilles adultes, ont été prélevés sur le couvain, placés dans un sac plastique et immédiatement congelés.

Les prélèvements ont été réalisés sur toutes les colonies, une fois par semaine au cours de la première saison entre juillet et novembre puis une fois par mois la saison suivante entre avril et octobre.

Toutes les colonies ont été examinées pour rechercher les éventuels symptômes cliniques de maladie à

chaque fois que les échantillons ont été prélevés.

Les échantillons ont été mis en culture selon le protocole de Lindström et Fries (2005). Cent abeilles ont été comptées, décongelées puis insérées dans un sac plastique Neogen™ pour l'extraction d'ADN. Dans ce sac, 20 ml d'eau stérile ont été ajoutés et les abeilles ont été écrasées. La solution a été centrifugée (...) (15 050 tours par mn / 27 000 G, 10 mn). Le surnageant a été prélevé et le reste a été à nouveau mélangé avec 2 ml d'eau stérile. La suspension chauffée au bain-marie a été mise en culture sur un support (Grant™ GLS 400) pendant 10 minutes à 91 °C pour réduire la contamination par d'autres bactéries. La suspension a été mise en culture sur un support MYPGP agar avec 3 microgrammes d'acide nalidixique.

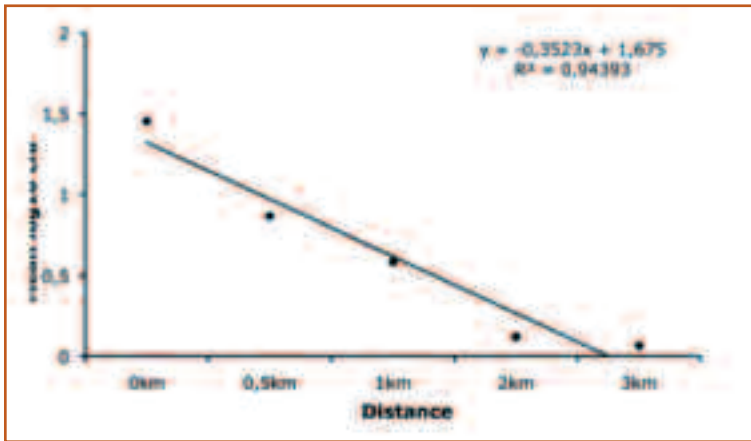


Fig. 2 : Charges en spores de tous les échantillons de chaque rucher pendant les trois années d'expérimentation.

xique par ml. Les cultures ont été incubées pendant 7 jours à 36 °C avec 5 % CO<sub>2</sub>. Les colonies bactériennes ont été comptées manuellement<sup>1</sup>.

### Traitement statistique

Le traitement statistique a consisté en une comparaison de moyennes (...).

### Résultats

L'impact des facteurs "temps", "rucher", "temps\*rucher" sur le développement des charges en spores dans les ruchers a été étudié. Les résultats obtenus pour le facteur "temps\*rucher" montrent que la forme des courbes présentées dans la figure 1 diffère significativement. La charge ini-

tielle en spores des ruchers a également été testée mais n'a pas présenté d'effet significatif sur le développement des charges en spores dans des échantillons.

Les données montrent que les colonies dans les ruchers à plus d'un km de distance participent au pillage<sup>2</sup> (1) (fig. 1, tab. 2).

Un test du plus petit carré des moyennes a été réalisé pour mettre en évidence les différences de quantité de spores entre les différents ruchers.

La moyenne de la charge en spores de tous les échantillons d'un rucher pour la durée de la période expérimentale a été calculée et indiquée dans la fig. 2.

1 – NdT: Les conditions déployées pour la mise en culture démontrent l'extrême résistance des spores de *P. larvae*, puisque pour les « sélectionner » par rapport à d'autres contaminants bactériens, elles ont été chauffées à 91 °C et mises en présence d'une substance à action antibiotique: l'acide nalidixique. Résistance à la chaleur à retenir dans les applications pratiques de désinfection.

2 – NdT: Ce fait démontre bien l'aspect « social » ou « collectif » du sanitaire apicole. Et les textes qui prévoient une zone de séquestration autour des foyers infectés cliniquement sont ici justifiés.

## Discussions

Les résultats démontrent clairement que :

- le pillage est un moyen important de transmission des spores de *P. larvae* entre colonies d'abeilles sur de courtes distances ;
- la quantité de spores transmises, suffisante pour produire la maladie clinique, est directement corréée à la distance des colonies malades ou mortes de loque américaine. Trois des 4 colonies distantes de 0,5 km et les 2 colonies situées à 1 km ont développé des symptômes cliniques et sont mortes ou ont été enlevées car présentant des symptômes cliniques de maladie (tab. 2).

Ces données confirment les études précédentes dans lesquelles le pillage est décrit comme un des plus fréquents et des plus importants moyens de transmission de spores de *Pl* en apiculture (1, 4, 8, 10, 12, 19, 20). Les résultats présentés ici quantifient également l'importance des distances aux colonies malades pour une transmission effective, avec la transmission la plus forte se faisant à des distances inférieures à 1 km de la source de spores.

Sept des 14 colonies en observation présentaient un niveau de spores légèrement élevé avant le début de l'expérience. Ces colonies étaient placées au hasard sur les 4 ruchers. Les colonies situées à 2 et 3 km n'ont jamais

développé de signes cliniques. De plus nos analyses n'ont pas montré de relation significative entre la charge initiale de spores et le développement des charges en spores au cours de l'expérience. Il semble donc hautement probable (fig. 1) que les résultats de cette étude étaient dus à la dissémination des spores par le pillage ; il semble également hautement improbable qu'ils soient dus aux légères charges initiales.

En comparaison avec l'impact du pillage dans le rucher source et dans ceux situés à 0,5 et 1 km, il est surprenant de constater que les colonies éloignées de 2 et 3 km montrent des niveaux de spores légèrement élevés dans quelques ruches sans avoir développé de signes cliniques. On ne peut pas déterminer si ces niveaux de spores proviennent d'une participation irrégulière de ces colonies au pillage ou si ceci est dû à des niveaux d'infections bas sans manifester de signes cliniques lors des visites. Il a été montré précédemment que certaines colonies sont capables de maintenir des bas niveaux d'infestations pendant plusieurs années sans développer de signes cliniques (5, 11).

Il a été démontré précédemment que le risque de trouver un niveau élevé de spores dans le miel était trois fois plus élevé dans des ruchers proches de ruchers présentant des signes cliniques que dans d'autres situations géographiques (1). [...] La présente étude donne clairement les mêmes résultats que ceux d'une étude précédente de De Graff *et al.* mais définit également de façon plus précise l'effet de la distance.

Le temps a un effet sur le développement global des charges en spores dans les ruchers. Il y a aussi une interaction entre le temps et les ruchers, les charges en spores évoluant différemment en fonction du temps dans les différents ruchers. L'interprétation logique de ce résultat est que les charges en spores des abeilles adultes ne sont pas seulement liées au pillage. Le miel emmagasiné fonctionne comme un réservoir relarguant les spores dans la colonie au fur et à mesure qu'il est utilisé. Lindström a déjà noté l'importance du miel comme réservoir à spores de *Pl* à l'intérieur de la colonie (16). En ajoutant du matériel infectieux aux colonies de l'expérience à l'aide de miel contaminé et de larves mortes, on démontre que la charge en spores du miel contaminé a un effet retardé sur la présence de spores sur les abeilles adultes et que le nombre de ces spores sur les abeilles adultes croît durant les périodes où il n'y a pas de nectar. En climat tempéré, ceci peut conduire à de fortes charges en spores au cours du printemps en période d'élevage du couvain et ainsi augmente probablement le risque d'infection dans cette période puisqu'il y a beaucoup de spores disponibles et seulement peu de larves.

Outre le pillage, la transmission horizontale de spores (de colonie à colonie) de spores peut être causée par la dérive entre colonies étrangères ou par transmission mécanique lors de ses opérations d'échange de cadres ou de parties de ruches entre colonies faites par l'apiculteur. Dans notre expérience, la transmission due à l'apiculteur a été

réduite au minimum: pas d'échange de matériel entre colonie d'un même rucher ou de ruchers différents. La dérive est probablement de moindre importance pour la transmission d'un nombre de spores de *Pl* entre colonies suffisant pour provoquer des signes cliniques même à l'intérieur d'un même rucher. Par exemple en composant des groupes de colonies (saines et malades) par paires, soit 25 paires de 1 colonie saine + 1 colonie malade, dont les entrées se touchent et ont la même orientation, Goodwin (1994) n'a pas réussi à provoquer plus de 10 % d'infection par simple dérive et ce sur une période de 103 jours (9). Même le retrait des colonies malades pendant la journée, en laissant les butineuses dériver dans les colonies voisines, n'a pas accru significativement le risque de futures épidémies dans les colonies restantes, en comparaison d'un retrait des colonies au cours de la nuit, lorsque l'ensemble des butineuses sont dans les ruches (7). Ainsi dans le cadre de cette étude, il est hautement improbable que la dérive fut une cause de transmission entre ruchers. L'accroissement des charges en spores et le développement de la maladie qui en a résulté sont bien dus au comportement de pillage des abeilles.

Il y a une différence fondamentale dans la distribution spatiale, à l'échelle locale, des colonies entre un système de colonies naturelles et un rucher d'apiculteur. En rucher les densités locales de colonies peuvent être extrêmement élevées comparées aux colonies sauvages, même si les densités au km<sup>2</sup> peuvent être comparables. Par exemple, un rucher de 10 ruches sur 20 m<sup>2</sup>

correspond à une densité de 50 000 colonies au km<sup>2</sup>. Dans un système naturel, les colonies individuelles sont dispersées et la distance entre colonies est beaucoup plus grande qu'en apiculture où la forte densité de colonies est la règle. Ces hautes densités locales de colonies donnent des possibilités de transmissions de maladies par pillage fondamentalement différentes comparé aux systèmes naturels. Dans ces derniers, l'impact de la transmission de spores par pillage est probablement plus bas à cause d'une distance moyenne entre colonies plus grande. En apiculture, l'impact est probablement considérablement plus grand puisque les colonies sont regroupées et que le risque de transmission par pillage croît lorsque les distances diminuent. À cause de cette augmentation de la transmission horizontale de la maladie en apiculture comparé aux systèmes naturels, il est probable que le niveau plus élevé de virulence du pathogène évoluera, bien que ceci n'ait pas été relevé et sera difficile à mesurer (2). Il a été démontré récemment que différentes souches de *P. larvae* diffèrent en virulence du moins au niveau de l'infection individuelle des larves, ce qui suggère que *P. larvae* peut utiliser différentes stratégies pour s'adapter à la pression de sélection (6).

Nous avons montré ici l'importance de la densité des colonies dans la transmission de la loque américaine entre colonies d'abeilles par le pillage. Des études supplémentaires devraient être menées pour rechercher si les densités locales très élevées courantes en apiculture sélectionnent également des pathogènes plus virulents à cause des vitesses accrues de transmission horizontale comparé aux systèmes naturels.

## Nos commentaires

Les résultats de cette étude renforcent un certain nombre d'idées que les apiculteurs ont quant à la loque américaine et insiste sur l'importance de certaines pratiques. En particulier les auteurs insistent sur ce qu'on savait déjà c'est-à-dire **l'importance du pillage dans la propagation de la loque américaine**. Il est prouvé que **la contamination est particulièrement importante à une distance de l'ordre de 1 km ou moins**, même si des abeilles distantes de 2 à 3 km participent également au pillage. Cette étude confirme **la pertinence des distances des zones de séquestration et d'observation des APDI en cas de MRC**.

D'autres points peuvent être relevés :

- ❖ L'apiculture crée une configuration particulière, en concentrant les colonies d'abeilles dans les emplacements de ruchers. D'où dérive et parfois pillage latent.

- ❖ La dérive entre colonies ne serait cependant pas très importante en termes de contamination. Le transvasement d'une ruche infectée peut donc s'effectuer dans le rucher même. La dérive occasionnée lors de ce transvasement n'entraînerait qu'une dissémination faible comparée au pillage. Cependant une étude néozélandaise (23) a montré que dans le cas d'une ruche bien atteinte de LA, il valait mieux être prudent par rapport au risque lié à la dérive, alors que pour une colonie atteinte seulement sur quelques cellules le ris-

## Lu dans la Revue Suisse d'Apiculture, n° 8 - Août 2010

MISE EN GARDE par Jean-Daniel Charrière

du Centre de Recherches Apicoles, Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, 3003 Berne, Suisse

Ayant besoin de colonies pour des expérimentations, le Centre de Recherches Apicoles de Liebefeld-Posieux en Suisse a acheté des essaims sur cadres dans un pays voisin. Malgré un certificat sanitaire établi au lieu de départ, certaines colonies se sont avérées infectées par des bactéries de loque américaine ou européenne, voire malades. Toutes les colonies porteuses de l'agent pathogène, qu'elles présentent des symptômes ou non, ont rapidement été éliminées.

**En conclusion: Que ce soit pour augmenter son cheptel ou pour remonter son exploitation après des pertes hivernales importantes, l'importation de colonies ou de paquets d'abeilles peut sembler une option. Cet exemple montre cependant que le recours à l'importation d'abeilles représente un risque réel et cela malgré l'établissement de certificat sanitaire attestant de la bonne santé des abeilles. La production sur le rucher par chaque apiculteur de colonies de réserve en nombre suffisant et l'échange de colonies au niveau local [...] sont de loin préférables à l'importation de colonies.**

que était inexistant ou presque. Il y a malgré tout lieu d'être vigilant lors des transvasements: ... la perturbation causée à la colonie lors du transvasement pouvant amener beaucoup d'abeilles contaminées à rentrer dans la ou les ruches voisines. Surtout si, en prime, la reine est perdue au cours de la manipulation.

❖ N'oublions pas qu'à côté du pillage massif lorsque la colonie pillée risque d'être totalement anéantie par les pillardes, il existe un pillage « latent », tout en douceur si l'on peut dire où les abeilles pillardes viennent piller la colonie affaiblie pendant une période relativement longue avant que celle-ci ne s'effondre complètement. Il y a donc lieu d'apporter tous les soins nécessaires dès la détection des signes cliniques. Pour cela des visites régulières du nid à couvain sont nécessaires.

❖ Éviter de conserver dans un rucher des colonies faibles, orphelines ou malades. Elles finiront par se faire piller et s'il y a présence de LA, celle-ci infectera les colonies voisines.

❖ Attention au nourrissage au miel. Connaît-on bien l'état sanitaire de la ruche ou du rucher à l'origine d'un miel? Le miel de colonies atteintes de la loque américaine est infectant au même titre que le miel pillé.

❖ Après un transvasement ne pas oublier de détruire les cadres de couvain (chose évidente!) mais aussi les cadres contenant du miel. Ce miel ne doit en aucun cas être redonné aux abeilles. Il est possible éventuellement de lui trouver d'autres utilisations: cuisine, hydromel...

❖ Toujours à propos des transvasements... dans cette étude, ce sont les spores portées par les abeilles qui permettent d'évaluer les taux d'infection. Donc dans une colonie infectée ou malade les abeilles adultes sont porteuses d'un grand nombre de spores. D'où l'intérêt d'un « jeûne sanitaire » qui permet aux abeilles de se décontaminer: certains comportements comme le nettoyage et certaines particularités physiques comme le fonctionnement du

proventricule permettent une décontamination de la colonie maintenue en essaim pendant ce « jeûne ».

❖ L'usage des antibiotiques n'est pas conseillé. Ils n'ont pas d'action sur les spores et le miel qui en contient reste contagieux à l'intérieur de la ruche et par pillage.

❖ Il est intéressant de noter l'action du miel et l'effet « retard » occasionné. On peut ainsi comprendre que certaines colonies vont présenter des signes cliniques de la maladie au moment de leur développement au printemps alors qu'elles auront pillé ce miel dans des colonies malades mortes ou affaiblies à l'automne précédent.

En conclusion, cette étude atteste, s'il en était besoin, que la lutte contre la loque américaine est une lutte collective impliquant la participation de chacun et de tous les apiculteurs ; l'action des OSAD (GDSA et ASAD) et des actuels Agents Sanitaires Apicoles (ASA) est importante en termes de dépistage et d'aide au contrôle des maladies contagieuses des abeilles, ainsi qu'en termes de formation et d'information des apiculteurs.

## Références

- 1 De Graaf D. C., Vandekerchove D., Dobbelaere W., Peeters J. E., Jacobs F. J. (2001) Influence of the proximity of American foulbrood cases and apicultural management on the prevalence of *Paenibacillus larvae* spores in Belgian honey – Apidologie 32, 587–599.
- 2 Dieckmann U., Metz J. A. J., Sabelis M. W., Sigmund K. (Eds.) (2002) Adaptive Dynamics of Infectious Disease: In Pursuit of Virulence Management. Cambridge, UK, Cambridge University Press.
- 3 Ellis J. D., Munn P.A. (2005) The worldwide health status of honey bees. Bee World 86, 88–101.
- 4 Fries I., Camazine S. (2001) Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. Apidologie 32, 199–214.
- 5 Fries I., Lindström A., Korpela S. (2006) Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honey bees (*Apis mellifera*). Vet. Microbiol. 114, 269–274.
- 6 Genersch E., Ashiralieva A., Fries I. (2005) Strain and genotype-specific differences in virulence of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*, a bacterial pathogen causing American foulbrood disease in honey bees Appl. Environ. Microbiol. 71, 7551–7555.
- 7 Goodwin M., Haine H. (1995) American foulbrood infections or food for thought. N. Z. Beekeep. 2, 9.
- 8 Goodwin R. M., Perry J. H., Brown P. (1993) American foulbrood disease part III: spread. N. Z. Beekeep. 219, 7–10.
- 9 Goodwin R. M., Perry J. H., Ten-Houten A. (1994) The effect of drifting honey bees on the spread of American foulbrood infections. J. Apic. Res. 33, 209–212.
- 10 Hansen H., Brødsgaard C. J. (1999) American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. Bee World 80, 5–23.
- 11 Hansen H., Rasmussen B. (1986) The investigation of honey from bee colonies for *Bacillus larvae*. Dan. J. Plant Soil Sci. 90, 81–86.
- 12 Hansen H., Rasmussen B., Christensen F. (1988) Infection experiments with *Bacillus larvae*, XXXII Int. Apic. Congr. Apimondia, Rio de Janeiro, Apimondia Publishing House.
- 13 Hornitzky M. A. Z. (1988) The detection of *Bacillus larvae* (American foulbrood) in adult honey bees, Australas. Beekeep. 90, 11–12.
- 14 Lindström A. et al. Hornitzky M. A. Z. (1998) The spread of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* infections in an apiary. J. Apic. Res. 37, 261–265.
- 15 Lindström A., Fries I. (2005) Sampling of adult bees for detection of American foulbrood (*Paenibacillus larvae* subsp. *larvae*) spores in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. J. Apic. Res. 44, 82–86.
- 16 Lindström A., Korpela S., Fries I. (2008) The distribution of *Paenibacillus larvae* spores in adult bees and honey and larval mortality, following the addition of American foulbrood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. J. Invertebr. Pathol., DOI: 10.1016/j.jip.2008.06.010.
- 17 Lipsitch M., Siller S., Nowak M. A. (1996) The evolution of virulence in pathogens with vertical and horizontal transmission. Evolution 50, 1729–1741.
- 18 Nordström S., Forsgren E., Fries I. (2002) Comparative diagnosis of American foulbrood using samples of adult honey bees and honey. J. Apic. Sci. 46, 5–12.
- 19 Ratnieks F. L. W. (1992) American Foulbrood: the spread and control of an important disease of the honey bee. Bee World 73, 177–191.
- 20 Shimanuki H. (1997) Bacteria. In: Honey Bee Pests, Predators, and Diseases, in: Morse R. A., Flottum K. (Eds.), Medina, Ohio, USA, A. I. Root Company, pp. 35–54.
- 21 Sturtevant A. P. (1932) Relation of commercial honey to the spread of American foulbrood. J. Agric. Res. 45, 257–285.
- 22 Winston M. (1987) The Biology of the Honey Bee. Cambridge, Massachusetts, Harvard University Press.
- 23 Goodwin, M., van Eaton, C. (1999) Elimination of American foulbrood without the use of drugs: a practical manual for beekeepers. ■