

CEPA DE *BACILLUS ALVEI* CON CAPACIDAD REDUCTORA SOBRE LOS NITRATOS.

(A STRAIN OF *BACILLUS ALVEI* WITH REDUCER CAPACITY ON NITRATES).

por

J. ESPEJO SERRANO, S. MIRANDA ENTRENAS, F. CUELLO GIJON
y A. GARRIDO CONTRERAS*

1. Introducción.

Las loques de las abejas o podredumbre de la cría, son las epizootías que han causado los daños más graves en la apicultura de todos los tiempos, por cuya razón tienen la consideración en la mayoría de los países, de enfermedades de declaración obligatoria, para las que se tienen previstos planes de lucha oficialmente controlados.

Según su naturaleza se distinguen dos tipos de loques: loques americana o maligna y loques europea o benigna.

Así como en el caso de la primera hay uniformidad de criterios en cuanto a considerar como agente causal al *B. larvae*, no ocurre lo mismo en lo que respecta a la loque benigna. En relación a esta última, ya White, en 1912, describió como agentes causales al *Streptococcus pluton* (*B. pluton* o *Diplococcus pluton*), al *Bacterium eurydices* (*Acromobacter eurydices*) y al *B. alvei*. Para dicho autor el verdadero agente etiológico es el *B. pluton*, considerando al *B. alvei* como germen secundario que se desarrolla en las larvas muertas.

Sin embargo, para Lochhead (1928) el *B. pluton* no representaría más que un estadio intermedio en el proceso evolutivo del *B. alvei*. Esta opinión la compartieron también Burnside (1934) y Burri (1943), quienes además incluyen como perteneciente a fases intermedias del *B. alvei* al *Bacterium eurydices*.

En la mayoría de los tratados de apicultura consultados por nosotros, al comentar el capítulo dedicado a las enfermedades de la cría, se siguen considerando como agentes etiológicos de la podredumbre benigna a los microorganismos descritos inicialmente por White (Caillas, 1929; Tuomanoff, 1951; Biri y Alemany Al-

* Cátedra de microbiología e inmunología. Facultad de veterinaria. Universidad de Córdoba.
Recibido para publicación el 21-4-78.

ESPEJO *et al.*: CEPA DE *B. ALVEI* CON CAPACIDAD REDUCTORA SOBRE NITRATOS.

bert, 1971, McGregor, 1974; Harrison *et al.* 1976, entre otros). No obstante, Borgher (1962) discrepa en este sentido al considerar como microorganismos causales de la citada enfermedad a los *B. alvei*, *B. orpheus*, *B. Fetusum*, *B. gracileporus* y *B. apidarium*.

Creemos interesante destacar que, de los microorganismos descritos como causantes de la loques europea, en la 6.^o edición del manual de Bergey (1948), se describe al *B. pluton* (*micrococcus pluton*) al *B. alvei* al *B. laterosporus* (sinónimo del *B. orpheus*, según Smith, *et al.* 1946) y al *Acromobacter euridices* (*Bacterium euridices* o *Acinetobacter euridices* para Brisou y Prevot (1954). En la 7.^o edición del citado Manual (1957), ya no aparece descrito el *B. pluton*. Y en la edición 8.^o (1974), sólo figuran el *B. alvei* y el *B. laterosporus*.

A estos dos bacilos, lo mismo que al *B. apiarius* (Bergey, 8. Ed.), se le reconoce como fuente común de aislamiento las larvas muertas de abejas, si bien, en el caso de los *B. alvei* y *B. laterosporus*, también se han aislado del contenido intestinal de abejas obreras (Gilliani y Valentine, 1975), así como del suelo y agua, pudiendo ser, a partir de aquí, contaminantes accidentales de otros productos como la leche (Mossel, *et al.* 1974).

Por nuestra parte pretendemos comunicar los resultados obtenidos en un problema de loques europea padecido en una zona melífera del sur de España.

II. *Material y métodos.*

El estudio ha recaído sobre un cultivo puro de bacterias aisladas de paneles con signos característicos de loques europeas.

Para el aislamiento del microorganismo se ha empleado el medio *Tryptose Agar*, de Difco. Para el cultivo de anaerobiosis, se utilizó el *Fluid Thiglycollate Medium*, de Merck.

Las diferentes pruebas bioquímicas, para el estudio taxonómico, se han llevado a cabo mediante la utilización de medios deshidratados y productos químicos de calidad bacteriológica de las casas Difco y Merck.

La actividad sobre la caseína se estudió por inoculación en placas que contenían el medio mejorado de Martley *et al.* (1971).

Como animal de experimentación se ha utilizado el ratón blanco adulto, al cual, mediante escarificación (hasta la salida de sangre) de la cara dorsal de la base de la cola, se aplicó una masa concentrada de cultivo puro del microorganismo aislado.

III . *Resultados y discusión.*

En todas las inoculaciones realizadas, con material procedente tanto de celdas vacías como de alveolos operculados, se ha aislado un único tipo de microorganismo con forma bacilar y esporulado, sin una afinidad neta respecto a la tinción de Gram ya que si bien la mayoría de los elementos resultaban Gram positivos, no faltaban formas Gram negativas.

El crecimiento en agar triptosa era abundante y con tendencia a extenderse por la superficie; en caldo producía sedimento copioso y enturbiamiento del líquido.

El resto de los caracteres estudiados se describen en el cuadro I.

Creemos de interés destacar que la producción de indol no era demostrable hasta pasadas las 48 horas de incubación. Así mismo, en la gelatina aparecía un crecimiento abundante al cabo de 24 horas de incubación; sin embargo, la licuación de la misma no era evidente hasta las 36 h.

Sobre la caseína se demostró que poseía una gran capacidad para degradarla, formando en el medio halos del tipo 2 (Espejo *et al.* 1977).

En los medios de Saboureaud-glucosa y en el citrato de Simmon, el crecimiento era escaso. En el último caso se observó que el germen tenía tendencia a formar cadenas largas (muchos, con más de 40 elementos).

Hemos podido comprobar que el microorganismo aislado se adapta fundamentalmente al *B. alvei*, según se describe en los diferentes tratados de sistemática consultados (Hauduroy *et al.* 1953; Field, 1974; Bergey, 1974), excepto en su capacidad reductora sobre nitratos, en lo que discrepa con lo establecido en las citadas obras, ya que a las 24 h de incubación era perfectamente detectable la presencia de nitritos en el medio.

IV . *Resumen.*

A partir de panales con signos típicos de loques europea se ha aislado una cepa de *B. alvei* con capacidad de reducir los nitratos y de crecer en Saboureaud-glucosa.

V . *Summary.*

From combs, with typical characters of European foulbrood it has been found a strain of *B. alvei* with reducer capacity for nitrates and growing in Saboureaud-glucose medium.

CUADRO I. Caracteres del bacilo aislado de un panal con loques europea.

Tamaño	0,8x3	Inosita	-	
Esporo	oval	Dulcita	-	
Posición	CT	V. P.	+	
Deformación del esporangio	+ (L)	Malonato	+	
Motilidad	+	Fenilalanina	-	
Catalasa	+	Ureasa	+	
Temperatura	máxima	45°C	Lisina dec.	-
	mínima	17°C	Ornitina dec.	-
Arabinosa	-	Indol	+	
Xilosa	-	Nitratos	+	
Glucosa	+ (A)	Gelatina	+	
Maltosa	+	Caseína	+	
Lactosa	+	5 p. 100 de ClNa	+	
Manita	-	Anaerobiosis	+	
Sorbita	-	Saboreaud-glucosa	+ (E)	
Sacarosa	+	Citrato de Simmon	+ (E)	
Adonita	-	Citrato de Koser	-	

L - ligero

CT - central a terminal.

A - ácido

E - escaso.

VI. Bibliografía.

1. Bailey, L. 1960.--The epizootiology of European foulbrood of the larval honey bee, *Apis mellifera* L. J. Insect Path. 2: 67-68.
2. Biri, M. M. y J. M. Alemany Albert, 1971.--Cría moderna de las abejas. Ed. de Vecchi, S. A. Barcelona.
3. Borchert, A. 1962.--Abejas: explotación y enfermedades. Ed. Acribia. Zaragoza.
4. Brisou, J. y A. R. Prevot, 1954.--Etude de systematique bacterienne. X. Revision de especes reunies dans le genre *Achromobacter*. Ann. Inst. Pasteur, Paris, 86: 722.
5. Burnside, C. E. 1934.--Studies of the bacteria associated with European foulbrood. J. Econ. Ent., 27 cita tomada de Tourmanoff.
6. Burri, R., 1943.--Weitere Beobachtungen über Farmwardlungen beim Erreger der Sauerbrut der Bienen. Beihefte Schweiz. Bienen Zeitung Helf, 5 cita tomada de Tourmanoff.
7. Caillas, A., 1929.--Enfermedades de las abejas. Ed. Salud. Barcelona.
8. Espejo Serrano, J.; A. Garrido Contreras y F. Cuello Gijón, 1977.--La actividad proteolítica sobre la caseína como prueba complementaria rápida en la identificación de estafilococos. Arch. zoot., 26: 303-308.
9. Field, M. 1974.--Method for studying thermophilic sporeforming bacteria with emphasis on soils and sterilization in the food and health industries. Deoart. Food Sci. Nutr. University Missouri.
10. Gilliani, M. y D. K. Valentine, 1975.--Bacteria isolated from the intestinal contents of foraging worker honey bees, *Apis mellifera*: the genus *Baillus*, J. Invest. Path. 28: 275-276.
11. Harrison, A. G.; A. Hebden y F. A. Richard, 1976.--Cría de abejas: su miel y sus enfermedades. Ed. Acribia. Zaragoza.
12. Hauduroy, P.; Ehringer; G. Guillot; Magrou, A. R. Prevot; Rosset y Urbain, 1953.--Dictionaire des bacteries pathogenes. Masson. Paris.
13. Lochlead, A. G. 1928.--Study on the ethiology of european foul brood. IV Inter. Congr. Entom. 2: 1005-1009.
14. Martley, F. G.; R. S. Jayashankar y R. C. Lawrence, 1970.--An improved agar medium for the detection of proteolytic organism in total bacterial counts. J. appl. bact., 33: 363-368.
15. McGregor, S. E. 1974.--La apicultura en los Estados Unidos. Ed. Limusa. México.

ESPEJO *et al.*: CEPA DE *B. ALVEI* CON CAPACIDAD REDUCTORA SOBRE NITRATOS.

16. Mossel, D. A. A.; E. H. Meursing y H. Slot, 1974.--An investigation on the numbers and types of aerobic spores in cocoa powder and whole milk. *Neth. Milk Dairy J.*, 28: 149.
17. Smith, N. R.; R. E. Gordon y F. E. Clarck, 1946.--Aerobic mesophilic spore-forming bacteria. U. S. Dep. Agr. Mix. Publ. 559: 1.
18. Tourmanoff, 1951.--Les maladies des abeilles. *Rev. Française d'Apic.* núm. 68 (número especial).
19. Whit, G. F. 1912.--The cause of European foulbrood. U. S. Dep. Agr. Bur. Entomol., 157: 1.