



# Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada

---

---

**"EVALUACIÓN DE ANTIBIÓTICOS DE BAJA TOXICIDAD PARA EL CONTROL DE LOQUE AMERICANA EN ABEJAS"**

## **T E S I S**

**Que para obtener el grado de  
Maestría en Tecnología Avanzada**

**PRESENTA:**

**JANET MORALES CHÁVEZ**

Asesores:

Dr. Sergio Rubén Trejo Estrada

M.C. Marisol Sánchez Esgua

Dra. Mónica Rosales Pérez

Dra. María del Carmen Cruz López

M.C. Carlos Pérez Medrano

**Tepetitla de Lardizabal, Tlaxcala Marzo de 2008.**

## RESUMEN

En el presente trabajo se evaluó el espectro de actividad de 10 antibióticos y una bacteriocina para inhibir el crecimiento de la bacteria causante de la enfermedad conocida como Loque Americana y por sus siglas en inglés como AFB (American Foulbrood), la cual afecta principalmente a la abeja *Apis mellifera* en el estado larval. Inicialmente se evaluó la actividad bactericida de rifampicina, levofloxacina, estreptomycin, oxitetraciclina, tetraciclina, doxiciclina, monensina, lincomicina, vancomicina, eritromicina además una bacteriocina proveniente de *Streptococcus lactis* de forma individual utilizando una cepa tipo NRRL B-2605 de *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* (White, 1906) Ash *et al.* 1994 y Heyndrickx *et al.* 1996, Los antibióticos seleccionados en esta primera etapa se eligieron por la capacidad para inhibir el crecimiento de *P. larvae larvae*, empleando el método de difusión en disco.

Los antibióticos que mostraron actividad contra *Paenibacillus larvae larvae*, se utilizaron en un nuevo ensayo con mezclas binarias entre sí tomando a la Levofloxacina como antibiótico estándar para la combinación ya que presentó una actividad mayor. Los mejores resultados se obtuvieron a concentraciones de Levofloxacina entre 0.0025 -1 µg/disco mezclado con una concentración entre 0.25-0.5 µg/disco del segundo antibiótico tal fuera el caso de Rifampicina o Doxiciclina.

En una tercera etapa se evaluó la actividad bactericida de una mezcla ternaria, la cual continuo con el mismo patrón de la segunda etapa solo que se le agrego una dosis constante de nisina, rifampicina y/o doxiciclina según el caso de la mezcla y la concentración de levofloxacina se mantuvo en rangos 0.0025 -1 µg/disco; mostrando halos de inhibición frente a la cepa tipo.

Por otra parte, la evaluación de la actividad de estos antibióticos para el control de Loque Americana, beneficiara a los apicultores del país, reduciendo costos en la compra de antibióticos, se evitara la resistencia bacteriana a antibióticos como la oxitetraciclina y la estreptomycin, asimismo, se disminuye la alta residualidad en miel de abeja y sub-productos para la exportación.

## ABSTRACT

In the present work 10 different antibiotics and a bacteriocin were tested with respect to their ability to inhibit growth of a bacterial strain, the causal agent of the honeybee disease named American Foulbrood (AFB), which mainly affects larvae of *Apis mellifera*. Initially, the bactericidal activity of single antibiotics was tested, namely rifampicin, levofloxacin, streptomycin, oxitetracyclin, doxycycline, monensin, lincomycin, vancomycin, erythromycin, and nisin, a bacteriocin produced by *Streptococcus lactis*. All antibiotics were tested against a type culture of *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* (White, 1906) NRRL B-2605 (Ash et al, 1994 and Heyndrickx et al, 1996). The selected antibiotics in this first stage were chosen based on their potential to inhibit growth of *P. larvae* larvae, using the agar diffusion-disk method.

The antibiotics which showed inhibition activity against *Paenibacillus larvae* larvae, were used in a new round of tests, in binary mixtures. The standard positive control was levofloxacin, an antibiotic which proved highly active in the first screening. Best results were obtained with levofloxacin at a concentration range of 0.0025 to 1 µg/disk, mixed with Esther rifampicin or doxycycline, at a concentration of 0.25-0.5 µg/disk.

The third screening consisted of ternary mixtures. In all of them, the use of levofloxacin was constant at concentrations of 0.0025 to 1 µg/disk, and two additional antibacterials were added in different combinations. The antibacterials tested were nisin, rifampicin and doxycycline.

A formulation of three antibiotics at low concentrations and with high potency against *Paenibacillus larvae* subsp. *larvae* will benefit Mexican honey producers. On one hand, it will reduce costs of antibiotics and disinfectants, and on the other, it will allow for the elimination of toxic formulations based on oxitetracyclin or streptomycin, which may cause residual toxicity in honey.